

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE BLIDA 1

Faculté de technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

Master professionnel en génie des procédés

Spécialité : Pharmacie Industrielle

Intitulé du mémoire

Contribution à la formulation d'ovules à base de Métronidazole à effet antibiotique

Présenté par :

M^{elle} BENMALEM Rania

M^{elle} LAIMOUCHE Meriem

Encadrées par :

Dr. HADJSADOK Abdelkader

Dr. BELHADJI Linda

Année universitaire 2018/2019

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné la force et la bénédiction pour accomplir ce modeste travail.

Nous remercions nos chers parents de nous avoir soutenues depuis toujours et jusqu'au jour d'aujourd'hui, sans eux, nous n'aurions jamais pu arriver là où nous sommes, ils étaient toujours notre force et notre principale source de motivation, nous espérons du plus profond de notre cœur que nous les avons rendus fiers et nous espérons aussi qu'ils trouveront dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs efforts ainsi que l'expression de notre plus affectueuse gratitude.

Nous tenons à présenter notre profonde gratitude à notre promoteur Mr HADJSADOK Abdelkader, qui nous a apporté une aide précieuse pour l'accomplissement de ce mémoire.

Nous remercions également Mme BELHADJI Linda qui nous a aidées tout au long de la réalisation du présent travail et qui a mis à notre disposition toutes les informations pour que notre travail soit mené à bien.

Nous remercions nos familles et en particulier nos frères et sœurs de nous avoir partagé leur joie de vivre et de nous avoir ainsi soutenues dans nos efforts. Nous remercions de même tous nos plus proches amis.

À la fin de ce travail, nous aimerons présenter nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance à tous nos enseignants du Département de Génie des Procédés et surtout à tous ceux qui ont contribué à ce travail.

Dédicaces

On tient, au terme de ce travail, à présenter nos vives dédicaces à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin.

A nos chers pères,

ATAALLAH et KHALED, vous avez toujours été à nos côtés pour nous soutenir et nous encourager, vous avez réussi à faire de nous des femmes indépendantes et courageuses. Que ce travail traduise notre gratitude et notre affection.

A nos chères mamans

Amel et Fatiha, quoi que nous fassions ou que nous disions, nous ne saurons point vous remercier comme il se doit. Votre affection nous couvre et votre présence à nos cotés a toujours été notre source de force pour affronter les différents obstacles.

A Nos frères et sœurs, et à nos beaux frères

A ma chère sœur FARIDA que j'aime énormément, merci d'être toujours là pour moi, je n'aurais jamais imaginé une vie sans toi, de même je remercie mon cher beau-frère MOHAMED de m'avoir partagé son humour et sa bonne humeur tout au long de la réalisation du présent travail.

A mes chers frères et sœurs, KARIM, AMEL, TAREK, FARIDA, BILLEL, WAFI, SARA, RAHMA, YACINE, AYMEN, HILLEL, RAFAA et SIFFEDINE, je ne vous remercierai jamais assez pour ce que vous avez fait pour moi, vous êtes ma source de bonheur et de joie, que Dieu vous garde pour moi et qu'il puisse vous donner santé, bonheur et réussite.

Que Dieu leur accorde santé et prospérité

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة الخصائص الفيزيائية والكيميائية والريولوجية و المورفولوجية، من اجل إطلاق المادة الفعالة من الادوية المرجعية والادوية المنتجة ذات تأثير مضاد حيوي، استنادا على " الميترونيدازول". يتم تحضير التحميلات المهبلية بطريقة انصهار بسيطة باستخدام المادتين الدهنيتين "اوفوسيرث ل 3264 " و "وسيبوسير ن ا 15" وذلك بتغيير نسبة هاتين الأخيرتين في كل اعداد.

تشير نتائج الدراسة المعتمدة على تحديد خصائص التحميلات المهبلية المنتجة ، إلى أنها مناسبة للتعاطي المهبلية دون التعرض لخطر التسرب، و قد أثبتت المنتجات المحتوية على 100% "اوفوسيرث ل 3264 " ، تفوقها على افراز المادة الفعالة مقارنة بجميع المنتجات الأخرى وذلك راجع الى كونها مادة خافضة للتوتر السطحي.

Résumé

Le but de ce présent travail est d'étudier les caractéristiques physicochimiques, rhéologiques, structurales et la cinétique de libération du principe actif des produits de références et des produits formulés à base du métronidazole à effet antibiotique. Les ovules sont préparés par une méthode de fusion simple en utilisant les deux bases lipidiques, celles d'Ovucire WL 3264 et de Suppocire NA 15 et de varier le ratio.

Les résultats de l'étude de caractérisation des produits formulés, indiquent qu'ils sont aptes pour une administration vaginale avec une absence du risque de fuite mais surtout le produit formulé contenant 100% d'Ovucire WL 3264, a prouvé sa supériorité de libération du Méronidazole par rapport à tous les autres produits formulés suite à sa propriété émulsifiante.

Abstract

The aim of this work is to study the physicochemical, rheological and structural characteristics and kinetics of release of the active ingredient's reference products and products formulated with metronidazole antibiotic effect. The vaginal suppository are prepared by a simple fusion method using two lipid bases, those of Ovucire WL 3264 and Suppocire NA 15 and vary the ratio.

The results of the characterization study of the formulated products, indicate that they are suitable for vaginal administration with no risk of leakage but especially the formulated product containing 100% Ovucire WL 3264, has proved its superiority of release of Meronidazole compared to all other products formulated following its emulsifying property.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : ETAT DE L'ART	
I.1. Appareil génital féminin	3
I.1.1. Les Ovaires	3
I.1.2. Les voies génitales	4
I.1.3. Le vagin	4
I.2. Les voies d'administration pour le traitement des pathologies vaginales	7
I.2.1. Voie générale	7
I.2.2. Voie locale	7
I.3. Pharmacocinétique par voie vaginale	8
I.4. Les différentes pathologies du vagin	8
I.4.1. La trichomonase vaginale	9
I.4.2. La vulvovaginite à Candida	9
I.4.3. La vaginose bactérienne	9
I.5. Les glycérides hémi-synthétiques	13
I.5.1. Leur utilisation comme excipient	16
I.5.2. Leur application dans la formulation ou la technologie pharmaceutique	16
I.5.3. Leurs caractéristiques de fusion	17
I.5.4. Leur viscosité	17
I.6. Excipients utilisés pour la formulation des ovules	17
I.6.1. Suppocire NA 15	18
I.6.2. Ovucire WL 3264	18
I.7. Médicaments dédiés à la vaginose bactérienne à base de métronidazole	19

I.8. Technique de caractérisation des ovules	20
I.8.1. Osmolalité	20
I.8.2. Fermeté et adhérence	20
I.8.3. Test de dissolution	20
I.8.4. Application des ovules chez le lapin et étude d'imagerie	21
I.8.5. Étude microbiologique	21
I.8.6. Etude de viscosité	22

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

II.1. Matériels	23
II.1.1. Appareillages	23
II.1.2. Réactifs et matières premières	23
II.2. Méthodes	24
II.2.1. Orientation	24
II.2.2. Caractérisation des matières premières	33
II.2.3. Formulation des ovules	34
II.2.4. Caractérisation des ovules formulés	36

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Caractérisation des produits de référence	40
III.1.1. Analyse rhéologique en régime oscillatoire	40
III.1.2. Etude microscopique	41
III.2. Caractérisation des matières premières	45
III.2.1. Dosage du Métronidazole	45
III.2.2. Etudes microscopiques de Suppocire NA15 et Ovucire WL3264	46

III.3. Caractérisation des ovules formulés	48
III.3.1. Caractéristiques organoleptiques	48
III.3.2. Caractéristiques granulométriques	49
III.3.3. Analyse rhéologique en régime oscillatoire	56
III.3.4. Analyse rhéologique en régime continu	58
III.3.5. Cinétique de la libération du PA	61
III.3.6. Uniformité du contenu du médicament	63
III.3.7. Étude de solubilité	64
CONCLUSION GENERALE	65
APPENDICES	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

LISTE DES ABREVIATIONS

PA : Principe Actif.

H/L : Hydrophile/ hydrophobe.

DAG : Diglycerides.

DAG : Diacylglycerol.

MTZ : Métronidazole.

CMI : concentration Minimale en Inhibiteur.

VFS : Vaginal FluidSimulant (simulant du fluide vaginal).

DCI : Dénomination Commune Internationale.

Dz : Algérie.

Fr : France.

CDC : Centers for Disease Control and Prevention (Centre pour le contrôle et la prévention des maladies).

PP : Plan-Plan.

N° : Numéro.

UV : Ultra-Violet.

tr : tour.

T : Température.

N : concentration équivalent.

t : temps.

QSP : Quantité Suffisante Pour.

LISTE DES UNITES

° : degré.

µm : micromètre.

mm : millimètre.

cm : centimètre.

s : second.

% : pourcent.

mL: millilitre.

g : gramme.

h : heure.

mg : milligramme.

°C : degrés celsius.

mol : mole.

Kg : kilogramme.

mOsm: quantité osmotique.

N : Newton.

min : minute.

µL : microlitre.

M : Molarité.

Hz : Hertz.

Pa : pascal.

mPa : millipascal.

nm : nanomètre.

L : Litre.

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Appareil génital féminin.	3
Figure I.2 : Structure chimique de la tinidazole.	10
Figure I.3 : Structure chimique de la secnidazole.	11
Figure I.4 : Structure chimique de la clindamycine.	12
Figure I.5 : Structure chimique du Metronidazole.	12
Figure I.6 : Structure chimique des monoglycérides.	14
Figure I.7 : Structure chimique des diglycérides.	14
Figure I.8 : Structure chimique des triglycérides.	15
Figure II.1 : Représentation schématique d'une mesure rhéométrique en mode oscillatoire	26
Figure II.2 : Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Flagyl Biopharm Algérie).	28
Figure II.3 : Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Flagyl Sanofi France).	28
Figure II.4 : Thermorheogram Suppocire NA 15.	30
Figure II.5 : Courbes d'écoulement du produit de référence Flagyl Biopharm Algérie en présence et en absence du VFS, $T = 37^\circ\text{C}$.	32
Figure II.6 : Procédé de formulation des ovules.	36
Figure II.7 : Profil de dissolution typique du métronidazole libéré à partir de l'ovule.	38
Figure III.1 : Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Flagyl Biopharm Algérie).	40
Figure III.2 : Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Flagyl Sanofi France).	41
Figure III.3 : Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du flagyl Biopham à l'état fusionné, $T = 50^\circ\text{C}$.	42

- Figure III.4:** Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Biopharm Algérie à l'état cristallin. 42
- Figure III.5 :** Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Biopharm Algérie après dilution à l'état fusionné, $T = 50^{\circ}\text{C}$. 43
- Figure III.6:** Image illustrant l'observation microscopique (40x10) du Flagyl Biopharm Algérie après dilution à l'état fusionné, $T = 50^{\circ}\text{C}$. 43
- Figure III.7:** Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Biopharm Algérie après dilution à l'état cristallin. 43
- Figure III.8:** Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Sanofi France à l'état fusionné, $T = 50^{\circ}\text{C}$. 44
- Figure III.9:** Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Sanofi France à l'état cristallin. 44
- Figure III.10:** Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Sanofi France après dilution à l'état fusionné, $T = 50^{\circ}\text{C}$. 46
- Figure III.11:** Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Sanofi France après dilution à l'état cristallin. 45
- Figure III.12 :** Représentation graphique de la courbe d'étalonnage du Métronidazole. 46
- Figure III.13:** Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Suppocire NA 15 à l'état fusionné. 47
- Figure III.14:** Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Suppocire NA 15 à l'état cristallin. 47
- Figure III.15:** Image illustrant l'observation microscopique (10x10) d'Ovucire WL 3264 à l'état fusionné. 47
- Figure III.16:** Image illustrant l'observation microscopique (10x10) d'Ovucire WL 3264 à l'état cristallin. 47
- Figure III.17:** Image représentant les ovules formulés. 48
- Figure III.18:** Image représentant les ovules formulés coupés longitudinalement. 48
- Figure III.19:** Image illustrant l'observation microscopique (10x10) de l'ovule contenant 100% de Suppocire NA 15 à l'état fusionné. 49

Figure III.20: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) de l'ovule contenant 100% d'Ovucire WL 3264 à l'état fusionné.	49
Figure III.21: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) de l'ovule contenant 100% de Suppocire NA 15 à l'état cristallin.	49
Figure III.22: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) de l'ovule contenant 100% d'Ovucire WL 3264 à l'état cristallin.	49
Figure III.23: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) de l'ovule contenant 60% de Suppocire NA 15 et 40% d'Ovucire WL3264 à l'état fusionné.	50
Figure III.24: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) de l'ovule contenant 60% de Suppocire NA 15 et 40% d'Ovucire WL 3264 à l'état cristallin.	50
Figure III.25: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Biopharm Algérie après dilution à l'état cristallin choisie pour le traitement d'image	51
Figure III.26: Image représentant la transformation de l'image microscopique en format 8-bit.	52
Figure III.27: Image représentant l'application de la bande passante.	52
Figure III.28: Image représentant l'opération du seuillage.	53
Figure III.29: Image représentant la transformation en ellipses.	53
Figure III.30: Histogramme représentant la distribution granulométrique.	54
Figure III.31: illustration graphique par la boîte à Moustaches (Box WhiskerPlot), de trois caractéristiques granulométriques du métronidazole : D_{moy} , $D_{moy} \pm SD$, et $D_{moy} \pm 1,96.SD$.	55
Figure III.32: Histogramme en cumulé représentant la distribution granulométrique.	55
Figure III.33: Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Ovucire WL 3264).	56
Figure III.34: Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Suppocire NA 15).	56
Figure III.35: Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Ovule formulé contenant 100% de Suppocire NA 15).	57
Figure III.36: Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Ovule formulé contenant 100% d'Ovucire WL 3264).	57

- Figure III.37:** Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Ovule formulé contenant 80% de Suppocire NA 15 et 20% d'Ovucire WL 3264). 58
- Figure III.38 :** Courbes d'écoulement de différents produits en présence du VFS, $T = 37^\circ\text{C}$. 59
- Figure III.39:** Profil de dissolution des différents produits. 62
- Figure III.40:** Image illustrant le résultat du test de solubilité du Métronidazole. 64

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1 : Caractéristiques des trois polymorphes α , β' et β .	16
Tableau I.2 : Médicaments dédiés à la vaginose bactérienne.	19
Tableau II.1: Description des deux produits de référence «Flagyl®(Dz), Flagyl®(Fr)».	25
Tableau II.2: Description des deux méthodes utilisées pour l'analyse rhéologique en régime oscillatoire.	27
Tableau II.3: Description des matières premières utilisées.	33
Tableau II.4 : Les différentes proportions de Suppocire NA 15 et Ovucire WL 3264.	35
Tableau III.1 : Représentation des valeurs des absorbances et des concentrations des solutions filles.	46
Tableau III.2 : Représentation des valeurs de η_0 et η_∞ .	60

Introduction générale

Les infections vaginales sont parmi les raisons de consultation gynécologique les plus fréquentes. La moitié des cas des infections génitales basses sont dues à la vaginose bactérienne, qui est localisée au niveau de la cavité vaginale et peut être consécutive à la présence d'un ou de plusieurs agents infectieux associés à des bactéries, parasites ou virus. La vaginose bactérienne correspond à un processus complexe qui résulte d'un déséquilibre de la flore vaginale, exercé habituellement par certaines espèces de Lactobacilles qui jouent un rôle inhibiteur pour d'autres bactéries, en particulier *Gardnerella vaginalis*. [1]

Il ne fait guère de doute que les patients symptomatiques atteints de la vaginose bactérienne devraient être traités. Le traitement moderne recommandé par le centre pour le contrôle et la prévention des maladies (CDC) afin de traiter cette infection vaginale, consiste à utiliser du métronidazole ou de la clindamycine, disponibles en traitement oral et en préparations intra vaginales [2]. La voie vaginale a été jugée d'un grand intérêt pour les médicaments, car elle permet l'administration à la fois des médicaments à action locale et systémique. De même, elle fournit différents avantages par rapport à l'administration orale: elle permet de libérer des concentrations plus élevées, de minimiser les effets indésirables systémiques lorsqu'on vise un traitement local, d'éviter le premier passage hépatique et les effets secondaires gastro-intestinaux.

Le Flagyl (métronidazole) représente le produit princeps qui exerce une action bactéricide contre les bactéries anaérobies, il est doté d'une activité trichomonacide et agit également contre *Giardia lamblia* et *Entamoeba histolytica*. Il possède des propriétés antibactériennes et antiparasitaires. Le Métronidazole est un antibiotique qui appartient à la famille des nitromidazoles qui a été disponible pour une utilisation en pratique clinique depuis plus de 25 ans. Son indication originale était pour le traitement des infections causées par *Trichomonas vaginalis*, mais au fil des ans, il a été découvert être utile dans le traitement d'une variété d'infections causés par divers organismes.

Dans cette étude, nous allons chercher à développer la formule adéquate pour les ovules vaginaux de forme semi-solides, à base de métronidazole, en utilisant des évaluations de profil physiologique. Pour cela, nous allons évaluer les caractéristiques influençant la qualité et l'efficacité du produit. Il s'agit d'étudier l'impact de la matrice lipidique sur les températures de fusion et de cristallisation ainsi que sur la libération du principe actif.

Sur ce fait, nous allons caractériser en premier lieu les produits de référence, il s'agit du produit algérien Flagyl® fabriqué par les laboratoires Biopharm et du produit français Flagyl® fabriqué par les laboratoires Sanofi. Cela nous permettra de développer et optimiser la formule des ovules que nous allons mettre en œuvre en se basant sur les résultats obtenus.

Le mémoire est structuré en trois chapitres : le premier est dédié à l'état de l'art où nous avons tenté de mettre en exergue tous les volets qui entourent la thématique, sur le plan bibliographique. Le deuxième chapitre est consacré au matériel et méthodes utilisés et développés, à l'image des essais préliminaires ou des méthodes de caractérisation de viscoélasticité au service de la physicochimie (cristallisation et fusion) des ovules. Dans le troisième chapitre, nous exposons les résultats obtenus et les discussions qui émanent de nos expériences.

Le mémoire est achevé par une conclusion générale, dans laquelle nous présentons les résultats les plus pertinents et les perspectives.

Chapitre I : Etat de l'art

I.1 . Appareil génital féminin

L'appareil génital féminin est l'ensemble des organes situés à l'intérieur du corps et qui, chez la femme, constitue l'appareil permettant la reproduction de l'espèce humaine.

Dans le présent travail, on s'intéresse aux organes génitaux internes, figures I.1. Ils comprennent deux glandes endocrines qui incluent les ovaires et les voies génitales, formées des trompes utérines, de l'utérus et du vagin. [3]

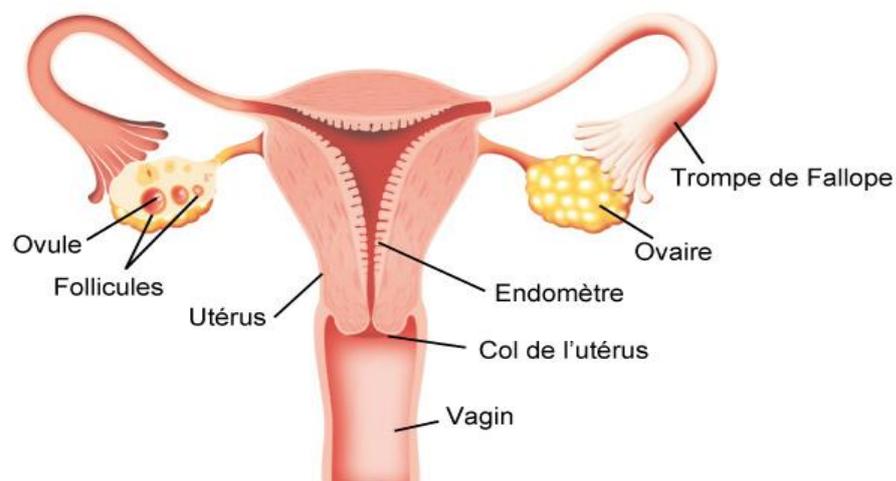


Figure I.1 : Appareil génital féminin. [3]

I.1.1. Les Ovaires

Les ovaires sont des glandes en forme d'amande de 3 ou 4 centimètres de long. Ils sont situés de part et d'autre de l'utérus, auquel ils sont reliés par des ligaments. Leur surface, appelée albuginée, est blanc nacré. Ils contiennent les follicules ovariens, qui produisent les ovules, cellules féminines de la reproduction.

À la naissance, chaque ovaire contient environ 1 million de cellules germinales (gonocyte), dont quelques centaines seulement donneront un ovule au cours de la vie. [3]

I.1.2. Les voies génitales

I.1.2.1. Les trompes utérines

Les trompes utérines, ou trompes de Fallope, sont des conduits de 8 ou 9 centimètres de longueur (trompe de Fallope). Leur extrémité libre, en forme de pavillon et bordée de franges, s'ouvre en face d'un ovaire. Leur paroi contient une importante musculature lisse, et des cils tapissent leur face interne. L'autre extrémité des trompes débouche dans les coins supérieurs de l'utérus, les cornes utérines.[3]

I.1.2.2. L'utérus

L'utérus est un organe creux en forme de poire renversée, de 7 centimètres de haut et 5 centimètres de large, situé entre la vessie et le rectum. Son corps se rétrécit en bas, vers l'isthme, et se termine par le col utérin, qui fait saillie dans le vagin. Sa paroi épaisse contient une couche de musculature lisse et est tapissée à l'intérieur par une muqueuse, l'endomètre, riche en glandes et en vaisseaux sanguins. À l'extérieur, l'utérus est recouvert par le péritoine et soutenu par des ligaments résistants. Normalement, il est incliné vers l'avant (antéflexion) et forme avec le vagin un angle d'environ 90°. [3]

I.1.3. Le vagin

I.1.3.1. Anatomie et perméabilité du vagin

Le vagin s'étend de la vulve, qui regroupe les organes externes de l'appareil génital féminin (lèvres, espace inter-labial, clitoris) jusqu'à l'utérus, où il va former un cul-de-sac au niveau du col de l'utérus. Il présente une orientation oblique en haut et en arrière (angle de 20° avec la verticale) de la vulve vers l'utérus. L'hymen, chez la femme vierge, est une fine membrane très élastique, marque initialement la frontière entre le vagin et la vulve.

La muqueuse du vagin est constituée d'une membrane non kératinisante. L'épithélium squameux stratifié, attaché à une membrane basale. [4]

L'épithélium vaginal est constitué d'environ 28 couches de cellules pendant les jours 1 à 12 du cycle menstruel, avec un léger amincissement à 26 dans les 19 à 24 jours du cycle [5]. L'épaisseur de cet épithélium a été mesurée à $261 \pm 16 \mu\text{m}$ [6]. Cet épithélium squameux stratifié est une barrière principale de perméabilité du vagin [7]. Cette fonction de barrière est soutenue par la production et la présence de cellules intercellulaires amorphes lipides et granules d'enrobage membranaire extrudant des céramides, des glucosylcéramides et cholestérol [8].

Le vagin est un organe musculo-membraneux situé dans le petit bassin. Il s'est avéré être $62,7 \pm 11,25$ mm de longueur et $27,2 \pm 4,79$ mm de largeur. Sa taille peut varier au cours de la vie sexuelle et suite aux accouchements et même il devient plus long dans les périodes de menstruations. Le vagin est donc un organe adaptable d'une propriété élastique. C'est un canal de forme cylindrique qui se situe entre la vessie (à l'avant) et le rectum (à l'arrière) capable de se contracter.[4]

La surface du vagin a également été mesurée, allant de 65,73 à 107,07 cm² avec une moyenne de $87,46 \pm 7,80$ cm² [9]. La diffusion de l'eau tritiée à travers le tissu cervical et vaginal humain a donné des coefficients de perméabilité apparente mesurés de 8×10^{-5} cm / s et 7×10^{-5} cm / s, respectivement [10]. Le vagin est environ 16 fois plus perméable à l'eau que la peau [4].

I.1.3.2. Physiologie du vagin

La muqueuse vaginale forme des plis longitudinaux et transversaux et saillies très développées. Le vagin dépourvu de formations glandulaires, il ne sécrète rien. Le liquide qu'il contient n'est pas une sécrétion mais une transsudation séreuse qui se fait à travers l'épithélium. Ce liquide lactescent fut étudié au XIXe siècle par Döderlein, savant allemand qui montra que son acidité était due à un bacille de Gram positif ; le bacille de Döderlein.

Ce bacille qui ne se trouve que dans le vagin, joue un rôle dans le mécanisme de défense de l'appareil génital de la femme. Il est capable de dégrader les hydrates de carbone en acide lactique qui assure l'acidité du vagin. [11]

I.1.3.3. La composition et le volume de liquide vaginal

Le vagin est lubrifié par le liquide vaginal, qui est un mélange de fluides de l'appareil reproducteur supérieur, tels que le mucus cervical et fluides endométriaux et transsudat des parois vaginales (figureI.1).

Les constituants du liquide vaginal sont : eau (90–95%), mucines, glucides, urée, sels, immunoglobulines, acides gras, albumine et autres composants mineurs [12].

Plusieurs études ont examiné le volume du liquide vaginal, fournissant des estimations utiles pour les tests pharmaceutiques. L'étude de Stone and Gambles portant sur 113 femmes en bonne santé, a trouvé une quantité moyenne de 0,75ml de liquide. [4]

Le taux de production du fluide a été mesuré par Godley comme 1,55 g / 8 h. Ceci a atteint un pic de 1,96 g / 8 h en milieu du cycle et était réduit à 1,38 et 1,37 g / 8 h de chaque côté de l'ovulation. Aucune variation n'a été observée chez les femmes prenant la pilule contraceptive orale [13].

Ces études concordent avec un faible volume de liquide dans le vagin, qui se reconstitue au cours de la journée. Il est à noter que le volume du liquide vaginal augmente considérablement pendant la stimulation sexuelle.[4]

➤ **Simulant du fluide vaginal (VFS)**

Afin de simuler le fluide vaginal, de nombreuses matières ont été proposées, on cite :

- Le chlorure de sodium (3,51 g).
- L'hydroxyde de potassium (1,4 g).
- L'hydroxyde de calcium (0,22 g).
- L'acide lactique (2,00 g).
- L'acide acétique (1,00 g).

Ces derniers sont ajoutés à un litre d'eau, la solution obtenue est agitée mécaniquement jusqu'à la fin de dissolution. Le pH du mélange est ensuite ajusté à 4,5 à l'aide d'une solution de 1N d'acide chlorhydrique (HCl). [14]

I.1.3.4. Variation de l'acidité dans le vagin

Un vagin en bonne santé possède un microbiome diversifié qui maintient un pH acide via le métabolisme du glycogène en acide lactique par des bactéries, principalement du genre *Lactobacillus*. [15,16]

Le pH vaginal est de 4 à 4,5 ; c'est le pH normal chez l'adulte mais il varie avec l'âge et sous l'influence de différents troubles pathologiques.

À la naissance, le pH est entre 5,5 et 7 ; le vagin est alors stérile. Le bacille de Döderlein s'y installe aussitôt et le pH descend entre 5 et 4 en l'espace de 24 h. Ensuite, il se rapproche de la neutralité et même de l'alcalinité au fur et à mesure de la diminution de l'action des hormones maternelles. Vers le 12^{ème} ou 14^{ème} jour, le bacille de Döderlein a disparu et en même temps que l'acide lactique. Il ne réapparaît qu'à la puberté et le pH revient alors à pH 4,5. [11]

Chez l'adulte, il ne redevient alcalin que sous l'influence du sang au moment de la délivrance et dans les périodes de menstruation, ce qui favorise le développement des germes étrangers. Le pH croît aussi à la ménopause, après la ménopause [11], le pH augmente de 7,0 à 7,4, en raison de la variation de la teneur en glycogène à ces temps en revanche, pendant la grossesse, le pH du vagin passe de 3,8 à 4,4 [4].

Le vagin est irrigué par des artères, des veines et des vaisseaux lymphatiques. Les veines ne mènent pas au foie.[11]

I.2. Les voies d'administration pour le traitement des pathologies vaginales

Deux voies d'administration sont possibles :

- Voie générale ou systémique : orale (ou per os).
- Par voie locale : Vaginale.

Le choix de la voie d'administration dépend de l'objectif thérapeutique (rapidité d'effet, limitation des effets systémiques), des possibilités d'administration chez le malade, des propriétés physico-chimiques, de la taille des molécules et des processus d'élimination de ces médicaments (biotransformation intestinale, hépatique). [3]

I.2.1. Voie générale

On peut distinguer de façon simple deux types de voies d'administration, d'une part les voies d'administration où le médicament rejoint la circulation générale, soit directement soit au travers de la paroi capillaire, et les voies d'administration où les médicaments rejoignent la circulation générale au travers de la barrière digestive puis par le système porte et donc un premier passage obligé par le foie. [3]

L'effet du premier passage hépatique correspond à la transformation du médicament, avant d'avoir atteint la circulation systémique. Cet effet contribue à la réduction de la biodisponibilité. Certaines voies d'administration l'évitent puisque le médicament ne passe pas par le foie avant d'atteindre la circulation systémique. [17]

I.2.2. Voie locale

Ces voies sont surtout utilisées lorsqu'on veut obtenir un effet rapide et/ou éviter un effet systémique (passage dans la circulation générale). Toutefois un passage systémique du

médicament est toujours possible. Ces voies concernent les médicaments topiques, c'est-à-dire ceux dont l'action est strictement limitée à l'endroit où ils sont appliqués. [3]

La voie locale optimise la concentration de la substance active au niveau du site d'intérêt. La nature de la cible influence les paramètres pharmacocinétiques des voies locales. [18]

I.3. Pharmacocinétique par voie vaginale

Le vagin constitue une voie d'administration privilégiée, en raison de son excellente absorption hormonale qui permet d'obtenir des taux sanguins rapidement élevés, elle évite également le premier passage hépatique sachant que les veines du vagin ne mènent pas au foie, les médicaments employés par cette voie sont destinés à une action locale car la muqueuse vaginale est faiblement perméable. En conséquence, moins de pertes hormonales et d'effets secondaires en recours à des doses plus faibles sur une période plus courte. [18]

Après administration par voie vaginale, le passage systémique est faible. Puisque l'administration d'un ovule de 500 mg à effet antibiotique pendant trois jours a montré qu'en moyenne 30 % (de 6,5 à 70 %) du produit est absorbé par voie systémique contre 5 % en moyenne avec la forme en gel vaginal. [19]

L'effet systémique est dû à une absorption remarquable de certains médicaments de la paroi vaginale. Les prostaglandines, les œstrogènes sont des hormones qui sont rapidement et largement absorbé par l'épithélium vaginal en raison de sa grande surface. Cette route contourne d'abord à un métabolisme, et réduit ou élimine les effets secondaires gastro-intestinaux et hépatiques. Le vagin offre certaines caractéristiques uniques qui peuvent être exploitées afin d'obtenir les effets thérapeutiques souhaitables. [3]

Cependant, l'administration d'un médicament par voie locale expose aux effets systémiques de la molécule administrée. [19]

I.4. Les différentes pathologies du vagin

En moyenne, 90 % des infections génitales basses (ça englobe la vulve, le vagin et l'exocol) sont dues à trois causes : la vaginose (50 % des cas), la trichomonase et la vulvovaginite à Candida. [20]

I.4.1. La trichomonase vaginale

La trichomonase vaginale est une infection transmise sexuellement, causée par *Trichomonas vaginalis*. Elle est souvent asymptomatique ou présente les signes suivants : sécrétions vaginales abondantes, purulentes et malodorantes avec ou sans prurit vulvaire, dyspareunie et dysurie. Le traitement approprié pour cette infection repose sur les nitroimidazolés. [20]

I.4.2. La vulvovaginite à Candida

La vulvovaginite présente les principaux signes suivants : un prurit vulvaire, des leucorrhées blanchâtres, d'aspect cailleboté, inodores ou odeur de moisi, une vulve rouge en aile de papillon. Le traitement fait appel aux antifongiques azolés par voie topique ou par voie orale. [20]

I.4.3. La vaginose bactérienne

La vaginose est une infection bactérienne. Il s'agit d'une pathologie généralement bénigne, la plus part du temps chez la femme non enceinte. Sa gravité se révèle pendant la grossesse, puisqu'elle est responsable, dans 16 à 30 % des cas selon les études, de prématurité, de chorioamniotites, d'avortements spontanés et de petits poids à la naissance. Elle doit alors être impérativement traitée. [20,2]

I.4.3.1. Physiopathologie

La vaginose est due à un déséquilibre de la flore vaginale résultant de la disparition quasi complète des lactobacilles au profit des bactéries anaérobies (*Gardnerella vaginalis* principalement, mais d'autres bactéries, telles *Ureaplasma urealyticum*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus*, *Atopobium vaginae*, peuvent être incriminées). [20]

I.4.3.2. Diagnostic

Il est généralement clinique. L'examen cyto bactériologique vaginal est rarement utile. La vaginose se manifeste par des leucorrhées grisâtres fluides, malodorantes, avec ou sans symptômes, une élévation du pH vaginal (>5) et la présence de *clue-cells*, sont les caractéristiques à l'examen direct (cellules de l'exocol tapissées de bacilles à Gram négatif). La mauvaise odeur (odeur de poisson), due à la production par les bactéries

anaérobies d'amines aromatiques d'autant plus volatiles que le pH augmente, est donc majorée après le coït.[20]

I.4.3.3. Traitements médicamenteux

Les préparations vaginales sont des préparations liquides, semi-solides ou solides destinées à être administrées par voie vaginale, généralement en vue d'une action locale.[20]

Il ne fait guère de doute que les patientes symptomatiques atteints de la vaginose devraient être traitées; cependant, la controverse existe sur la question de savoir si les personnes asymptomatiques doivent être traitées. En 1989, les Centers for Disease Control (CDC) recommandent que les patients asymptomatiques ne doivent pas être traités ", mais récemment, suite aux risques de complications de cette maladie, il s'est avéré que le traitement peut être prudent chez certaines femmes. Ce sont les patientes qui subissent des interventions ambulatoires, telles que la biopsie de l'endomètre, l'hystérocopie, l'hystérosalpingographie ou l'installation d'un dispositif intra-utérin, ainsi que les patientes en cours du traitement chirurgie-vaginale ou abdominale. [2]

A. Tinidazole (Fasigyne)

Il se présente sous forme de comprimés, administré par voie orale. C'est un antibiotique et un antiparasitaire qui appartient à la famille des imidazolés.[22]

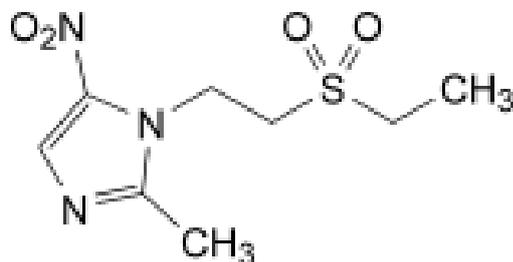


Figure I.2 :Structure chimique de la tinidazole[21]

Il est utilisé dans le traitement de certaines maladies infectieuses ou parasitaires de l'intestin ou de l'appareil génital. [22]

B. Secnidazole (Secnol)

Ce médicament se présente sous forme de granulés, administré par voie orale. C'est un antiparasitaire qui appartient à la famille des imidazolés. C'est un dérivé synthétique de la famille des nitro-5-imidazolés. [22]

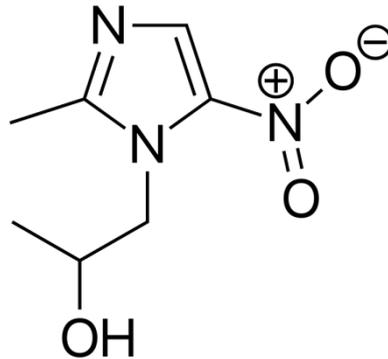


Figure I.3 : Structure chimique de la secnidazole.[21]

Il est utilisé dans le traitement de certaines maladies parasitaires ou bactériennes de l'intestin, du foie et de l'appareil génital. Il est indiqué pour le traitement des infections suivantes :

- urétrites et vaginites à *Trichomonas vaginalis*,
- vaginoses bactériennes,
- amibiase intestinale,
- amibiase hépatique,
- giardiase.

Il convient de tenir compte des recommandations officielles concernant l'utilisation appropriée des antibactériens. [22]

C. Clindamycine (Dalacine)

Ce médicament est présenté sous forme de gélules , c'est un antibiotique qui appartient à la famille des lincosamides.[22]

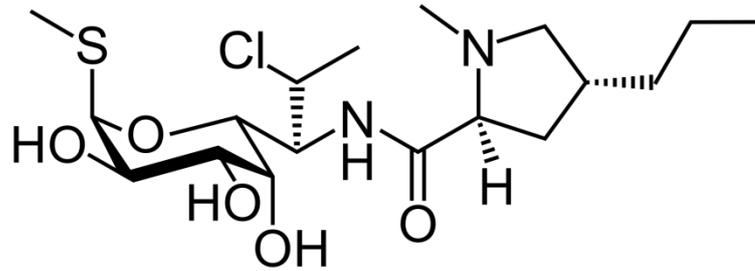


Figure I.4 : Structure chimique de la clindamycine[21]

Il est utilisé dans le traitement de diverses maladies infectieuses graves, notamment des bronches, des oreilles, de la bouche et des dents, de la peau et des os et de l'appareil génital. Il est également utilisé dans la prévention de l'endocardite bactérienne.[22]

D. Metronidazole(Flagyl®)

Le métronidazole fait l'objet du présent travail. Il se présente généralement sous forme d'ovule gynécologique, comprimé, suspension buvable, crème et gel ; qui contiennent une substance antibiotique, antibactérienne et anti-parasitaire de la famille des nitro-5-imidazolés.

Il est indiqué pour le traitement local des vaginites à trichomonas et des vaginites non spécifiques (vaginose bactérienne) . Il convient de tenir compte des recommandations officielles concernant l'utilisation appropriée des antibactériens. [22]

a. Propriétés physicochimiques :

- **Dénomination commune :** métronidazole.
- **Nom chimique :** méthyl-2 nitro-5 imidazole-1 éthanol. [21]
- **Formule développée :**

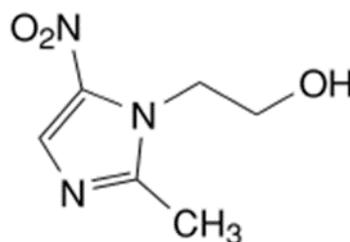


Figure I.5 : Structure chimique du Metrinidazole [21]

- **Formule moléculaire** : $C_6H_9N_3O_3$.
- **Aspect** : poudre cristalline, blanche ou jaunâtre.
- **Masse moléculaire** : 171,15g/mol.
- **Description** : Cristaux ou poudre cristalline de couleur blanche à jaune pâle.
- **Solubilité** : Modérément soluble dans l'alcool, légèrement soluble dans l'éther et le chloroforme, de même ; peu soluble dans l'acétone et dans le chlorure de méthylène.
- **Hydrosolubilité** : modérément soluble dans l'eau tel que : 1g/100ml (20°C)
- **pKa** : 2,6
- **pH** : 5,8 (solution saturée)
- **Point de fusion** : 159-163 °C
- **Coefficient de partage octanol-eau**: $\log P_{exp} = -0.02$. [21]

I.5. Les glycérides hémi-synthétiques

Les glycérides hémi synthétiques sont des huiles hydrogénées contenant des triglycérides, des di glycérides et des mono glycérides. Chauffés à 50°C, les glycérides hémi-synthétiques solides fondent en donnant un liquide incolore ou faiblement jaunâtre.

Ils sont considérés comme masses grasses, utilisées comme excipient dans la préparation des ovules , ils doivent posséder avant tout deux caractéristiques :

- Point de fusion réglable à la température vaginale en fonction du PA.
 - Stabilité vis-à-vis de l'oxydation et inertie chimique vis-à-vis des médicaments.
- [23]

A. Les mono glycérides

Un monoglycéride appelée aussi monoacylglycérol est une glycéride qui consiste en un covalent de la chaîne d'acide gras liée à une molécule du glycérol à travers d'une liaison d'ester. [24]

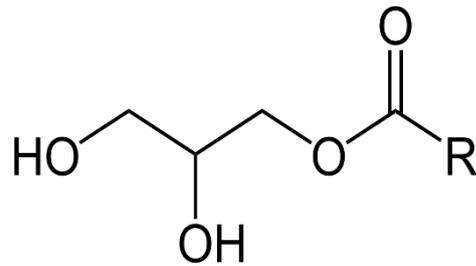


Figure I.6. : Structure chimique des monoglycérides. [24]

Les monoglycérides sont des molécules avec des parties hydrophiles et hydrophobes. Ce sont des agents tensioactifs non ioniques. Ces derniers sont de bons émulsionnants H/L (hydrophilie/lipophilie). Les mono glycérides confèrent aux glycérides hémi-synthétiques une certaine hydrophilie.

Les Monoacylglycérols sont les composants les plus polaires des lipides simples car ils ont seulement une chaîne d'hydrocarbure et deux groupements d'alcool ce qui leur donne une affinité dans les solutions hydrophiles. En outre, ils ont des propriétés détergentes, d'où ils forment facilement des micelles dans les solutions d'eau. [25]

B. Les diglycérides

Un diglycerides, ou diacylglycerol (DAG), a deux radicaux d'acide gras dont les acides gras sont attachés à la molécule de glycérol. [26]

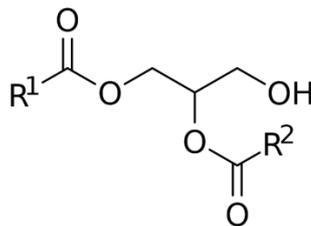


Figure I.7. : Structure chimique des diglycérides [24]

Les diacylglycerols sont des composants polaires des lipides simples car ils ont seulement deux chaînes d'hydrocarbure et un groupement d'alcool et, donc, ce qui leur donne une affinité dans les solutions hydrophiles. En outre, ils ont des propriétés détergentes, d'où ils forment facilement des micelles dans les solutions de l'eau. [26]

C. Les triglycérides

Un triglycéride aussi appelé triacylglycerol est constitué d'une molécule de glycérol estérifié par trois molécules d'acides gras semblables ou différents. Les triglycérides se présentent de 95 à 98% dans les lipides. [27]

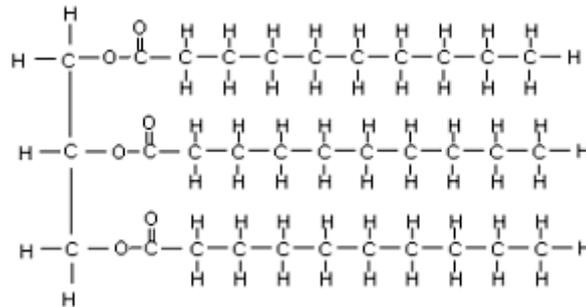


Figure I.8. : Structure chimique des triglycérides[24]

➤ Structure cristalline des triacylglycerols

Le polymorphisme des lipides solides est décelé par des recherches thermoanalytiques différentielles. Les triacylglycerols affichent la polymorphie, c.-à-d. peuvent exister dans plus qu'une forme cristalline. Ceux-ci diffèrent selon le point de fusion, la stabilité physique et l'arrangement de molécules dans le cristal. Quand un triacylglycerol liquide est refroidi rapidement, il se solidifie dans une forme (α) cristalline. Sous l'effet de la température, il y aura lieu du changement en premier à une forme (β') puis à une forme (β). [27] Sur le tableau I.1 sont résumées les caractéristiques des trois polymorphes α , β' et β .

Tableau I.1 :Caractéristiques des trois polymorphes α , β' et β . [27]

Alpha, α	<ul style="list-style-type: none"> - Cristaux très petits. - Favorisé par le refroidissement et l'agitation rapides. - Instable.
Bêta perfection β'	<ul style="list-style-type: none"> - Aiguilles sensibles. - Favorisé par l'hétérogénéité des acides gras - La meilleure forme pour que les levains soient écrémés
Bêta, β	<ul style="list-style-type: none"> - Cristaux bruts - Favorisé par homogénéité en molécules

I.5.1. Leur utilisation comme excipient

Une base d'ovules devrait être stable, chimiquement et physiologiquement inerte, compatible avec une variété des substances actives, capable de se fondre ou se dissoudre en fluides vaginaux et rester stables pendant le stockage.

Des bases de point de fusion bas, peuvent être employées en ajoutant des substances qui soulèveront le point de fusion global. Cependant, on doit observer la faisabilité de préparer un ovule qui est apte à se fondre une fois administré dans le site vaginal.

Parmi les excipients proposés pour la formulation des ovules, les corps gras hémisynthétiques occupent une place très importante. Principalement, GATTEFOSSE fournit les SUPPOCIRES et OVUCIRES. [28]

I.5.2. Leur application dans la formulation ou la technologie pharmaceutique

L'application primaire des bases d'ovules de graisse dure, ou les glycérides hémisynthétiques, est comme véhicule pour l'administration vaginale d'une variété de drogues, pour exercer des effets locaux.

Les propriétés de la base d'ovules qui peuvent être influencées par l'ajout de la drogue, sont les caractéristiques de fusion, la réactivité chimique et la rhéologie. La présence des additifs dans la base peut également affecter la dispersion. [28]

I.5.3. Leurs caractéristiques de fusion

Les ovules à base grasse sont prévus pour l'usage local devraient se fusionner, se disperser et se ramollir juste au-dessous de la température du milieu. Des bases à haut point de fusion peuvent être indiquées pour les principes actifs solubles dans la graisse qui tendent à diminuer le point de fusion des bases.

Les bases à point de fusion faible, particulièrement ceux qui se mélangent à des liquides à faible viscosité, peuvent ne pas être valables si elles sont mélangées à un volume important de substance insoluble. Il y a un risque de sédimentation.

Le facteur le plus important dans le processus, est le temps de fabrication. Ceci est dû à la différence entre les températures de la fusion du mélange et celle de solidification. [28]

I.5.4. Leur viscosité

La viscosité de la base fondue peut affecter l'uniformité de la distribution du PA en suspension pendant la formulation. Elle peut également influencer le dégagement et l'absorption de la matière active dans le vagin. Davantage de réduction de la dimension particulaire des solides insolubles est la méthode de choix pour réduire au minimum le risque de sédimentation. Cependant, la présence d'une teneur élevée des particules fines et suspendues est susceptible d'augmenter la viscosité. Elle peut également rendre la coulée difficile, retarder la fusion et induire la fragilité sur la solidification

Si la viscosité de la base, après administration est très haute, le taux du PA peut être ralenti. Les approches qui ont été utilisées pour augmenter la viscosité, consiste à augmenter la longueur de la chaîne d'acide gras dans la base. Par exemple, augmenté C-16 et C-18 mono - et diglycerides dans la base. L'addition approximativement de 2% monostearate aluminiums augmentera aussi la viscosité d'une base grasse ; le cetyl, stéaryle et alcools du myristyl et acide du stéarique peuvent être utilisés dans des concentrations d'approximativement 5%. [29]

I.6. Excipients utilisés pour la formulation des ovules

Pour le choix des excipients spécifiques à la forme ovule vaginale, nous tenons compte des facteurs physicochimiques suivants :

- La température de fusion au niveau du site d'action (site vaginal) qui se situe entre 36 et 37 °C, pour un sujet normal.
- Une fusion rapide, une fois administrée dans le site d'action.
- Des propriétés tensioactives pour améliorer la mouillabilité et la dispersion des principes actifs insolubles.

Aussi, il serait intéressant de sélectionner des excipients Suppocires et Ovucires de la famille des acides gras de triglycéride. [30]

I.6.1. Suppocire NA 15

Les bases Suppocire appelées aussi graisses dures comprennent des esters d'acides gras chimiquement stables ayant une plage de fusion étroite. Leurs propriétés physicochimiques offrent de nombreux avantages en termes de formulation et de fabrication, notamment des propriétés de solidification optimisées.

De plus, les formulations Suppocire sont généralement de simples mélanges binaires du PA dissout ou dispersé dans la base d'ovule. Ils ne nécessitent pas d'excipients supplémentaires pour améliorer les performances, la qualité ou la stabilité. La base Suppocire confère une résistance mécanique élevée et produit des unités des ovules plus dures.

- **Description chimique** : Se compose d'esters mono, di et triglycérides d'acides gras (C 10 à C 18), la fraction triester étant prédominante
- **Forme du produit** : solide cireux, de couleur blanche ou sensiblement blanche et pratiquement inodore.
- **Solubilité** : insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol C₂H₅OH.
- **Plage de fusion (° C)** : 33,5 - 35,5.
- **Indice d'hydroxyle (mg KOH / g)** : 5 – 15. [30]

I.6.2. Ovucire WL 3264

L'Ovucire WL 3264 est une base de pessaire grasse dure à consistance variable avec un émulsifiant pour améliorer la dispersion et la mouillabilité des PA hydrophobes. C'est un mélange de graisses dures et d'alcools gras éthoxylés qui se compose d'un mélange d'esters mono-, di- et triglycéridiques d'acides gras (de C₁₀ à C₁₈), la fraction de triesters et

des alcools gras éthoxylés étant prédominante. Cette base grasse permet une fusion rapide à température normale de la cavité vaginale.

Cette base comprend également des composés à hydroxyle, telle que la présence des OH- dans les excipients, l'indice d'hydroxyle sera élevé et l'absorption du PA au niveau de l'épithélium est alors plus facile.

- **Description chimique** : Se compose d'alcools gras éthoxylés et d'esters mono, di et triglycérides d'acides gras (C 10 à C 18),
- **Forme du produit** : solide cireux, de couleur blanche ou sensiblement blanche e pratiquement inodore.
- **Solubilité** : insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol C₂H₅OH.
- **Plage de fusion (° C)** : : 32 – 35
- **Indice d'hydroxyle (mg KOH / g)** : 40-60. [30]

I.7. Médicaments dédiés à la vaginose bactérienne à base de métronidazole

Sur le tableau I.2, sont regroupés les médicaments dédiés à la vaginose bactérienne à base demétronidazole en fonction de la forme galénique, le mode d'administration, le dosage et l'action.

Tableau I.2 : Médicaments dédiés à la vaginose bactérienne. [22]

Nom commercial	Dosage	Forme	Voie d'administration	Action
Flagyl	250 mg	Comprimé pelliculé	Voie orale	Action systémique
Flagyl	4%	Suspension buvable	Voie orale	Action systémique
Flagyl	500 mg	Comprimé pelliculé	Voie orale	Action systémique
Flagyl	500 mg	ovule	Voie vaginale	Action locale
Biogaran	500mg	Comprimé pelliculé	Voie orale	Action systémique
Flagyl	10%	Crème	Voie vaginale	Action locale
Meda pharma	0.75%	Gel	Voie vaginale	Action locale
Méto-gel	0.75%	Gel	Voie vaginale	Action locale
Metrofag-yl	500mg	Ovule	Voie vaginale	Action locale
Fongyne	500mg	Ovule	Voie vaginale	Action locale
Flazol	125mg/5ml	Suspension buvable	Voie orale	Action systémique
Flazol	500mg	Comprimé pelliculé	Voie orale	Action systémique

I.8. Technique de caractérisation des ovules

Afin de produire des ovules à base de métronidazole de qualité et d'efficacité, et qui répondent aux spécifications prescrites, il est nécessaire de caractériser ses propriétés diverses, pour cela, il est indiqué de procéder par les techniques suivantes :

I.8.1. Osmolalité

L'osmolalité est déterminée en utilisant un point de congélation à l'aide d'un osmomètre. La standardisation est réalisée en utilisant trois standards : eau distillée (point zéro), NaCl 300 mOsm / kg et NaCl 850 mOsm / Kg. En outre, l'osmolalité est déterminée dans un mélange de liquide vaginal simulant une quantité du produit correspondant à la dose quotidienne. Cette procédure est mise en place pour estimer l'osmolalité du produit lorsqu'il est mis en contact avec des stimulants de liquide vaginal qui est estimé à 0,75 ml.

Il s'agit de la mesure de la tolérance de la membrane muqueuse vis-à-vis des produits et des supports microbicides, afin de déterminer l'irritation potentielle pouvant être provoquée, associée au produit en contact avec le milieu vaginal. L'administration vaginale est bien tolérée quand l'osmolalité est entre 260 et 480 mOsmol/Kg. [14]

I.8.2. Fermeté et adhérence

L'analyse de la texture comprend l'adhésivité (N.mm) et la fermeté (N) déterminées à l'aide d'un texturomètre. Il s'agit d'une caractérisation physico-mécanique afin de déterminer les caractéristiques texturales des formulations vaginales. Une grande adhésivité conduit à une faible fermeté, cela signifie qu'il pourrait avoir une bonne aptitude à la propagation sur l'épithélium. [14]

I.8.3. Test de dissolution

Le test de dissolution est un outil important pour l'évaluation de la qualité des médicaments car il fournit une idée sur le comportement du médicament in vivo. Pour cela le test de dissolution doit être bien mené et maîtrisé. [31]

Des ovules sont examinés à l'aide d'un dissolu-test à une température de $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. En termes de vitesse de dissolution, la rotation était de 100 tours / minute et le milieu de dissolution était de 900 ml qui est la solution tampon de lactate avec un pH de 4,5. Durant tout le test de dissolution, des échantillons sont prélevés du milieu de dissolution à des intervalles de temps prédéterminés, puis la teneur en médicament est déterminée par spectrophotométrie contre blanc, à 320 nm pour MTZ. Les moyennes des quantités libérées de trois échantillons sont calculées. [32]

D'après GATTEFOSSE, l'utilisation des bacs de 900 ml pour le test de dissolution, est ambivalent, ça ne peut pas forcément avoir un sens vu que le volume du milieu physiologique dans le vagin ne dépasse pas 0,75ml. [30]

I.8.4. Application des ovules chez le lapin et étude d'imagerie

Les investigations animales sont effectuées avec l'approbation du comité d'éthique. « Université d'Ege ». Les ovules à dose unique de MTZ, préparés avec Witepsol H15 sont administrés par voie intra-vaginale à six patients de race blanche, de Nouvelle-Zélande, à des femelles pesant entre 2,5 et 3 kg. L'activité de rayonnement est évaluée avec une caméra gamma. Six animaux sont placés en position couchée sous le détecteur de la caméra. Des images scintigraphiques sont recueillies à partir d'une valeur initiale de la radioactivité à 15, 20, 30, 60, 90 et 120 min.

À la même géométrie les images sont surveillées en utilisant SPECT gamma équipé avec un collimateur à trous parallèles avec une basse et haute résolution. [32]

I.8.5. Étude microbiologique

La microbiologie s'intéresse à l'étude des microorganismes, qu'il s'agisse des bactéries, des champignons, des protozoaires ou des virus. La connaissance approfondie de leur physiologie, de leur génétique et des interactions entre eux facilite la compréhension du monde vivant à l'échelle microscopique.

L'évaluation *in vitro* de l'activité est cruciale pour le développement d'agents antibactériens. Plusieurs procédures de microbiologie clinique sont fournies pour cette évaluation dans cette unité, notamment la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), les courbes de destruction et les tests de synergie. Ces techniques fournissent des informations sur l'efficacité *in vitro*, l'activité cidal-versus statique et le potentiel de synergie avec d'autres agents.[33]

Une culture trouble de 48 heures de *Candida albicans* est préparée dans 200 ml de liquide, Sabouraud Medium, la turbidité est ajustée pour contenir environ 10^5 cellules / ml.

Ensuite, des ensembles de solutions de MTZ à des concentrations croissantes (0,25, 0,5, 0,75 et 1 mg / mL) sont préparées. Ces concentrations correspondent aux 25%, 50%, 75% et 100% de MTZ rejeté par les ovules. De chaque concentration de MTZ, un mélange de levure et de solution de MTZ est fabriqué dans un tube stérile dans un rapport de 1/10. Après 15, 100 et 120 μ l de la suspension de levure contenant 0,25 mg / ml de MTZ sont ajoutés et inoculés dans des tubes contenant 900 μ l du milieu Sabouraud liquide.

Des transferts similaires sont effectués, à partir de 0,5 mg / ml de suspension après 30 jours et 120 min, à partir de 0,75 mg / ml de suspension après 90 et 120 min, et à partir de 0,1 mg / ml de suspension après 120 et 180 minutes. [32]

I.8.6. Etude de viscosité

La viscosité est évaluée à l'aide d'un rhéomètre à plateaux coniques. Les mesures de viscosité sont effectuées à la température de la chambre (25 ° C) et à la température physiologique vaginale (37 ° C), afin d'analyser des formulations simples et après dilution dans VFS. En utilisant deux broches à cône, nécessitent toutes les deux une dose de 0,5 g d'échantillon et a 3 ° et 8 °, et 1,2 cm et 2,4 cm, angle de cône et rayon, respectivement. Ce processus a tendance à imiter la rhéologie adoptés après application des produits vaginaux dans le corps humain. Pour évaluer le comportement thixotrope des formulations, une gamme de vitesses de test comprises entre 5 et 200 trs/ min est établie.

A cette fin, une dose quotidienne de toutes les formulations est placée dans le vagin du porc provenant d'un abattoir local. L'orgue est isolé de la partie supérieure du système reproducteur restant, placé sur un plateau et 0,75 ml de VFS sont insérés dans le vagin. Ensuite, les plateaux sont placés dans un incubateur à 37 ° C avec une agitation douce (50 tours / minute). Après 3 h les plateaux sont retirés et les vagins sont ouverts longitudinalement pour l'observation et la collecte de la formulation qui est ensuite évaluée en ce qui concerne la viscosité. [14,34]

Chapitre II : Matériels et méthodes

Dans ce chapitre nous présentons, en premier lieu, les différentes étapes utilisées pour l'orientation afin de faire ressortir les caractéristiques des produits de référence ce qui permettra de nous guider quant-au choix des formulations à réaliser et de leurs analyses.

En second lieu, nous décrirons le procédé de formulation adopté et les matières premières utilisées pour la préparation et l'optimisation de la formule appropriée afin d'obtenir des ovules à base de métronidazole, ayant des propriétés antibiotiques, avec des caractéristiques meilleures ou égales à celles des produits de référence. Enfin les différentes méthodes d'analyse effectuées sur les ovules obtenues seront décrites.

II.1. Matériels

II.1.1. Appareillages

Le matériel utilisé dans le présent travail est spécifique à la formulation des ovules. Également utilisé pour la caractérisation de nos matières premières, produits de référence et produits formulés. Il est constitué de :

- Un agitateur magnétique muni d'un thermocouple (VELP SCIENTIFICA).
- pH mètre (HANNA HI 8424).
- Une étuve (MEMMERT).
- Un Rhéomètre (ANTON PAAR Modular compact rheometer MCR 302).
- Spectrophotomètre (V-201 spectrophotometer HITACH V-5100).
- Homogénéisateur ultra-turrax® (IKA® T25 DIGITAL MODEL : T 25 D).
- Dissolu-test (ERWEKA DT 820).
- Balance (KERN EG 220-3NM).
- Microscope optique (OPTIKA DM-25).

II.1.2. Réactifs et matières premières

Les matières premières essentiellement utilisées pour la réalisation des différentes formules des ovules, sont décrites comme suit :

- Métronidazole : principe actif dans toutes nos formulations ayant des propriétés antibiotiques.

- Suppocire NA 15 : en étant excipient comme matrice lipidique pour la mise en œuvre des ovules.
- Ovucire WL 3264 : en tant qu'excipient comme matrice lipidique pour la mise en œuvre des ovules.

D'autre part ; les réactifs utilisés pour la préparation et l'ajustement du pH du simulant du fluide vaginal, sont les suivants :

- Acide lactique : préparation d'une solution tampon de lactate 0.1M pour la réalisation du test de dissolution.
- Solution de NaOH : 0,05M qui représente la base utilisée pour la réalisation de la solution tampon de lactate.
- Solution de NaCl : 0,06M qui représente le simulant du fluide vaginal utilisé pour l'étude de viscosité.
- Solution de HCl : 1N pour l'ajustement du pH du simulant du fluide vaginal.

II.2. Méthodes

II.2.1. Orientation

Afin de caractériser les produits de référence, l'orientation représente le point de départ du présent travail dans le but de faire ressortir les caractéristiques des produits. Leurs valeurs feront l'objet de cibles à atteindre, lors de l'étape de formulation.

II.2.1.1. Description des produits de référence

L'étude est basée sur deux produits de référence qui sont les suivants :

- Flagyl® 500mg : fabriqué par l'entreprise pharmaceutique algérienne BIOPHARM présenté sous forme d'ovule.
- Flagyl® 500mg : fabriqué par l'entreprise pharmaceutique française SANOFI présenté sous forme d'ovule.

Tableau II.1: Description des deux produits de référence « Flagyl®(Dz), Flagyl®(Fr) » [22]

Nom commerciale	Flagyl® (Dz)	Flagyl® (Fr)
DCI	Métronidazole	Métronidazole
Dosage	500 mg	500 mg
Excipient	Glycrides Hémi synthétique	Glycrides Hémi synthétique
Présentation	Boite de 10 ovules	Boite de 10 ovules
Forme	Ovule	Ovule
Poids moyen	2,700 g	2,100 g

II.2.1.2. Caractérisation des produits de référence

A. Analyse rhéologique en mode oscillatoire

Ce type d'analyse permet de déterminer les propriétés rhéologiques viscoélastiques d'un matériau, à savoir, la rigidité par le module de conservation G' et sa partie dissipative, à cause de la viscosité, par le module de perte G'' . Nous avons choisi de travailler en déformation imposée. Dans ce cas-là, on applique une déformation sinusoïdale $\gamma(t)$ (figure II.1) et on mesure une contrainte sinusoïdale $\tau(t)$ de la forme:

$$\gamma(t) = \gamma_0 \sin(2\pi ft) \quad (\text{II.1})$$

$$\tau(t) = \tau_0 \sin(2\pi ft + \delta) \quad (\text{II.2})$$

Où f est la fréquence et δ représente le déphasage, appelé angle de perte. δ est égal 90° dans le cas d'un liquide purement visqueux ou à 0° pour un solide purement élastique.

Quand on impose une déformation constante, le rhéomètre ne réagit pas instantanément, il subit une contrainte et il a un temps de réponse, c'est ce qu'on appelle le déphasage,

La tangente de perte est définie comme le rapport du module dissipatif sur le module élastique :

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad (\text{II.3})$$

Sur le plan expérimental, nous avons remarqué que les glycérides sont viscoélastiques, ils ont un comportement intermédiaire entre un solide élastique et un liquide visqueux. Sous déformation de cisaillement, ils stockent une partie de l'énergie sous forme élastique,

caractérisé par le module de conservation élastique G' et en dissipent une partie sous forme visqueuse, caractérisée par le module de perte G'' .

Le rhéomètre peut être exploité soit par application d'une rampe de déformation, d'une rampe de température ou d'une rampe de fréquence.

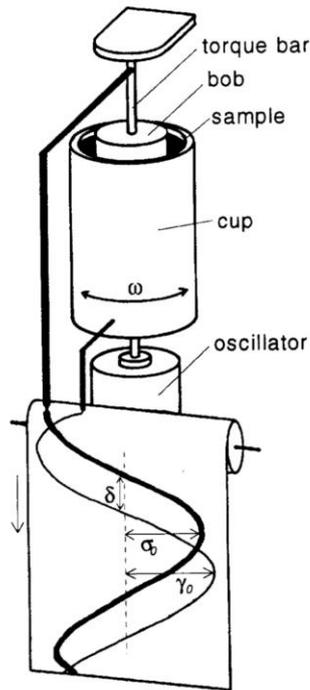


Figure II.1 : Représentation schématique d'une mesure rhéométrique en mode oscillatoire.

Tous les tests rhéologiques ont été effectués sur un rhéomètre à contrainte et déformation imposées de marque MCR 302 Anton Paar Physica (Anton Paar, GmbH, Germany), le dispositif est muni d'un logiciel RHEOPLUS/32 V3.62, qui permet le pilotage du rhéomètre et le traitement des données ainsi que leur exploitation.

Notre proposition est d'investiguer les propriétés de fusion et de cristallisation des matières premières et des ovules et donc le paramètre de contrôle est la température. En régime dynamique, on se propose d'appliquer une rampe croissante et décroissante de température, tout en imposant une déformation de cisaillement constante relativement

faible, $\gamma = 0,5\%$, afin de ne pas modifier les propriétés structurales du matériau sur le plan mécanique et aussi on fixe la fréquence de l'oscillation à une valeur relativement faible, $f = 1 \text{ Hz}$, pour tenir compte de la relaxation des macromolécules.

La géométrie utilisée est de type Plan-Plan (PP 25) avec $\phi = 25 \text{ mm}$, $\epsilon = 0,5 \text{ mm}$.

- **Mise en œuvre et validation de la méthode :**

Initialement, on soumet l'ovule à une température de 45°C pour le transformer dans sa forme fusionnée liquide. Le but est de s'intéresser à ses propriétés de cristallisation par refroidissement. Pour ce faire, on applique une rampe rapide décroissante de température de 45° à 37°C pour retrouver les conditions de température de l'organe vaginal. On impose par la suite une deuxième rampe décroissante de température de 37° à 15°C à raison de 1°C par minute. Le but étant de voir l'effet du refroidissement sur les deux modules G' et G'' générant la cristallisation de l'ovule.

La deuxième étape d'investigation consiste à déterminer la cinétique de chute des deux modules G' et G'' impliquant la fusion de l'ovule. Cette étape est constituée de deux phases ; la première, de 15°C à 30°C avec une vitesse de 5°C par minute, dans laquelle, les propriétés mécaniques de Suppocire NA 15 ne subissent pas de modification structurale notable (pas de changement d'état). Dans la deuxième phase, de 30°C à 40°C , les paramètres viscoélastiques sont très sensibles à la température et donc, la vitesse de la cinétique est à valider.

Tableau II.2: Description des deux méthodes utilisées pour l'analyse rhéologique en régime oscillatoire.

Séquences Méthodes	Séquence 01 [45-37]°C	Séquence 02 [37-15]°C	Séquence 03 [15-30]°C	Séquence 04 [30-40]°C
Méthode 01	5°C /min	1°C /min	5°C /min	1°C /min
Méthode validée	5°C /min	1°C /min	5°C /min	0,5°C /min

Les deux (figure II.2, Flagyl Biopharm Algérie), (Figure II.3, Flagyl Sanofi France), représentent l'évolution typique des deux modules de conservation G' et de perte G'' en fonction du temps, avec indication de la variation de la température.

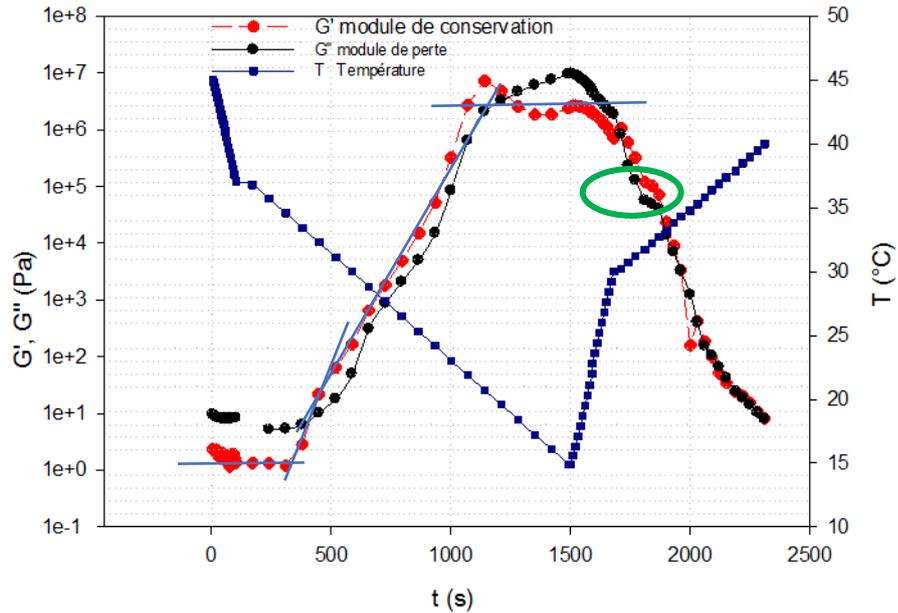


Figure II.2 : Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Flagyl Biopharm Algérie)

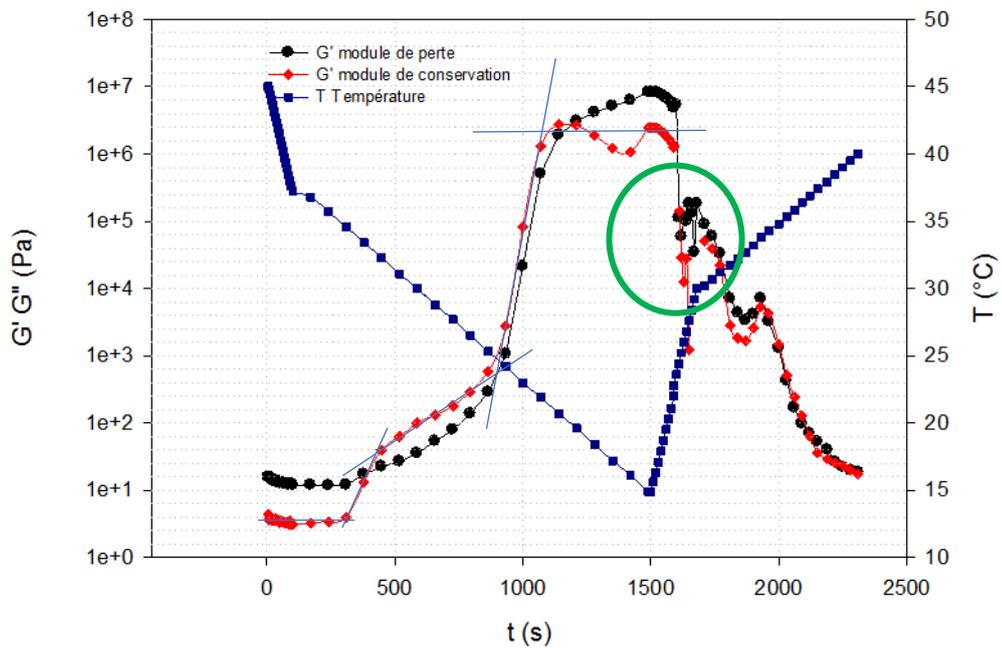


Figure II.3 : Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma=0,5\%$, (Flagyl Sanofi France)

On remarque que les modules G' et G'' évoluent de la même façon en fonction du temps et de la température et sont du même ordre de grandeur et cela sur tout l'intervalle de température. Ceci permet de déduire que la matière principale de l'ovule, en

l'occurrence la Suppocire NA 15 a un comportement viscoélastique intermédiaire entre le solide et le liquide soit « semi-solide ».

Au vue des deux figures (Figure II.2 ; Figure II.3), on note les observations suivantes :

➤ **Phase de cristallisation :**

- Entre 45°C et 37°C : les deux modules enregistrent les valeurs les plus basses et sont insensibles à la température. Donc ceci conforte le fait que l'ovule est dans sa forme liquide.
- Entre 37°C et 15 °C : les deux modules enregistrent des phases distinguées de cristallisation. En effet, de 37 à 35°C, les deux modules restent insensibles à la température (forme fusionnée). A partir de 35°C, on enregistre un début d'augmentation des deux modules et donc on assiste au déclenchement de la cristallisation. Dans cette phase on remarque que G' augmente rapidement jusqu'à la température de 32°C associé d'un deuxième processus de cristallisation ralenti. A 20°C s'achève le processus de cristallisation ralenti et se transforme en un troisième processus très rapide atteignant des modules de l'ordre de 10^6 , Ce dernier processus s'achève à 20°C, en-deçà de laquelle les modules deviennent sensibles à la température.
- De 20°C à 15°C, les deux modules G' et G'' restent insensibles à la température.

➤ **Phase de fusion :**

- Entre 15 et 30 °C les deux modules restent insensibles à la température.
- Au-delà de 30°C on observe une chute progressive des modules pour le produit de référence Flagyl Biopharm Algérie (figure II.2) atteignant des valeurs de l'ordre de 10^1 Pa à 40°C. Dans cette situation, la valeur associée à la température de fusion n'est pas clairement visible due probablement à la vitesse trop rapide de chute de la température (1°C par minute). Aussi est-il intéressant de ralentir cette vitesse de chute pour mieux cerner la valeur de la température de fusion
- Pour le produit de référence Flagyl Sanofi France on observe une chute drastique des modules jusqu'à la température 28°C Puis une réaugmentation inattendue fluctuante de G' et G'' jusqu'à la température marquant la rechute pour atteindre des valeurs de 10^3 Pa associé à une fusion totale. La température de fusion reste à affiner en diminuant la vitesse de la rampe de température.

B. Analyse rhéologique en régime continu

En régime continu, le rhéomètre tourne avec une vitesse de rotation et donc il génère des cisaillements et par la même la viscosité se manifeste. Le présent travail a pour but de trouver avec la courbe d'écoulement, la viscosité apparente et la contrainte de cisaillement en fonction de la vitesse de cisaillement.

- **Etude de l'écoulement de la Suppocire NA15 réalisé par GATTEFOSSE**

Selon GATTEFOSSE, l'étude de l'écoulement a été réalisée en mesurant la viscosité apparente en fonction de la température, mais la valeur du cisaillement associée à cette viscosité et le sens de variation de la température (chauffe ou refroidissement) ne sont pas spécifiés. Sachant que la variation de la viscosité dépend du sens de la variation de la température (figure II.4).

Dans notre cas, nous mesurons la viscosité pour une température choisie, celle du milieu vaginal ($37 \pm 0,5$) °C. Pour cela, on propose une méthode de mesure plus descriptive.

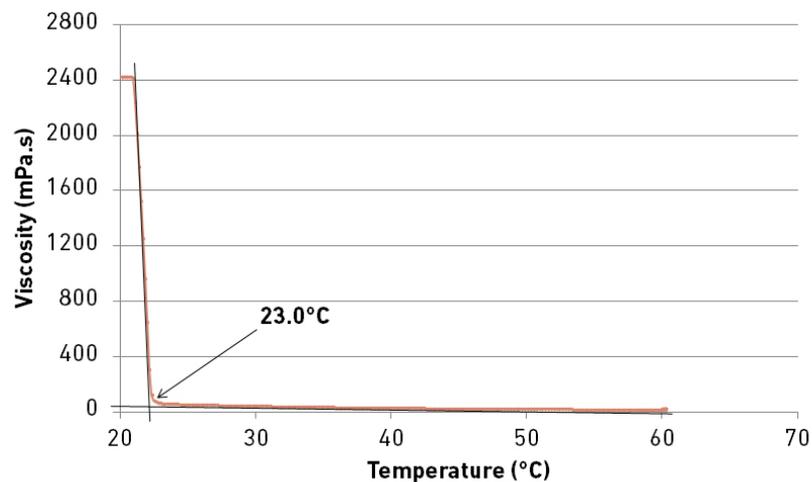


Figure II.4 : Thermorheogram Suppocire NA 15 [30]

- **Protocol utilisé pour l'étude**

Le protocole opératoire adopté est le suivant : on effectue des coupures transversales d'un ovule et on le met dans le système de mesure plan-plan 25 du rhéomètre à 37°C. On laisse la matière reposer dans le système de mesure pendant deux minutes pour qu'elle

puisse fusionner à 37°C. Après, on impose une rampe croissante en vitesse de cisaillement de $0,0001s^{-1}$ à $1000s^{-1}$. Le temps de mesure entre chaque deux points successifs varie suivant une échelle logarithmique décroissante de 30s jusqu'à 02 s, pour tenir compte des cinétiques de déstructuration des éléments figurés dans les ovules (effet de la thixotropie).

- **Mise en œuvre et validation de la méthode**

De prime abord, on mesure la viscosité sans l'ajout du VFS sur l'ovule Flagyl Biopharm Algérie afin de tracer la courbe $\eta_{app} = f(\dot{\gamma})$ et $\tau = f(\dot{\gamma})$.

Après, on se base sur la méthode de Prita et Al [12]. On prépare une solution de NaCl 0.06M représentant le VFS de pH qui varie entre [4 - 4.5] après l'avoir ajusté avec une solution de HCl 1M afin de mesurer la viscosité de l'ovule en présence du VFS.

On fusionne une prise quotidienne prescrite du médicament qui est d'un seul ovule dans 0.75ml du VFS ; jusqu'à arriver à une température de 37°C, l'ensemble est agité manuellement, versé directement dans le système de mesure du rhéomètre qui est à la base réglée à 37°C puis on lit la valeur de la viscosité.

Les courbes résultantes sont comparées (figure II.5), on remarque une différence de valeurs de viscosité entre les deux méthodes ; 900 Pa.s, 7000 Pa.s, viscosité η_0 (viscosité au cisaillement nul) du produit contenant le VFS et la viscosité η_0 du produit en absence du VFS respectivement, pour cela on valide la deuxième méthode qui consiste à ajouter le VFS pour l'étude d'écoulement, du fait que dans la réalité l'ovule, une fois administré est systématiquement mélangé avec le VFS.

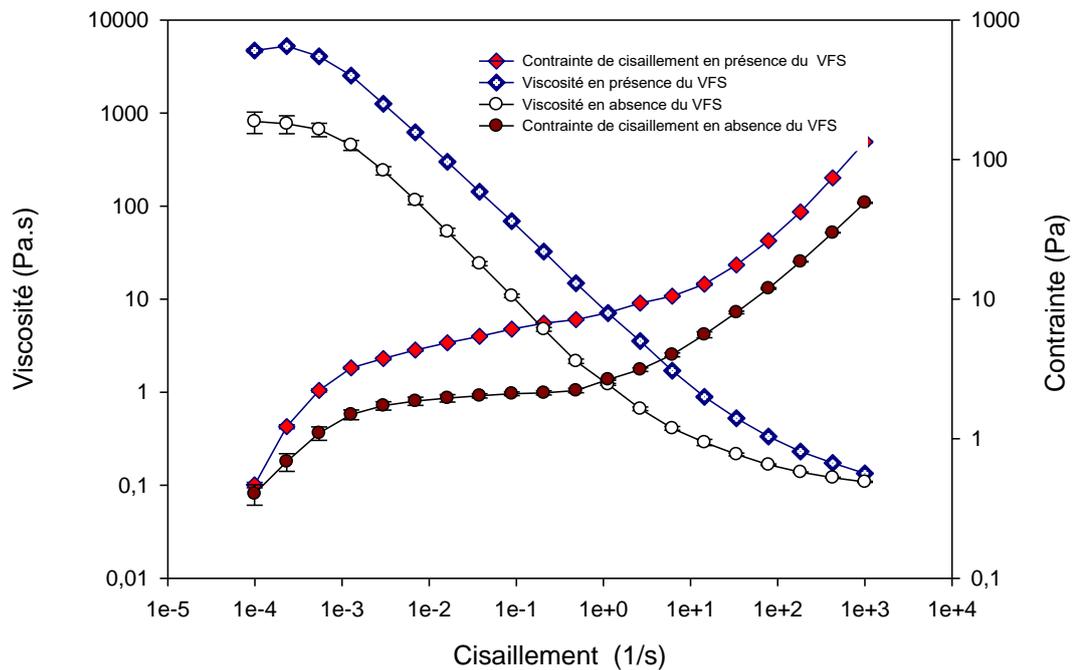


Figure II.5 : Courbes d'écoulement du produit de référence Flagyl Biopharm Algérie en présence et en absence du VFS, $T=37^{\circ}\text{C}$

C. Etude microscopique

La réalisation de l'étude microscopique des deux produits de référence permet d'observer la distribution granulométrique et la morphologie des substances rentrantes dans la formulation de ces deux derniers

Cette caractérisation a pour but d'évaluer la dispersion des particules du PA dans la phase continue.

L'observation de l'état morphologique de tous les produits est effectuée dans leur état fusionné à l'aide de l'étuve réglée à la température de 50°C et dans leur état solide après refroidissement avec un microscope optique de type (OPTIKA DM-25) sous un agrandissement de (10x10) et (40x10).

II.2.2. Caractérisation des matières premières

II.2.2.1. Description des matières premières utilisées

Dans le tableau ci-dessous, nous allons présenter les matières premières utilisées lors de la formulation des ovules.

Tableau II.3 : Description des matières premières utilisées

Constituants	Aspect	Solubilité	Rôle
Métronidazole	poudre cristalline, blanche ou jaunâtre.	Modérément soluble dans l'alcool, légèrement soluble dans l'éther, chloroforme, l'acétone et le chlorure de méthylène.	Antibiotique, antibactérien et anti-parasitaire
Suppocire NA 15	solide cireux, de couleur blanche	insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol C ₂ H ₅ OH.	Base lipidique
Ovucire WL 3264	solide cireux, de couleur blanche	insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol C ₂ H ₅ OH.	Base lipidique avec un effet émulsifiant

II.2.2.2. Dosage du métronidazole

Pour l'identification du PA, on utilise le spectrophotomètre (V-201 spectrophotometer HITACH V-5100) , pour la détermination de la courbe de balayage en suivant la méthode décrite dans E.P.2008 [20]. Le dispositif est muni d'un logiciel UV-Solutions N° :

1J14210-02, qui permet le pilotage du spectrophotomètre et le traitement des données ainsi que leur exploitation. La méthode utilisée est la suivante :

- Dissoudre 40,0 mg de métronidazole dans de l'acide Chlorhydrique 0,1 M et compléter à 100,0 ml avec le même acide.
- Prélever 5,0 ml de solution.
- Compléter à 100,0 ml avec de l'acide chlorhydrique 0,1 M.
- Examiner de 230 nm à 350 nm, la solution présente un maximum d'absorption à 277 nm et un minimum d'absorption à 240 nm.

Par la suite ; afin de déterminer la concentration molaire du métronidazole dissout dans les prochaines formulations, on le dose par étalonnage.

On dispose d'une solution mère de concentration de 0,5g/L, telle que la dissolution est faite dans un litre de solution d'acide chlorhydrique 0.1M, on prépare une deuxième solution mère de concentration de 0,1g /l. À partir de cette solution, on prépare 5 solutions filles de différentes concentrations. Pour cela, on dispose des fioles jaugées de 50mL et d'une éprouvette graduée.

II.2.2.3. Etudes microscopiques de Suppocire NA 15 et Ovucire WL 3264

Cette étude nous permet de décrire la morphologie de chacune des deux matières grasses dans leur état fusionné et dans leur état solide après refroidissement.

II.2.3. Formulation des ovules

Parmi les formes posologiques vaginales, les ovules suscitent un intérêt particulier aux chercheurs engagés dans le développement des formulations vaginales. Ils sont pointés comme formes de dosage les plus préférées chez les femmes. Ces formulations peuvent nécessiter plusieurs administrations quotidiennes afin d'obtenir la concentration thérapeutique et de fournir une distribution uniforme du médicament.

Tous les ovules formulés contenant 500 mg du métronidazole sont préparés par la dispersion du métronidazole dans la Suppocire NA 15 et l'Ovucire WL 3264 fusionnés. Le métronidazole est bien mélangé dans la Suppocire NA 15 et l'ovucire WL 3264 fondus et le mélange résultant est versé dans des alvéoles de $2,7g \pm 3\%$ de poids.

Afin d'optimiser la formule des ovules et d'en choisir celle qui réponde au meilleur rendement et voir son efficacité par rapport au milieu physiologique, on propose un

système binaire pour formuler des ovules avec différentes proportions de Suppocire NA 15 et d'Ovucire WL 3264. Les proportions proposées sont montrées dans le tableau ci-dessous (tableau II.4) :

- Poids moyen des ovules : 2,7g.
- Masse du métronidazole : 500 mg.
- Masse de la matrice (excipients) : 2,2g

Tableau II.4 : Les différentes proportions de Suppocire NA 15 et Ovucire WL 3264

Suppocire NA 15	Ovucire WL 3264
100 % m= 2,2g	0% m= 0 g
80% m= 1,76g	20 % m= 0,44g
60% m= 1,32g	40% m= 0,88g
40% m= 0,88g	60% m= 1,32g
20% m= 0,44g	80% m= 1,76g
0% m= 0 g	100% m= 2,2g

- **Protocole de formulation des ovules**

Les étapes de préparation de différentes formules d'ovule sont :

- Peser la quantité convenante de la matière première.
- Fusionner la matière grasse (Suppocire NA 15 ou/et ovucire WL 3264) à une température de 50°C.
- Une fois la matière grasse arrive à la température de 45°C, on disperse la matière active peu à peu tout en homogénéisant avec une vitesse croissante arrivant à 5x1000 trs/min.

- Maintenir l'homogénéisation jusqu'à l'abaissement de la température à 32°C, qui représente la température de coulée du mélange.
- Remplir les alvéoles avec le mélange obtenu et laisser refroidir dans l'air ambiant jusqu'à solidification des ovules.
- Désemballage et pesée des ovules. Le poids moyen d'un ovule est égal à 2.7g avec une marge d'erreur de 3 % [2.619 ; 2.781] g.

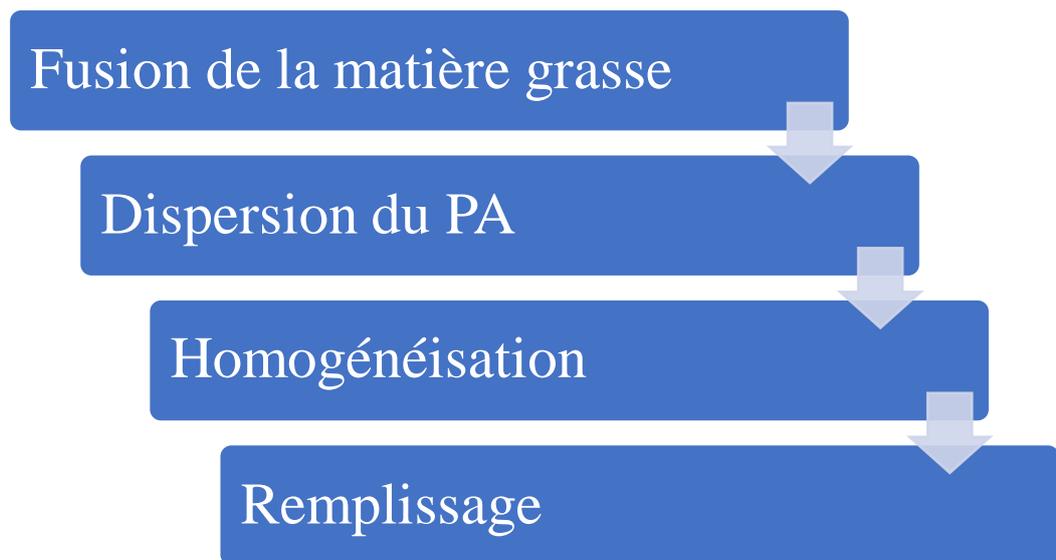


Figure II.6. : Procédé de formulation des ovules

II.2.4. Caractérisation des ovules formulées

II.2.4.1. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques sont déterminées en tenant compte à la fois de la perspective des utilisateurs et l'adéquation de la formulation pour une administration vaginale. Les caractéristiques organoleptiques étudiées sont : aspect général, homogénéité, couleur, odeur, toucher. [14]

II.2.4.2. Caractéristiques granulométriques

La réalisation de l'étude microscopique des ovules formulés permet d'observer la distribution granulométrique et la morphologie des substances et la dispersion du PA dans la matrice grasse. Comme décrit précédemment, l'observation de l'état morphologique est effectuée dans leur état fusionné et dans leur état solide.

Afin de traiter les images microscopiques et analyser la distribution granulométrique de la dispersion du principe actif dans les glycérides, on fait appel à logiciel IMAGE J ; qui est un logiciel de traitement et d'analyse d'images développé.

II.2.4.3. Analyse rhéologique en mode oscillatoire

Le même protocole qui a été effectué pour les deux produits de référence dont la méthode est décrite ci-dessus, est utilisé dans le cas des produits formulés.

II.2.4.4. Analyse rhéologique en mode continue

On suit le même protocole validé décrit pour les deux produits de référence afin de comparer l'ensemble des résultats.

On fusionne une prise quotidienne du médicament qui est d'un seul ovule dans 0.75ml du VFS ; jusqu'à arrivée à une température de 37°C , l'ensemble est agité manuellement , versé directement dans le système de mesure du rhéomètre qui est à la base réglé à 37°C puis on lit la valeur de la viscosité

On effectue cette étape pour les six formulations qu'on a réalisées. Finalement, on trace les courbe $\eta_{app} = f(\dot{\gamma})$ et $\tau = f(\dot{\gamma})$.

II.2.4.5. Cinétique de la libération du PA

La maîtrise de la libération du principe actif à partir des formes pharmaceutiques et celle de la durée d'action des médicaments, est l'un des premiers défis lui ayant été proposés, il faut qu'elle franchisse deux étapes importantes correspondant à deux facteurs limitants : la libération puis la dissolution et l'absorption par l'épithélium vaginal.

A. Préparation de la solution tampon de lactate

Afin de réaliser le test de dissolution des ovules, on prépare le milieu avec un pH simulant au pH du vagin sain en utilisant une solution acide de l'acide lactique de concentration de 0.1M [A] et une solution basique de NaOH de 0.05M [B]. Pour vérifier la capacité tampon de la solution, on applique la formule suivante :

$$pH = pKa + \log [B] / [A] \quad (II.4)$$

Le pH désiré est de 4.5, pour l'ajustement de ce dernier, on utilise une solution de NaOH 0.05M.

B. Test de dissolution

Cet essai est destiné à déterminer la plus ou moins grande aptitude des ovules à se ramollir ou se désagréger, en milieu liquide, dans le temps prescrit en utilisant l'appareil dans des conditions expérimentales bien définies.

- **Mode opératoire**

Pour cela, on utilise le dissolu-test (ERWEKA DT 820) pour l'étude de dissolution des six formulations et des deux produits de référence pour but de comparaison.

Selon Ondracek et al [32], le milieu de dissolution est de 900 ml avec une température de $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ et les palettes sont soumises à une rotation de 100 tour/min. Pour tous les tests de dissolution, des échantillons de milieu de dissolution sont prélevés tel que le prélèvement est de 5 ml à des intervalles de temps prédéterminés et dilués dans des fioles de 25, 50 et 100ml. On rajoute 5ml QSP du milieu après chaque prélèvement. La teneur en médicament est déterminée par spectrophotométrie contre blanc à $\lambda = 278 \text{ nm}$. Les moyennes des quantités libérées des trois échantillons sont calculées.

Les profils de dissolution de tous les essais sont comparés au profil obtenu par Ondracek et al. [32]

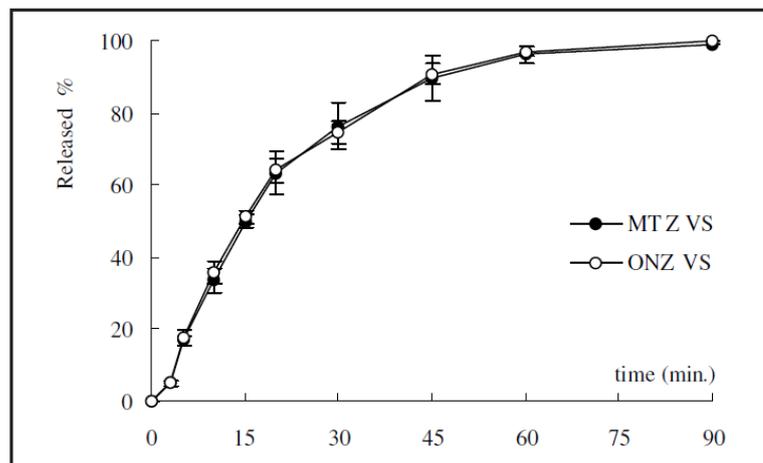


Figure II.7: Profil de dissolution typique du métronidazole libéré à partir de l'ovule [32]

Dans ce profil de dissolution, Q_{\max} représente le pourcentage maximal dissout du principe actif pour 90 min de temps. Dans ce travail, ce paramètre est pris à sa valeur théorique maximale de 100%.

II.2.4.6. Étude de solubilité

La solubilité du métronidazole est réalisée dans le tampon de lactate pH 4,5 selon Parrot [31]. On dilue 500mg de la substance active dans 10 ml du milieu qui est placé dans un bêcher, maintenu à $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ sur un agitateur magnétique à 400 trs / min pendant 24 h. On prélève 5 ml de la solution obtenue, dilue et filtre à $0,22\mu\text{m}$. L'échantillon est analysé par spectrophotométrie à 278 nm. La courbe d'étalonnage est utilisée pour déterminer la quantité de solubilité.

II.2.4.7. Uniformité du contenu du médicament

La méthode B.P 1998 [35] est adoptée. On prend l'ovule de la formule optimale. Le produit est fondu et dispersé dans 25 ml de tampon lactate pH 4,5 puis le volume est complété à 100 ml par le même tampon. L'ensemble est autorisé à tourner dans une constante température de $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ à l'aide d'un bain d'eau pendant deux heures. Une aliquote de 5ml est retirée de la phase aqueuse, filtrée à $0,22\mu\text{m}$, convenablement diluée et testée par spectrophotométrie à 278 nm contre le blanc. Le résultat est jugé conforme aux exigences de la B.P. 1998, d'une façon qu'il se situe entre 98 et 102% de la quantité incorporée.[36]

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Caractérisation des produits de référence

III.1.1. Analyse rhéologique en régime oscillatoire

L'évolution des deux modules de conservation G' et de perte G'' , en fonction du temps avec la variation de la température en suivant une rampe de température lente avec les conditions citées auparavant, est illustrée dans les figures (III, 1, 2).

La dernière séquence consiste à étudier la cinétique de chute des deux modules G' et G'' impliquant la fusion de l'ovule. Cette étape est strictement sensible à la variation de température. Pour cela on opte pour la nouvelle méthode en appliquant une rampe de température lente de façon que la vitesse est de $0,5^{\circ}\text{C}$ par minute.

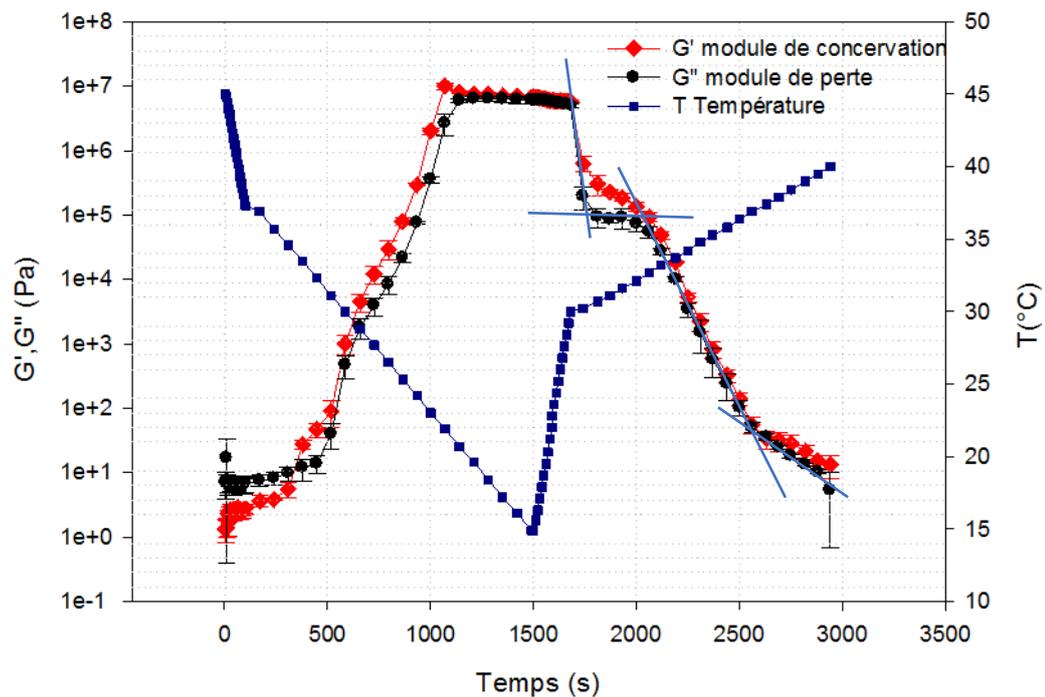


Figure III.1: Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Flagyl BiopharmAlgérie)

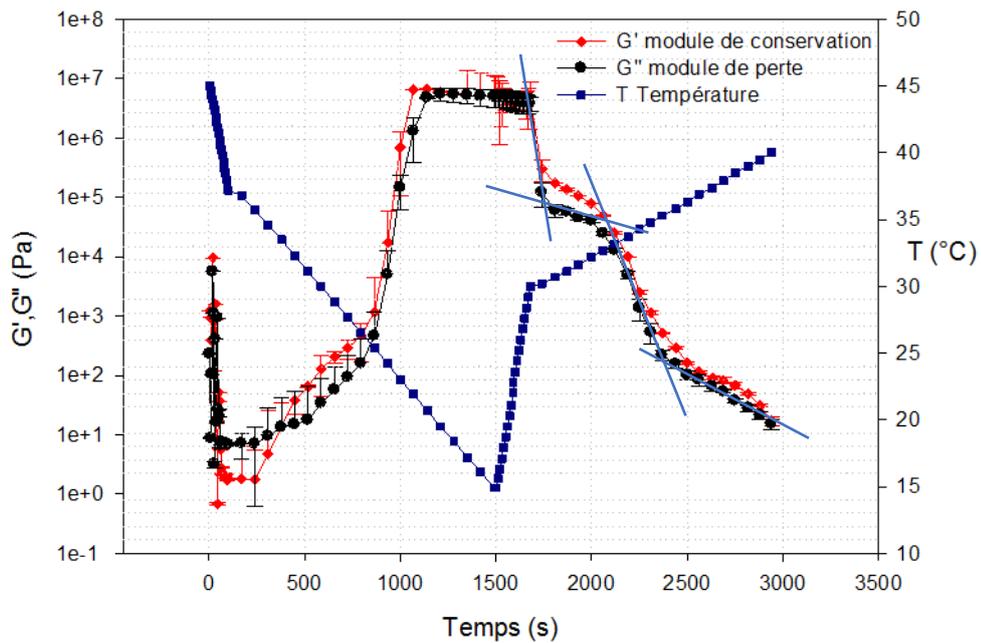


Figure III.2: Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Flagyl Sanofi France)

- A 30°C on observe une chute progressive des modules pour le produit de référence Flagyl Biopharm Algérie et Flagyl Sanofi France atteignant des valeurs de l'ordre de 10^6 Pa . De 30 à 32°C , les modules G' et G'' sont insensibles à la température, le processus s'achève de l'ordre de 10^6 Pa .
- Entre 32 et 37°C on observe une chute progressive des modules atteignant des valeurs de l'ordre de 10^1 Pa pour le produit de référence Flagyl Biopharm Algérie et 10^2 pour le produit de référence Flagyl Sanofi jusqu'à ce que le processus de fusion se stagne à 40°C .

III.1.2. Etude microscopique

L'observation microscopique est réalisée pour les deux produits de références. Les images sont prises à l'état fusionné et à l'état cristallin :

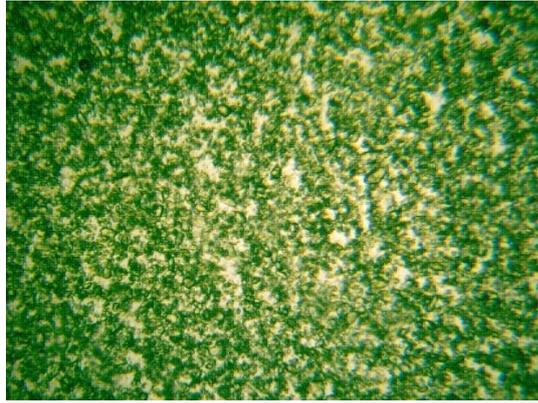


Figure III.3 : Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du flagyl Biopham à l'état fusionné, $T = 50^{\circ}\text{C}$.

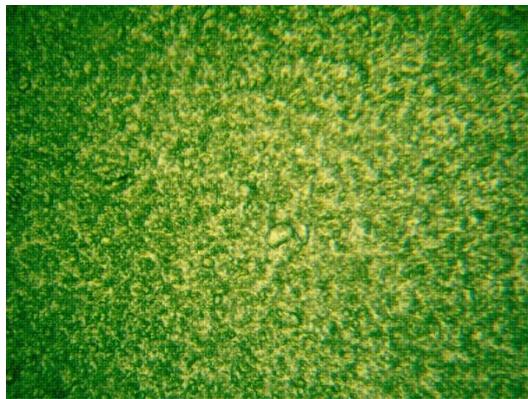


Figure III.4 : Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Biopharm Algérie à l'état cristallin .

Pour Flagyl Biopharm Algérie, on observe des espaces vides dans l'image microscopique quand le produit est à l'état fusionné, ce qui implique la présence d'un système floculé, car la phase continue est à son état liquide, cette floculation est due au manque d'affinité entre les particules du Métronidazole et de la matrice lipidique. En conséquence, les particules sont mobiles, d'où la provocation d'une agrégation potentielle. Cette éventuelle agrégation doit être lâche et non pas cohésive, car ça peut impacter la qualité de la dissolution du PA dans le milieu vaginal.

Après refroidissement, les espaces libres sont plus sombres à cause de la cristallisation de la matrice lipidique. Ceci rend la photo microscopique très confuse auquel cas, on n'arrive plus à distinguer entre les particules du PA et des excipients.

Les images illustrant l'observation microscopique ont l'air d'être condensées, ce qui nous a mené à faire une dilution avec la matière constituant la matrice, à savoir, le Suppocire NA 15 :

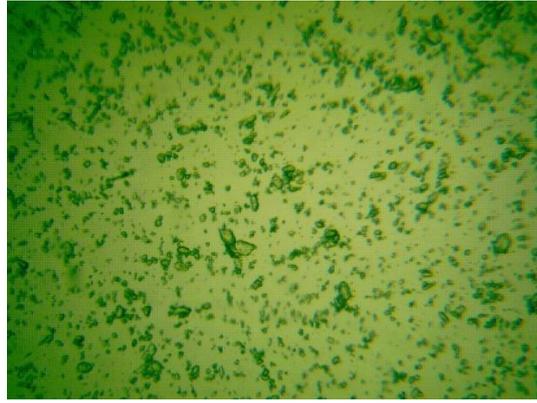


Figure III.5 : Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Biopharm Algérie après dilution à l'état fusionné, $T = 50^{\circ}\text{C}$.

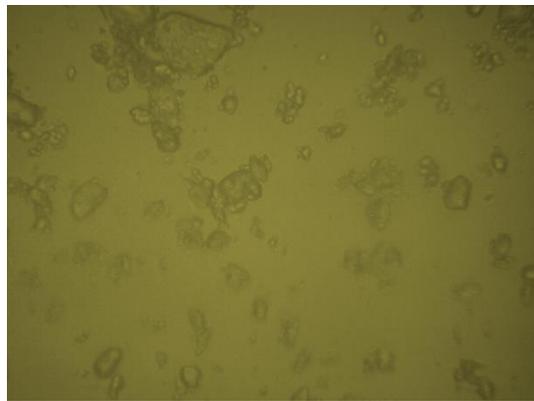


Figure III.6: Image illustrant l'observation microscopique (40x10) du Flagyl Biopharm Algérie après dilution à l'état fusionné, $T = 50^{\circ}\text{C}$.



Figure III.7: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Biopharm Algérie après dilution à l'état cristallin.

Après dilution, à l'état fusionné, on remarque une absence de floculation et d'agrégation avec le grossissement (10x10) (figure III.5), contrairement au grossissement (40x10) (figure III.6), où il y a une apparition de quelques agrégats qui se sont

probablement formés après fusion de l'ovule. La raison peut être due à la fusion, sans mécanique, c'est-à-dire une fusion au repos, donc le système est libre, en conséquence il y a eu une agrégation par manque d'affinité entre les particules du PA et la phase lipidique. A noter que lors du procédé de fabrication, lorsque la mixture est fondue, l'homogénéisateur reste toujours en marche pour éviter l'agrégation des particules du PA.

En conclusion, malgré la dilution et l'éloignement inter-particulaire et vu la forte non-affinité entre les deux phases, on observe quand même une agrégation.

Après refroidissement, on n'arrive plus à observer les agrégats à cause de la cristallisation du véhicule.

Pour ce qui est du produit Flagyl Sanofi France, on peut remarquer que le nombre des particules parait plus important, et donc le système est plus dense par rapport à Flagyl Biopharm Algérie avant dilution (figure III.8).



Figure III.8: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Sanofi France à l'état fusionné, $T = 50^{\circ}\text{C}$.



Figure III.9: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Sanofi France à l'état cristallin.



Figure III.10: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Sanofi France après dilution à l'état fusionné, $T = 50^{\circ}\text{C}$.



Figure III.11: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Sanofi France après dilution à l'état cristallin

III.2. Caractérisation des matières premières

III.2.1. Dosage du Métronidazole

Après avoir suivi la méthode de la pharmacopée et identifier le PA par spectrophotométrie UV, on détermine la longueur d'onde du métronidazole qui a été trouvée égale à 278nm.

- **Préparation des solutions étalons**

Nous disposons de 5 solutions filles de diverses concentrations indiquées dans le tableau ci-dessous :

Tableau III.1 : Représentation des valeurs des absorbances et des concentrations des solutions filles

Absorbance	0.147	0.291	0.422	0.561	0.722
Concentration (g/l)	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02

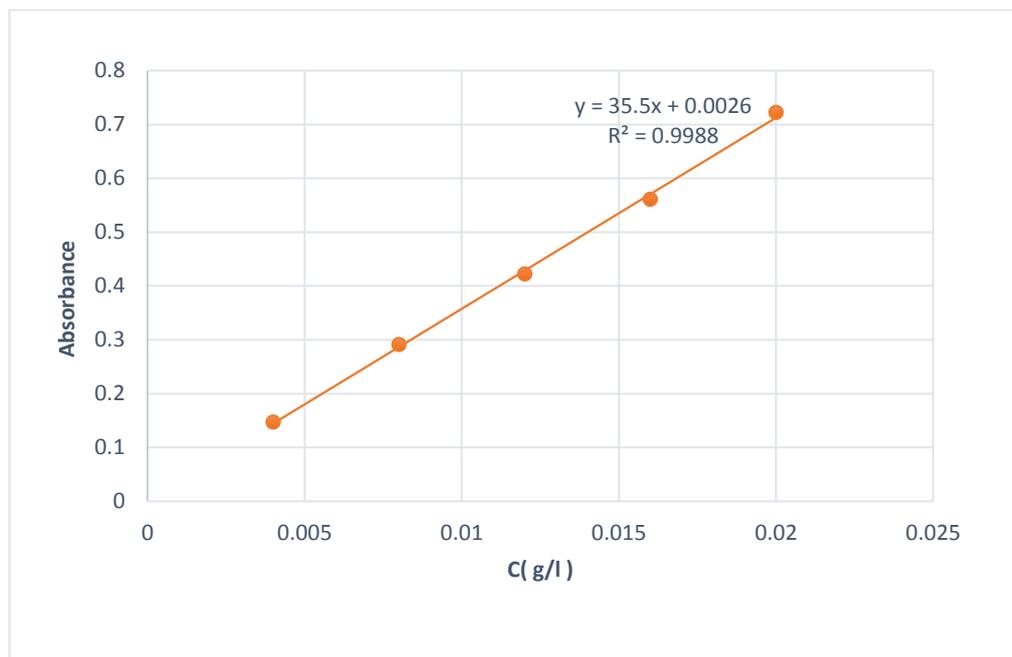


Figure III.12 : Représentation graphique de la courbe d'étalonnage du Métronidazole

III.2.2. Etudes microscopiques de Suppocire NA 15 et Ovucire WL 3264

L'observation de l'état morphologique est effectuée avec un microscope optique de type (OPTIKA DM-25) sous un agrandissement de (10x10) .

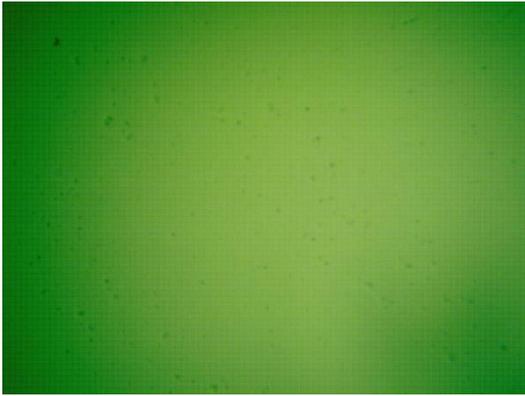


Figure III.13: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Suppocire NA 15 à l'état fusionné



Figure III.14: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Suppocire NA 15 à l'état cristallin



Figure III.15: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) d'Ovucire WL 3264 à l'état fusionné

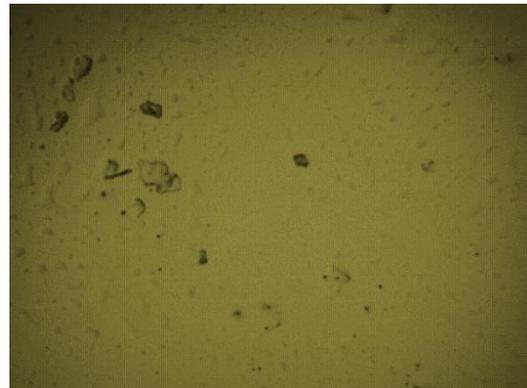


Figure III.16: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) d'Ovucire WL 3264 à l'état cristallin

L'état cristallin correspond au maximum d'organisation de la matière. Dans un cristal, les molécules sont fortement liées entre elles par des interactions de type diverses qui dépendent de leur structure chimique. Dans ce cas-là, il s'agit principalement des forces de Van der Waals.

On sait déjà que la Suppocire NA 15 et l'Ovucire WL 3264 sont constitués essentiellement des triacylglycerols responsable de la polymorphie. Ceux-ci diffèrent selon le point de fusion, la stabilité physique et l'arrangement des molécules dans le cristal. Quand un triacylglycerol liquide est refroidi rapidement, il se solidifie dans une forme (α) cristalline. Sous l'effet de la température, il y aura lieu du changement en premier à une forme (β') puis à une forme (β).

III.3. Caractérisation des ovules formulés

III.3.1. Caractéristiques organoleptiques



Figure III.17: Image représentant les ovules formulés



Figure III.18: Image représentant les ovules formulés coupés longitudinalement

On remarque que les ovules formulés ont un aspect homogène en surface (figure III.17) et en profondeur (figure III.18), après les avoir coupés longitudinalement.

Ainsi, les paramètres évalués comprenaient l'odeur et la couleur ; mais d'une façon générale, la matrice grasse confère son inodore et sa couleur blanche intense aux ovules résultants.

Comme décrit précédemment, les femmes préfèrent les produits vaginaux présentés sous forme de semi-solide d'une texture douce car dans le cas où l'ovule est dur, il peut entraîner une irritation de l'épithélium vaginal lors d'une application intravaginale.

La surface des ovules est glissante est lisse, ce qui peut faciliter l'application et donc l'irritation et les brûlures dans la région vulvovaginale seront moins. Par conséquent, les

ovules formulés sont des formes posologiques plus appropriées pour une administration vaginale.

III.3.2. Caractéristiques granulométriques

Avant d'entreprendre le comptage, au sens statistique, des particules dispersées observées sous microscope, par utilisation du logiciel ImageJ, on se propose de représenter les photos microscopiques illustrant l'état morphologique sous un agrandissement de (10x10). Les figures ci-dessous, (III, 19, 20, 21 et 22) sont associées à des matrices à base de suppicire et d'ovucire aux deux états fondu et cristallin. Les particules paraissent plus floues dans le cas de la fusion. Ceci démontre à quel point les particules sont plus libres dans leur mobilité d'où la difficulté de prise de photos nettes.

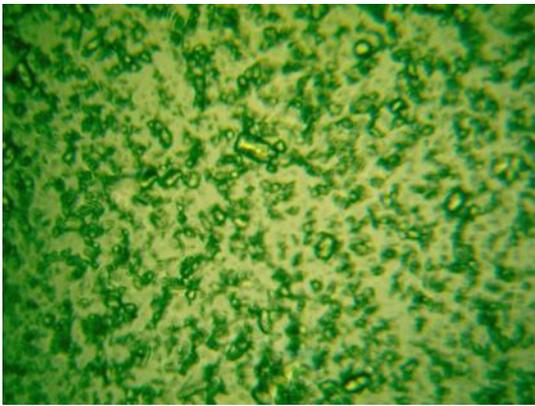


Figure III.19: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) de l'ovule contenant 100% de Suppicire NA 15 à l'état fusionné

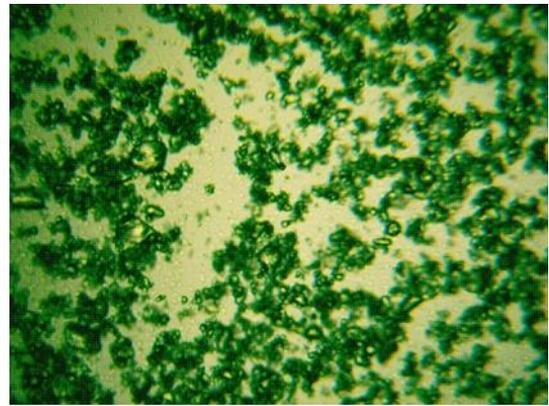


Figure III.20: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) de l'ovule contenant 100% d'Ovucire WL 3264 à l'état fusionné

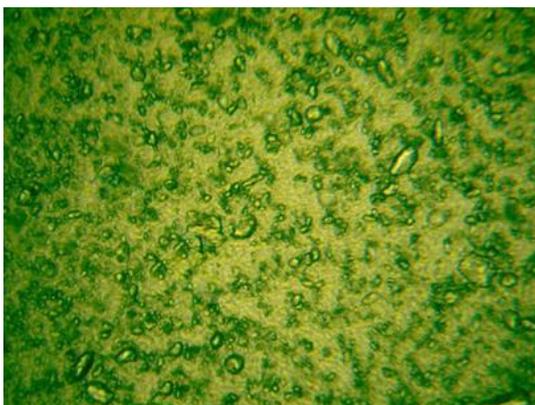


Figure III.21: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) de l'ovule contenant 100% de Suppicire NA 15 à l'état cristallin

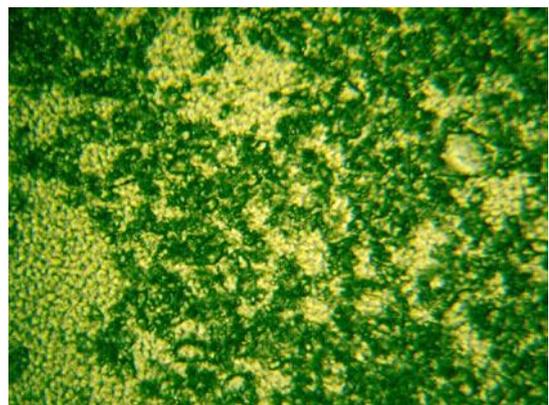


Figure III.22: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) de l'ovule contenant 100% d'Ovucire WL 3264 à l'état cristallin

En comparant les images, figures (III.19, 20), associées à des systèmes à l'état fondu, on remarque que les particules associées au produit contenant 100 % Ovucire WL 3264, paraissent plus floculées que celles associées à 100 % Suppocire NA 15. La raison peut être due à la nature tensioactive de l'ovucire qui, sous l'effet de la chaleur, est dans son état liquide, peut former des micelles. Ces micelles, quant-à-elles, peuvent flocler par déplétion des particules du PA. Aussi, faut-il prendre plus de précautions avec l'ovucire lors de la préparation des ovules pour éliminer le risque de flocculation par déplétion à l'état fondu, en laissant sous marche l'homogénéisateur, jusqu'à la température de cristallisation, associée au début de solidification.

Après refroidissement, le fond de la phase continue de la dispersion cristalline à base de l'ovucire, (figure III.22), paraît plus contrasté et structuré. Ceci probablement reconforte la formation des micelles qui se sont figées, après refroidissement.

Après avoir formulé les ovules avec les différentes proportions de Suppocire NA 15 et d'Ovucire WL 3264, nous avons choisi de discuter les images microscopiques illustrant la morphologie du produit formulé contenant 60 % de Suppocire NA 15 et 40% d'Ovucire WL 3264, figure III,23, à l'état fondu, et figure III,24 pour un état cristallin. La différence entre les deux images est très lisible. Le système fondu représente une dispersion floclée avec un fond quasi-blanc. Par contre, le système cristallin semble contenir moins de floclats, peut-être à cause de la cristallisation de la phase continue qui réduit le contraste entre la phase dispersée et la phase dispersante.

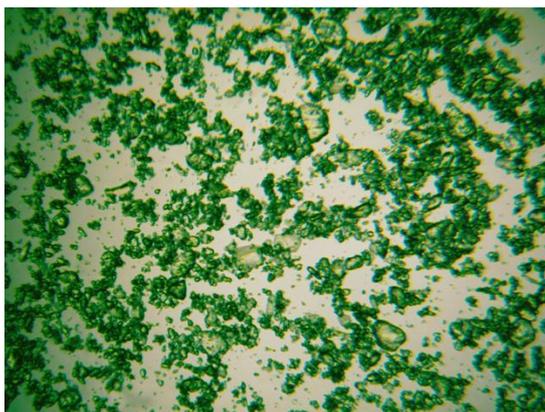


Figure III.23: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) de l'ovule contenant 60% de Suppocire NA 15 et 40% d'Ovucire WL3264 à l'état fusionné

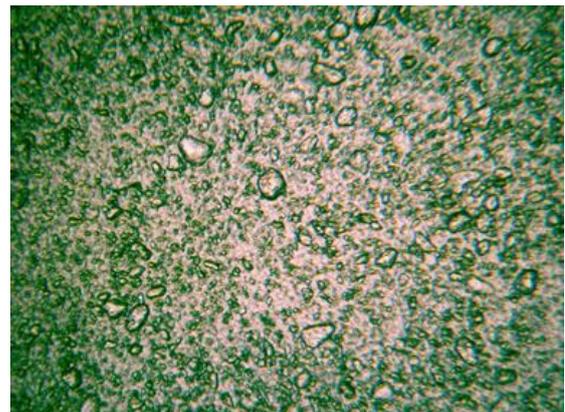


Figure III.24: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) de l'ovule contenant 60% de Suppocire NA 15 et 40% d'Ovucire WL 3264 à l'état cristallin

- **Traitement par Image J**

Afin de déterminer la distribution granulométrique du métronidazole et étudier la répartition des particules par rapport à leurs caractéristiques en fonction de leur taille, on accède à un traitement d'image à l'aide de logiciel Image J, les étapes du traitement sont les suivants :

- On introduit dans le logiciel Image J l'échelle associant la taille réelle micrométrique des particules à la taille de la photo microscopique en pixel en utilisant une photo d'une lame graduée micrométrique telle que sa longueur est de 1 mm avec *une unité* = $10\mu\text{m}$.
- On charge dans le logiciel la photo microscopique (figure III.25) présentant la dispersion du métronidazole dans sa matrice grasse pour laquelle on veut déterminer la distribution granulométrique.



Figure III.25: Image illustrant l'observation microscopique (10x10) du Flagyl Biopharm Algérie après dilution à l'état cristallin choisie pour le traitement d'image

- On transforme la qualité de l'image sous un format de 8-bit (figure III.26) pour ne faire apparaître que des niveaux de gris nuancés qui expriment la présence ou l'absence des particules.

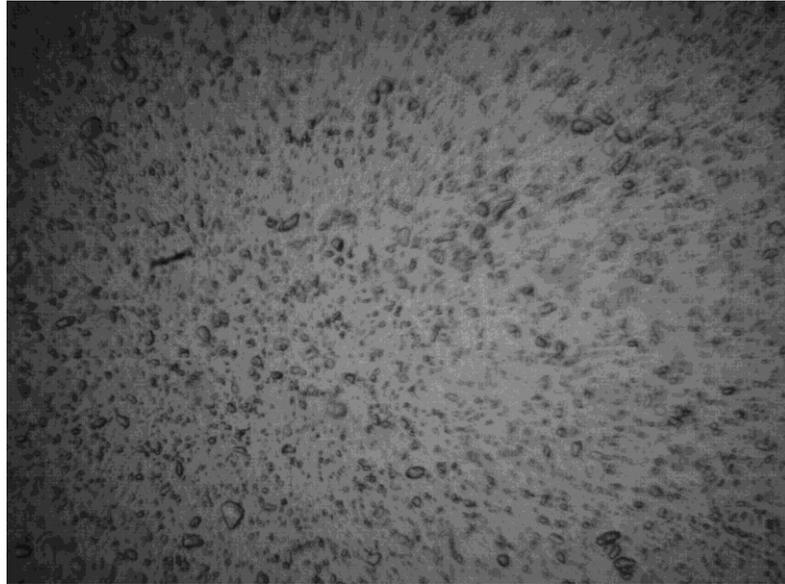


Figure III.26: Image représentant la transformation de l'image microscopique en format 8-bit

- On applique un filtre de bande passante qui impose une limite d'intervalle de fréquence des niveaux de gris (figure III.27) . Ceci permet de réduire les nuances et par la même, accentuer la distinction entre les objets dispersés et la phase continue.

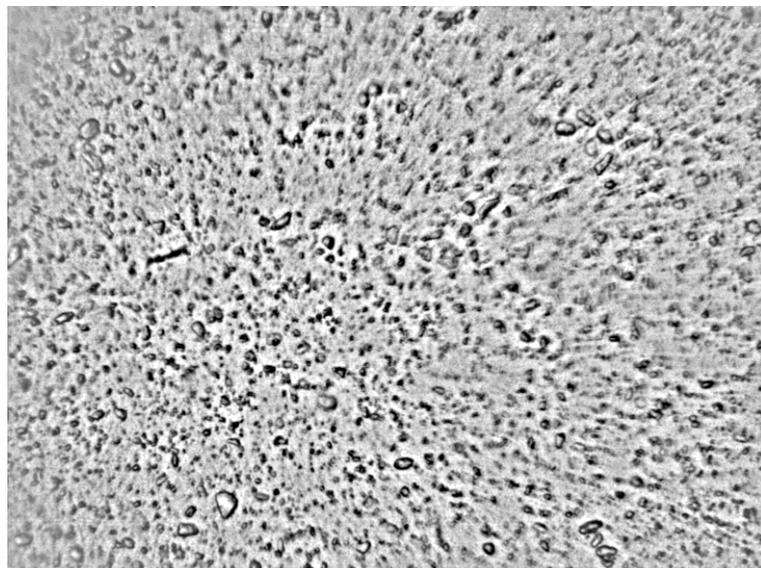


Figure III.27: Image représentant l'application de la bande passante

- La troisième étape du traitement consiste en un seuillage de l'image, ceci transforme l'image en noir et blanc , monochrome, sans présence du niveau de gris (figure III.28). Les particules détectées par le logiciel sont de la même couleur et la phase continue prend systématiquement l'autre couleur.

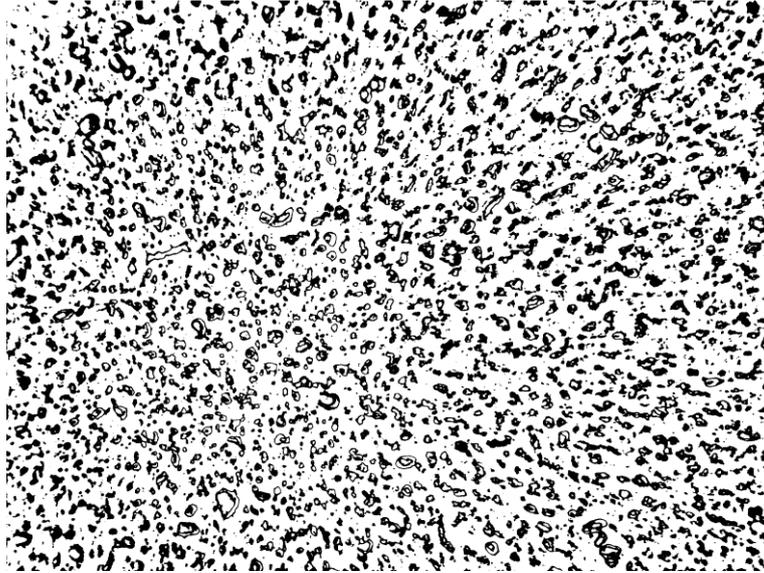


Figure III.28: Image représentant l'opération du seuillage.

- Dans la dernière phase, les particules détectées sont substituées géométriquement par des ellipses pour permettre de les dénombrer et de calculer leur surface, figure (III.29).

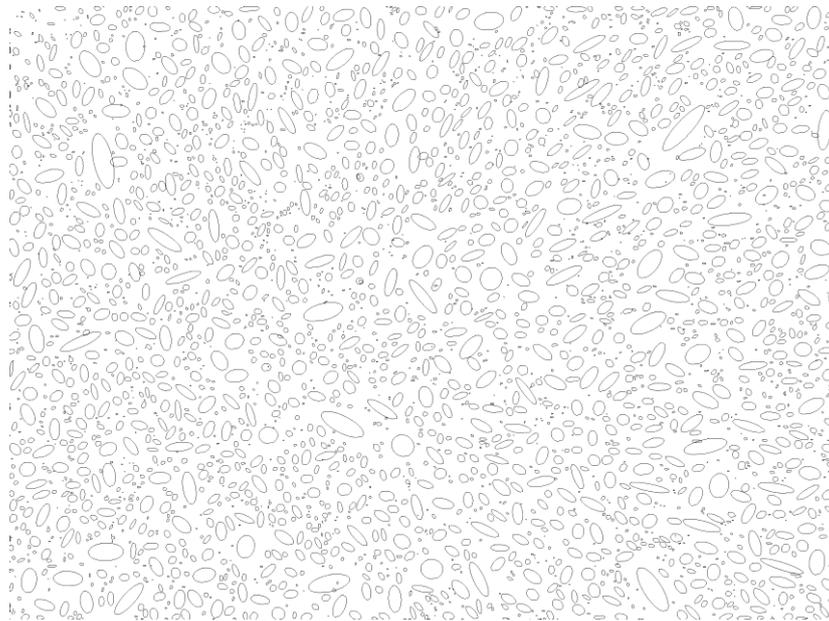


Figure III.29: Image représentant la transformation en ellipses

Les résultats numériques de la taille sont traités par le logiciel STATISTICA par son module « descriptive statistics » qui offre la possibilité de traiter les résultats par la loi normal de distribution :

- On détermine la distribution statistique de la fréquence (%) des particules en fonction de la taille, sous forme d'un histogramme (figure III.30). Le mode de cette distribution granulométrique est de $1,16\mu\text{m}$, c'est une valeur nettement petite, dans ce cas-là lors la cristallisation, la particule n'a pas le temps de sédimenter suite à sa petite taille, en conséquence, on évite tout problème d'agrégation.

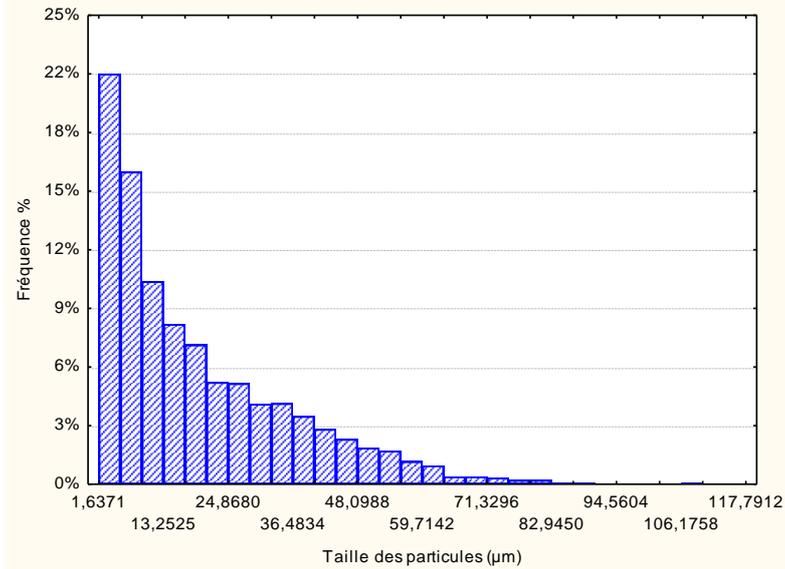


Figure III.30: Histogramme représentant la distribution granulométrique

- On illustre aussi la boîte à moustache (figure III.31) qui détermine le diamètre moyen, son écart type (Standard Deviation, SD) et la déviation exceptionnelle (des valeurs extrêmes rares qui représentent les plus grosses et les plus fines des particules). Le point central révèle la valeur du diamètre moyenne qui est égale à $19,55\mu\text{m}$. Les limites supérieures et inférieures du rectangle sont associées aux valeurs de l'écart type ($\pm\text{SD}$), ($\sim \pm 17,03\mu\text{m}$). Les deux barres situées au-dessus et au-dessous du rectangle représentent les deux intervalles de la taille touchant les populations minoritaires qui sont les plus grosses et les plus fines. Ces deux populations varient dans les deux domaines $[-14\mu\text{m}-3\mu\text{m}]$ et $[37\mu\text{m}-53\mu\text{m}]$.

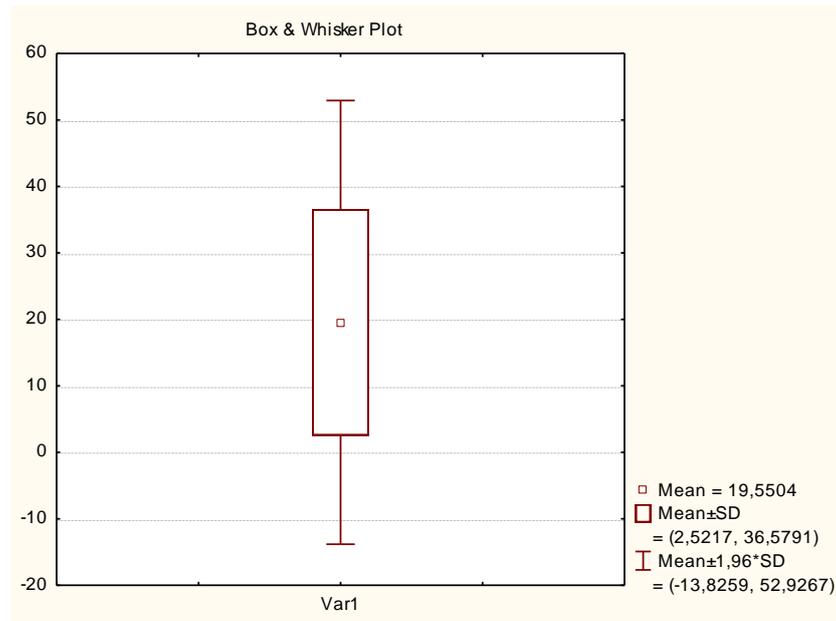


Figure III.31: illustration graphique par la boîte à Moustaches (Box Whisker Plot), des trois caractéristiques granulométriques du métronidazole :

D_{moy} , $D_{moy} \pm SD$, et $D_{moy} \pm 1,96.SD$.

- On détermine la distribution statistique de la fréquence (%) des particules en fonction de la taille, sous forme d'un histogramme en cumulé (figure III.32). On remarque que 10% de la population ont un diamètre inférieur à $1,64\mu\text{m}$, 50% de la population ont un diamètre inférieur à $19,06\mu\text{m}$ et 90% de la population ont un diamètre inférieur à $42,29\mu\text{m}$.

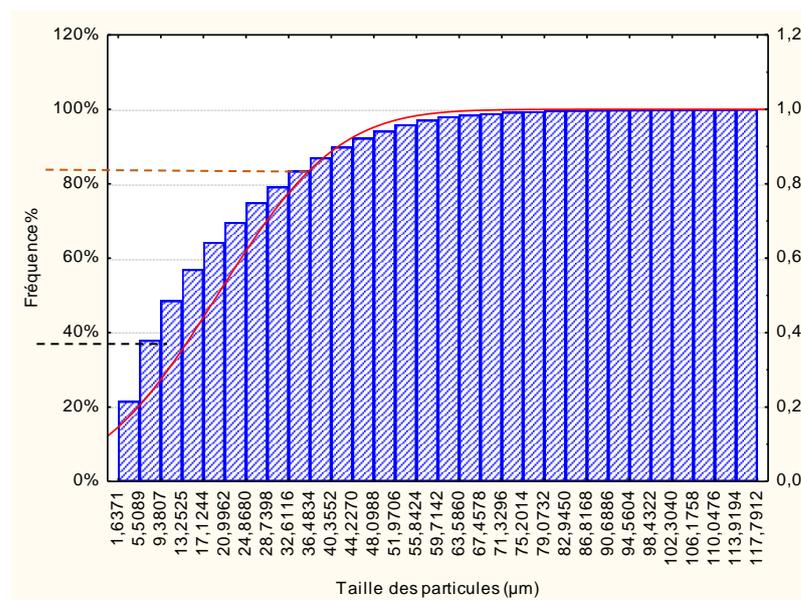


Figure III.32: Histogramme en cumulé représentant la distribution granulométrique

Au-vue de ces résultats, il apparait clairement que la distribution granulométrique du métronidazole est satisfaisante, ce qui justifie son utilisation en suspension à l'état fondu des ovules.

III.3.3. Analyse rhéologique en régime oscillatoire

L'évolution des deux modules de conservation G' et de perte G'' en fonction du temps avec une rampe de température lente, est illustrée dans les figures (III.33, 34) pour les matières premières lipidiques Ovucire WL 3264 et Suppocire NA 15 respectivement. En vue des courbes de cristallisation et de fusion de ces deux matières premières, on confirme que ce sont elles qui confient au produit fini, l'ovule, ses caractéristiques solide, liquide et physicochimique en termes de cristallisation et de fusion. D'ailleurs, on remarque clairement que lors de la fusion, les deux modules G' et G'' de Suppocire NA 15 ne chutent pas continuellement mais plutôt enregistrent un palier dans la gamme de température : 31 – 34°C . Aussi, est-il intéressant de connaître pourquoi on a ce comportement dans cette gamme de température ?

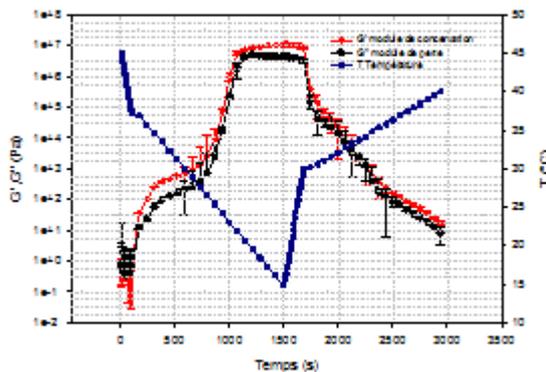


Figure III.33: Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Ovucire WL 3264)

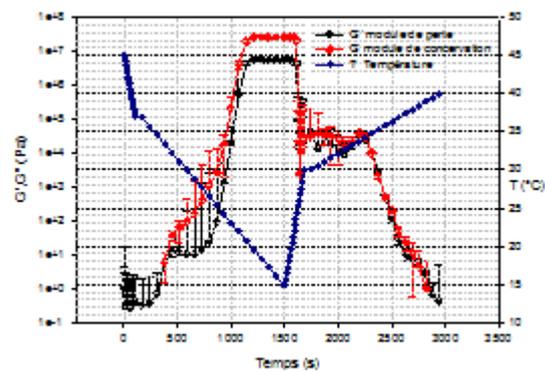


Figure III.34: Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Suppocire NA 15)

Sur les figures (III, 35 et 36) sont représentées les courbes cinétiques de cristallisation et de fusion des ovules préparées à base de 100% Suppocire NA 15 et de 100% de d'Ovucire WL 3264.

Le comportement rhéologique en fonction du temps et avec la variation de la température, montre que les deux modules G' et G'' semblent avoir les mêmes valeurs sur toutes les phases de cristallisation et de fusion surtout pour le produit contenant 100 % d'Ovucire WL 3264. On considère alors que cette matière a préservé son comportement ni liquide ni solide. C'est le comportement d'un corps semi-solide viscoélastique et donc, peut être potentiellement intéressant pour une administration vaginale, étant donné sa déformabilité intrinsèque qui offre un certain confort et une absence d'irritation de l'épithélium vaginal.

A partir de 30°C, nous assistons à une chute significative des deux modules. Cette diminution spectaculaire est associée à la fusion partielle de la matière grasse qui convient parfaitement pour le site vaginal arrivant à 37°C auquel cas la température varie de 36°C à 37°C (dans le cas d'un sujet sain). Nous remarquons également que le temps nécessaire à la fusion totale du produit prend à peu près 10 min, chose qui convient aux femmes pour éviter toute perte immédiate.

Au-delà de 37°C, les deux modules sont à leur valeur minimale et resteront insensibles à des augmentations jusqu'à 40°C. Dans cet intervalle, il est certain que la matière s'est complètement transformée en liquide purement visqueux.

Nous constatons que les fluctuations s'apparient dans les produits contenant 100 % Suppocire NA 15 (figure III.35), à l'image du comportement du Suppocire NA 15, ce qui indique que ce dernier est le responsable principal de l'apparition de cette bosse fluctuante.

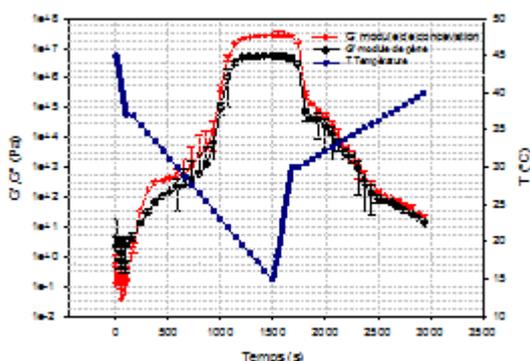


Figure III.35: Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Ovule formulé contenant 100% de Suppocire NA 15)

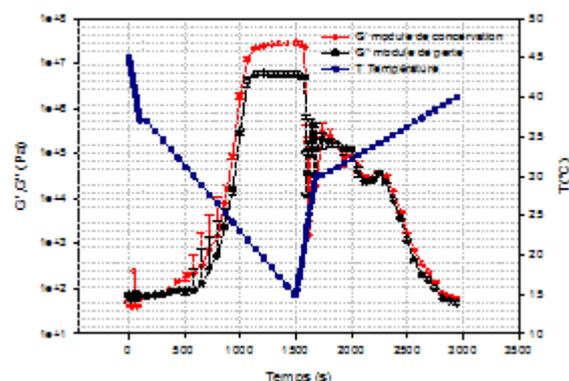


Figure III.36: Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Ovule formulé contenant 100% d'Ovucire WL 3264)

Sur la figure III,37 illustre la variations des deux paramètres caractéristiques traduisant le comportement élastique G' et dissipatif G'' des ovules pour l'essai constitué de 80% de Suppocire NA 15 et de 20% d'Ovucire WL 3264. Les caractéristiques de cristallisation sont pratiquement similaires par contre on observe la disparition totale de la bosse. A partir de là, nous supposons que l'Ovucire WL 3264 possède des propriétés physicochimiques capables d'améliorer le comportement rhéologique du produit.

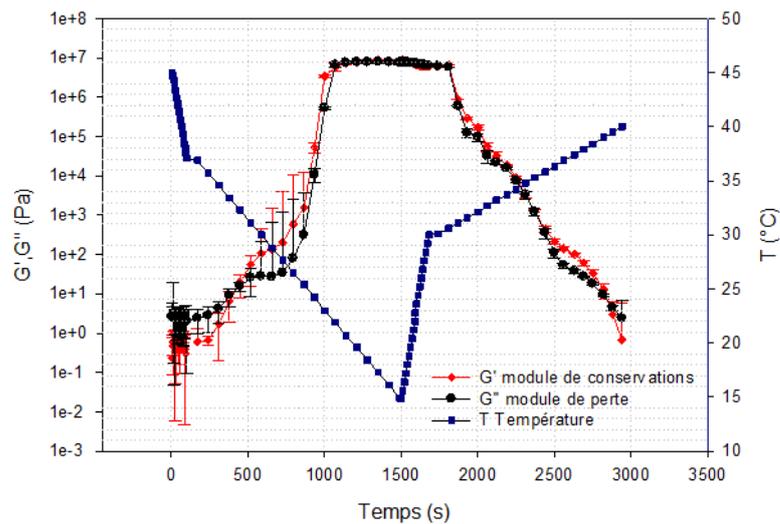


Figure III.37: Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f = 1 \text{ Hz}$, $\gamma = 0,5\%$, (Ovule formulé contenant 80% de Suppocire NA 15 et 20% d'Ovucire WL 3264)

III.3.4. Analyse rhéologique en régime continu

La figure II.38, montre comment varie la viscosité apparente des ovules en fonction de la vitesse de cisaillement. On peut remarquer la présence de trois zones :

- Aux très faibles cisaillements, la viscosité enregistre un plateau qui suggère un comportement liquide newtonien. La viscosité de ce palier est dite viscosité au taux de cisaillement nul (zero shear viscosity), η_0 , elle est enregistrée dans la décade des milliers (entre 1000 et 10 000) Pa.s. Elle correspond à la viscosité d'ovule dans le site vaginal, mais avec éventuellement un petit mouvement de cisaillement, qui est généré in situ.
- Au-delà d'une valeur de cisaillement critique ($\dot{\gamma}$) comprise entre 10^{-4} et 10^{-2} 1/s, on remarque que la viscosité décroît progressivement, c'est le début de déstructuration, ce qui correspond à un comportement d'un fluide rhéofluidifiant, et donc si le cisaillement généré in situ est de cette ordre de grandeur, ça veut dire que la

viscosité commence à chuter, pour cette raison, on doit calculer le cisaillement généré par la contrainte.

- A très fort cisaillement, la viscosité cesse de chuter et enregistre de nouveau un palier constant qui peut être caractérisé par une viscosité newtonienne symbolisée par (η_{∞}).

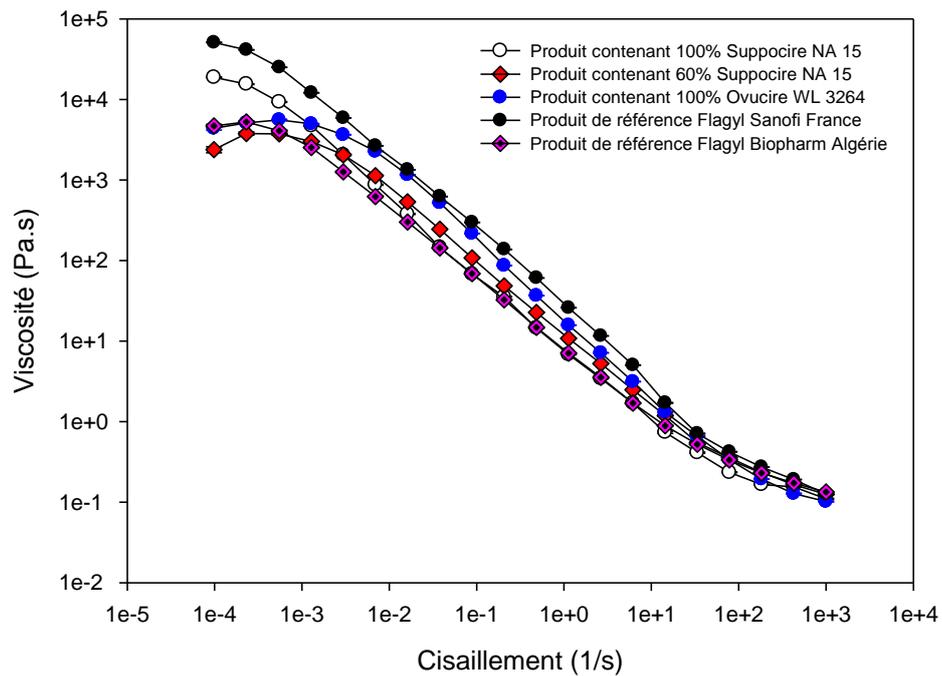


Figure III.38: Courbes d'écoulement de différents produits en présence du VFS, $T = 37^{\circ}C$

Tableau III.2 : Représentation des valeurs de η_0 et η_∞

	η_0 (Pa. s)	η_∞ (Pa. s)
Flagyl Sanofi France	51 000	0,127
Flgyle Biopharm Algérie	4 700	0,134
Produit contenant 100% Suppocire NA 15	18 800	0,11
Produit contenant 100% Ovucire WL 3264	4 380	0,102
Produit contenant 60% Suppocire NA 15 et 40% Ovucire WL 3264	2 380	0,125

Les résultats obtenus, tableau III.2, sont satisfaisants marquant la viscosité à l'état zéro en présence du VFS, on remarque que la majorité des valeurs sont comparables. d'où on conclue que les produits possèdent une bonne propriété d'écoulement.

- **Evaluation de l'écoulement des ovules in situ**

Il s'est avéré que la cause principale de la fuite des ovules après administration, c'est bien le cisaillement gravitationnel, c'est-à-dire que l'ovule est soumis à la gravité une fois il est dans le vagin pour cela, on accède aux calculs de ce cisaillement.

Lors de l'administration, l'ovule, par effet de tension superficielle, va s'étaler sur la muqueuse marquant une épaisseur « ε ». En outre, on sait déjà que la surface pariétale du vagin est comprise entre 65 et 107 cm² donc on peut calculer l'épaisseur de l'étalement comme suit : $\varepsilon = V/S$, V étant le volume de l'ovule et S est la surface pariétale.

Supposant que la densité de l'ovule est approximativement égale à 1, on peut alors quantifier le volume par la relation : $Densité = \frac{masse}{volume} = m/V$;

Pour une masse d'ovule de 2,7g, on trouve alors un volume $V = 2,7\text{cm}^3$.

Par la même, le calcul de l'épaisseur mène au résultat pour $S = [65\text{cm}^2 - 107\text{cm}^2]$:

$$\varepsilon = [0,25\text{mm} - 0,41\text{mm}]$$

Dans le cas où la femme est en position debout, après administration du médicament, le canal vaginal sera vertical, donc toute la surface étalée d'épaisseur ε est soumise à l'action de la gravité. La contrainte de cisaillement de gravitation, qu'on symbolise τ_g est égale au rapport de la force de gravitation et de la surface étalée :

$$\tau_g = F_g/S \rightarrow \tau_g = \frac{mg}{S} = \text{Densité} \frac{Vg}{S} = \text{Densité} \cdot \varepsilon \cdot g$$

Par application numérique, on trouve une variation de la valeur de contrainte de cisaillement de gravitation : $\tau_g = [2,25mPa - 4,1 mPa]$

On remarque que la valeur de la contrainte de cisaillement dans le vagin est si petite qu'on se retrouve dans la première région newtonienne de la courbe d'écoulement de la viscosité apparente. Dans cette région newtonienne, La viscosité apparente est aux alentours de 10^3 et 10^4 Pa.s. Aussi, la valeur de la vitesse de cisaillement de gravitation est alors, par application de la loi de newton : $\tau_g = \eta_{app} \cdot \dot{\gamma}_g$, soit : $\dot{\gamma}_g = \tau_g / \eta_{app}$

Par application numérique, on trouve : $\dot{\gamma}_g = [2 \cdot 10^{-7} - 4 \cdot 10^{-7}] s^{-1}$.

On démontre alors que le cisaillement gravitationnel n'est pas du tout responsable de l'écoulement du produit, étant donné que le cisaillement généré est quasi-nul. Aussi, l'ovule dans sa forme liquide peut s'écouler, en position debout par d'autres mécanismes, notamment, suite à des contractions ou autres.

III.3.5. Cinétique de la libération du PA

A partir des résultats obtenus de la dissolution, le profil de cinétique de libération du métronidazole semble être de type à libération immédiate, à l'image du profil de dissolution, il apparait clairement que la quantité du médicament libérée (Q (t)) à partir des ovules, évolue sur une échelle de temps ayant la minute comme unité et que le processus commence à s'achever qu'au-delà de 15 min.

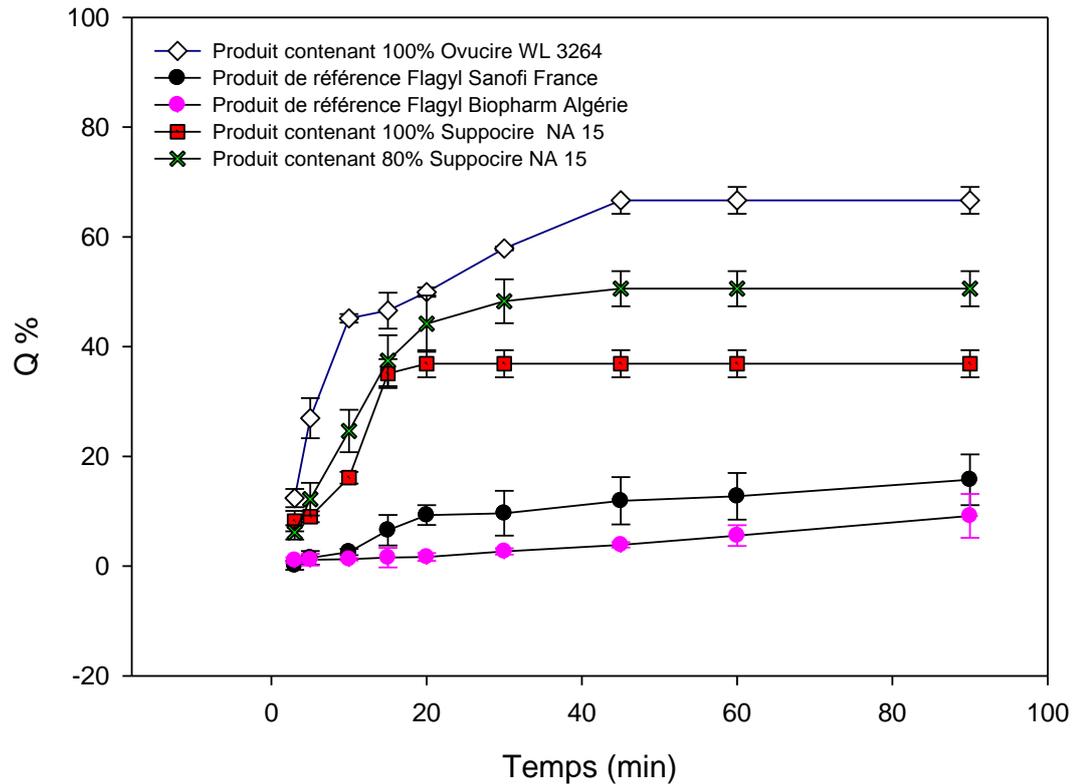


Figure III.39: Profil de dissolution des différents produits

Les résultats de la libération du médicament à partir de la base grasse Suppocire NA 15 (figure III. 39), ne sont pas satisfaisants, le processus de libération s'achève à 20min avec un taux de libération de 37%.

Les résultats de la libération des deux produits de référence (figure III. 39), sont insignifiants , car le processus de libération de Flagyl Biopharm Algérie ne dépasse pas un taux de 10% , en revanche Flagyl Sanofi France, le taux de libération maximale est de 16%, sachant que les deux courbes sont toujours en évolution, même en arrivant à 90 min.

Le profil de dissolution du produit contenant 100% Ovucire WL 3264 (figure III.39), représente le taux maximal de libération par rapport à tous les autres essais. Le processus s'achève à 42min. En outre, les résultats de dissolution de l'ovule contenant 80% Suppocire NA 15 et 20 % Ovucire WL 3264, figure III.39, montre un processus de dissolution avec un Q_{max} de 50% dans un temps de 30min.

On ne remarque qu'aucun des produits ne représentent un taux de libération similaire à celui proposé par Ondracek et al [32] qui est arrivé à 100% de libération dans un temps de

60min. On voit que les excipients peuvent affecter sur le taux de libération, dans de nombreuses études, l'Ovucire WL 3264 est trouvé approprié pour la libération du médicament à partir des formulations des ovules.

Ces résultats peuvent être attribués à la dépendance de la libération du médicament de la composition chimique des bases grasses. Les propriétés tensioactives sont nécessaires pour améliorer la mouillabilité et la dispersion des principes actifs insolubles. L'Ovucire WL 3264 a donné le plus grand taux de libération, cela peut être attribué à la présence des agents auto-émulsifiants pour faciliter la dispersion du médicament dans le milieu. La présence d'alcool gras ethoxylé dans l'Ovucire WL 3264 peut avoir un impact positif sur la libération du médicament ayant un effet tensio-actif.

D'autre part, la distribution granulométrique joue un rôle primordial dans la libération du principe actif, dans le cas où l'agrégation des particules est cohésive, il se forme des agrégats causant un problème de dissolution, et donc un profil de dissolution bas. Cela peut être due au manque d'affinité entre les particules du métronidazole et la matrice lipidique.

La libération du médicament en ovule peut être influencé aussi par des facteurs tels que les interactions médicament-véhicule, solubilité, taille des particules du médicament et concentration du PA dans le véhicule.

III.3.6. Uniformité du contenu du médicament

Suite aux résultats obtenus à partir du test de dissolution, on veut déterminer la source du problème survenu lors de la libération du PA. Pour cela, on effectue un test sur l'uniformité du médicament c'est-à-dire la teneur en PA dans une unité d'ovule. Afin de déterminer la concentration du PA présente dans une seule unité de l'ovule contenant 100% d'Ovucire WL 3264, on dose l'échantillon par spectrophotométrie à 278 nm après l'avoir dilué et filtré. La concentration obtenue est de 0,240 g/l au lieu de 0,5g/l.

III.3.7. Étude de solubilité

La solubilité joue un rôle important dans la dissolution d'un médicament à partir d'une forme posologique semi-solide. Suite aux résultats obtenus, on a douté du pouvoir de solubilité de métronidazole dans la solution tampon de lactate pH 4,5.

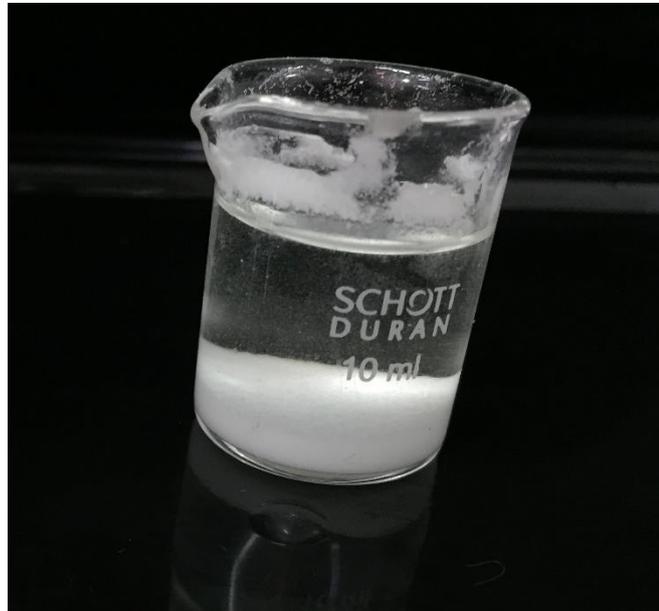


Figure III.40: Image illustrant le résultat du test de solubilité du Métronidazole.

Après l'avoir réalisé, on remarque que le métronidazole ne s'est pas dissout complètement au bout de 24h sous agitation ($400\text{tour}/\text{min}$) et avec une température de 37°C , figure III.40 . Afin de déterminer la concentration du PA dissoute dans la solution tampon, on prélève 5 ml de la solution, dilue et filtre à $0.22\mu\text{m}$. L'échantillon est analysé par spectrophotométrie à 278 nm. La concentration obtenue est de $0,0118\text{g}/\text{l}$ au lieu de $0,5\text{g}/\text{l}$. Cela indique que le métronidazole n'est pas totalement soluble dans la solution tampon de lactate pH 4, chose qui n'a pas été mentionné par Ondracek et al. [32]

Conclusion générale

En vue de concevoir de nouvelles formules pour l'administration vaginale guidées par des considérations de sécurité et d'efficacité, nous nous sommes intéressés à la formulation des ovules à base de métronidazole à effet antibiotiques.

La démarche était de caractériser les deux produits de références, d'abord nous avons déterminé les températures de fusion et de cristallisation en se basant sur l'analyse rhéologique en régime oscillatoire, ensuite nous avons étudié la distribution granulométrique de la suspension à l'état fusionné et à l'état cristallin là où nous avons déduit que la morphologie des matières rentrantes dans la formulation des produits, change en fonction de la température.

Cette étude de l'orientation, nous a servi à optimiser pour mener à bien la formule de base. La caractérisation rhéologique et morphologique des produits de référence a permis de tirer certaines réponses cibles dans l'étape de formulation qui a permis de définir les réponses constituant le output pour l'évaluation de la qualité des ovules formulés.

Afin de développer la formule adéquate, nous avons introduit deux excipients avec différentes proportions pour but d'étudier les caractéristiques de chacun et en déduire l'optimal. Nous avons utilisé deux bases lipidiques ; l'Ovucire WL 3264 et la Suppocire NA 15 pour donner une bonne mise en œuvre à l'ovule et de stabiliser les particules du Métronidazole en suspension contre la sédimentation.

Pour la caractérisation des propriétés d'ovules formulés, on a réalisé : l'analyse rhéologique en régime oscillatoire et continu, l'étude microscopique et la distribution granulométrique du Métronidazole dans la base lipidique et enfin la cinétique de libération du principe actif.

Les points que nous pouvons retenir, au terme de cette étude se résument comme suit :

- Les températures de fusion et de cristallisation déterminées sont très satisfaisantes de manière que les différentes formulations sont facilement fusionnées dans le canal vaginal.
- Le résultat de l'étude d'écoulement admet qu'il n'y a pas de risque de fuite lors de l'administration d'ovule.

- La distribution granulométrique du Métronidazole dans la phase lipidique obtenue est approuvable, ce qui assure la stabilité de la suspension et l'absence du risque de sédimentation.
- Le produit formulé contenant 100% d'Ovucire WL 3264, a prouvé sa supériorité de libération du Méronidazole par rapport à tous les autres produits formulés suite à sa propriété émulsifiante.

Cependant, comme tout travail réalisé, nous nous sommes heurtés à des difficultés d'ordre expérimental, notamment lors de l'entreprise des analyses de dissolution qui n'étaient pas totalement concluantes à cause des problèmes de libération du principe actif à partir des différentes formules ainsi que pour les deux produits de références.

En dépit des résultats obtenus, nous constatons que la combinaison des deux bases lipidiques est très faisable pour l'obtention d'ovules stables avec une libération du principe actif modérée. Comme on déduit que le produit contenant 100% d'Ovucire WL 3264 a marqué la formule optimale suite à ses propriétés diverses.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- [1] : BOUICH, M. (2013). Rôle du laboratoire dans le diagnostic de vaginite et de vaginose.
- [2] : Schlicht, J. R. (1994). "Treatment of bacterialvaginosis." *Annals of Pharmacotherapy* 28(4): 483-487
- [3] : Beers, M. H. and A. J. Fletcher (2008). *L'encyclopédie médicale: le manuel Merck*, Larousse.
- [4] : Cook, M. T. and M. B. Brown (2018). "Polymeric gels for intravaginal drugdelivery." *Journal of controlled release* 270: 145-157.
- [5] : Patton, D. L., S. S. Thwin, et al. (2000). "Epithelialcell layer thickness and immune cell populations in the normal humanvagina at different stages of the menstrual cycle." *American journal of obstetrics and gynecology* 183(4): 967-973.
- [6] : Ildgruben, A. K., I. M. Sjöberg, et al. (2003). "Influence of hormonal contraceptives on the immune cells and thickness of human vaginal epithelium." *Obstetrics&Gynecology* 102(3): 571-582.
- [7] : D.J. Anderson, J. Marathe, J. Pudney, The structure of the human vaginal stratumCorneum and itsrole in immune defense, *Am. J. Reprod. Immunol.* 71 (2014)618–623.
- [8] : Squier, C. A., M. J. Mantz, et al. (2008). "Porcine vagina ex vivo as a model for studyingpermeability and pathogenesis in mucosa." *Journal of pharmaceutical sciences* 97(1): 9-21.
- [9] : P.B. Pendergrass, M.W. Belovicz, C.A. Reeves, Surface area of the humanvagina asmeasuredfromvinylpolysiloxanecasts, *Gynecol. Obstet. Investig.* 55 (2003)110–113.
- [10] : Sassi, A. B., K. D. McCullough, et al. (2004). "Permeability of tritiated water throughhuman cervical andvaginal tissue." *Journal of pharmaceutical sciences* 93(8): 2009-2016.
- [11] : Hir, A. L., J. C. Chaumeil, et al. (2011). *Pharmacie galénique: Bonnes pratiques de fabrication des médicaments*, Elsevier Health Sciences France.
- [12] : P.B. Pendergrass, M.W. Belovicz, C.A. Reeves, Surface area of the humanvagina asmeasuredfromvinylpolysiloxanecasts, *Gynecol. Obstet. Investig.* 55 (2003)110–113.
- [13] : M.J. Godley, Quantitation of vaginal discharge in healthyvolunteers, *Br. J. Obstet.Gynaecol.* 92 (1985) 739–742.

- [14] : Machado, R. M., A. Palmeira-de-Oliveira, et al. (2017). "Vaginal semisolid products: Technological performance considering physiologic parameters." *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 109: 556-568.
- [15] : Boskey, E. R., R. A. Cone, et al. (2001). "Origins of vaginal acidity: high d/l lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source." *Human Reproduction* 16(9): 1809-1813.
- [16] : J. Ravel, P. Gajer, Z. Abdo, G.M. Schneider, S.S.K. Koenig, S.L. McCulle, S. Karlebach, R. Gorle, J. Russell, C.O. Tacket, R.M. Brotman, C.C. Davis, K. Ault, L. Peralta, L.J. Forney, Vaginal microbiome of reproductive-aged women, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108 (Suppl) (2011) 4680–4687.
- [17] : Neal, M. and P. Depovere (2017). Pharmacologie médicale, De Boeck supérieur.
- [18] : Bohbot, J.-M. and J.-P. Lepargneur (2012). "La vaginose en 2011: encore beaucoup d'interrogations." Gynécologie Obstétrique & Fertilité 40(1): 31-36.
- [19] : Zaffran, M. (2017). Le patient et le médecin, Presses de l'Université de Montréal.
- [20] : De Pharmacie Clinique, A. N. D. E., S. Limat, et al. (2018). *Pharmacie clinique et thérapeutique*, Elsevier Health Sciences.
- [21] : Nanjing, U. d. m. c. d. and Y. Chen (2008). *La pharmacopée chinoise: les herbes médicinales usuelles*, Y. Feng
- [22] : (2019). Vidal: Le dictionnaire, Vidal.
- [23] : JAMINET, F. (1973). "Aspects biopharmaceutiques de la formulation des suppositoires dans „Le suppositoire" de Guillot BR et Lombard AP." Maloine SA Paris.
- [24] : Charlie Scrimgeour., *Chemistry of Fatty Acids*. Scottish Crop Research Institute Dundee. Scotland Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Vol, Six. Sixth Edition. John Wiley & Sons, Inc (2005), pp: 7.
- [25] : Pérez- Pariente. J, Díaz. I, Mohino. F, Sastre. E, Selective Synthesis of Fatty Monoglycerides by Using Functionalised Mesoporous Catalysts. *Applied Catalysis A: General*, Volume 254, (2003), Issue 2 173-188.
- [26] : Chairman, Dennis Strayer, *FOOD FATS AND OILS*. New York (2006).
- [27] : K. Larsson, *Lipids — Molecular Organisation, Physical Functions and Technical Applications*, The Oily Press, Dundee (1994).
- [28] : Setnikar. I, Fantelli S. Softening and liquefaction temperature of suppositories. *J Pharm Sci* 1963; 52: 38-43.

- [29] : Brower JF, Juenge EC, Page DP, Dow ML. Decomposition of aminophylline in suppository formulations. *J PharmSci*1980; 69: 942–945.
- [30] : GATTEFOSSE [site] : <https://www.gattefosse.com/>
- [31] : Baloğlu, E., M. Özyazıcı, et al. (2003). "A randomized controlled trial of a new ovule formulation of ornidazole for the treatment of bacterial vaginosis." *Journal of clinical pharmacy and therapeutics* **28**(2): 131-136.
- [32] : Özyazıcı, M., E. Gökçe, et al. (2006). "Dissolution and vaginal absorption characteristics of metronidazole and ornidazole." *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences* **61**(10): 855-861.
- [33] : *Pharmaceutical Microbiology Principles and Applications*, Nirali Prakashan.
- [34] : Prista et al: Prista, L. V. N., A. C. Alves, et al. (2014). *Tecnologia farmacêutica*, Fundação Calouste Gulbenkian. Serviço de Educação e Bolsas.
- [35] : Commission, B. P. and G. B. M. Commission (1998). *British Pharmacopoeia 1998*: British pharmacopoeia, Stationery Office.
- [36] : Ghfir, I., R. Ouboukdir, et al. (2008).. "*Médecine-Pharmaco*" **32**(11): 555-558.

APPENDICE A



Image illustrant l'observation microscopique (10x10)

Du produit contenant 20% de Suppocire NA 15 et de 80% d'Ovucire à l'état fusionné

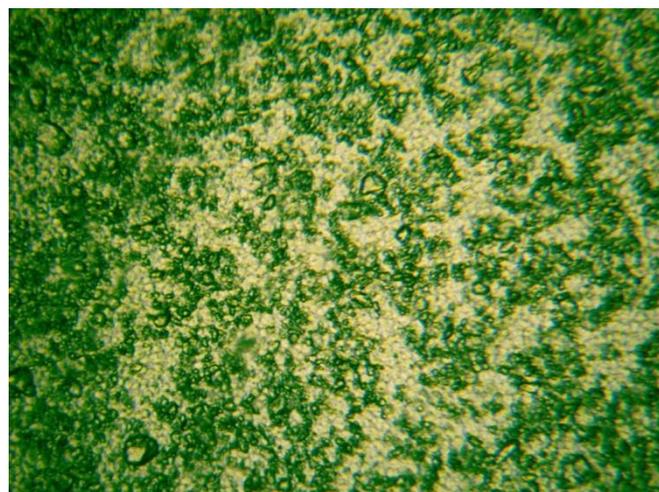


Image illustrant l'observation microscopique (10x10)

Du produit contenant 20% de Suppocire NA 15 et de 80% d'Ovucire à l'état cristallin

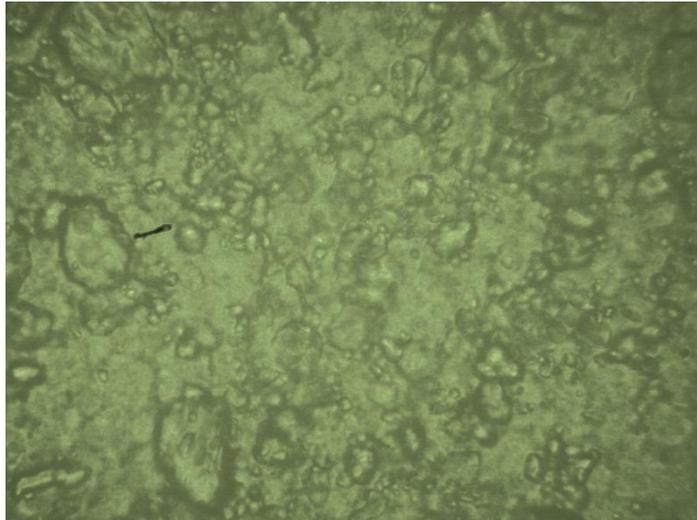


Image illustrant l'observation microscopique (40x10)
du produit contenant 20% de Suppocire NA 15 et de 80% d'Ovucire à l'état fusionné

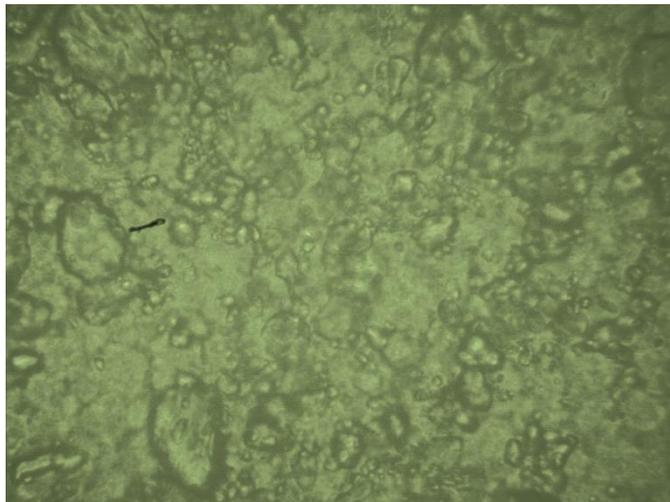


Image illustrant l'observation microscopique (40x10)
du produit contenant 20% de Suppocire NA 15 et de 80% d'Ovucire à l'état cristallin

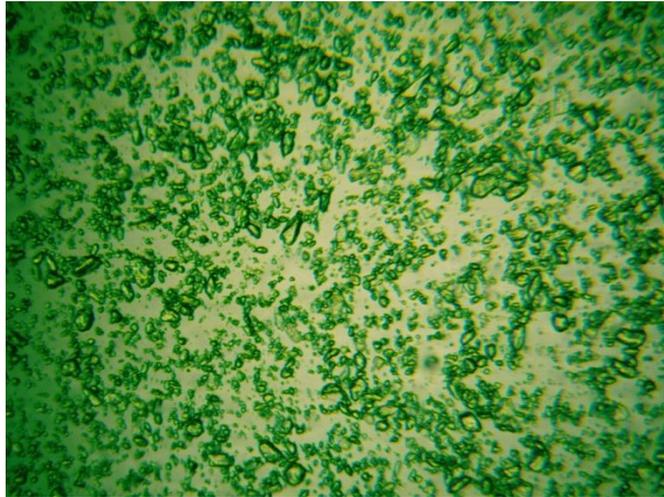


Image illustrant l'observation microscopique (10x10)
du produit contenant 80% de Suppocire NA 15 et de 20% d'Ovucire à l'état fusionné

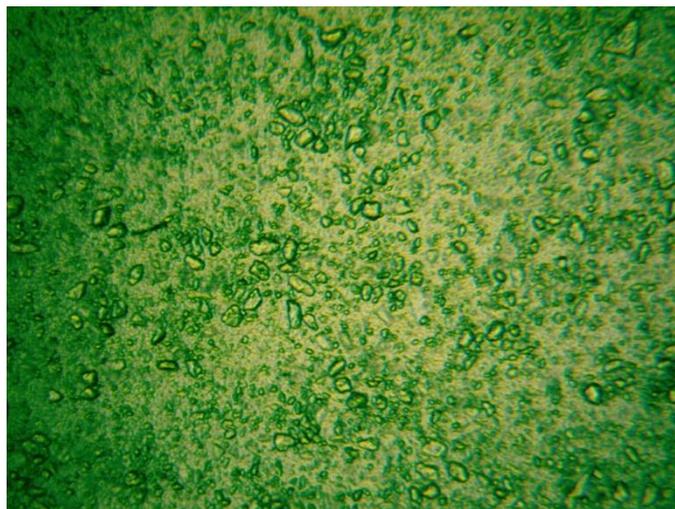


Image illustrant l'observation microscopique (10x10)
Du produit contenant 80% de Suppocire NA 15 et de 20% d'Ovucire à l'état cristallin

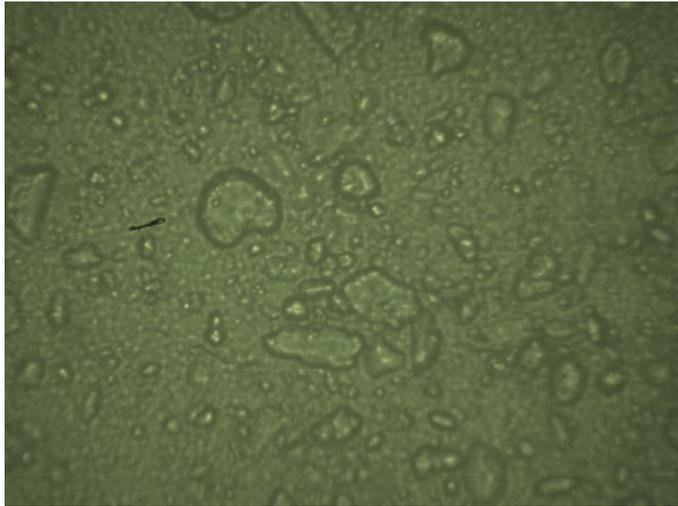


Image illustrant l'observation microscopique (40x10)

Du produit contenant 80% de Suppocire NA 15 et de 20% d'Ovucire à l'état fusionné

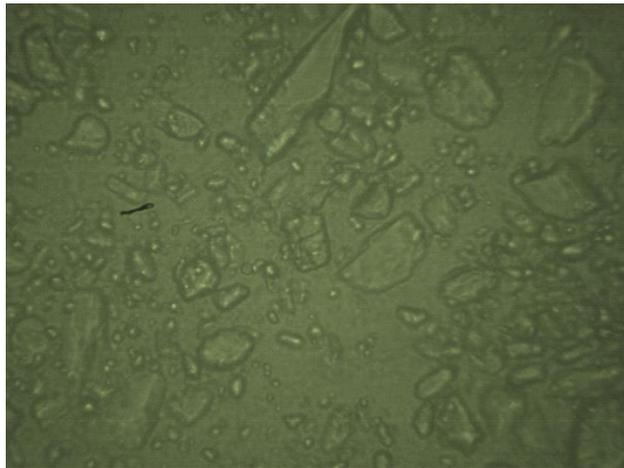


Image illustrant l'observation microscopique (40x10)

Du produit contenant 80% de Suppocire NA 15 et de 20% d'Ovucire à l'état cristallin

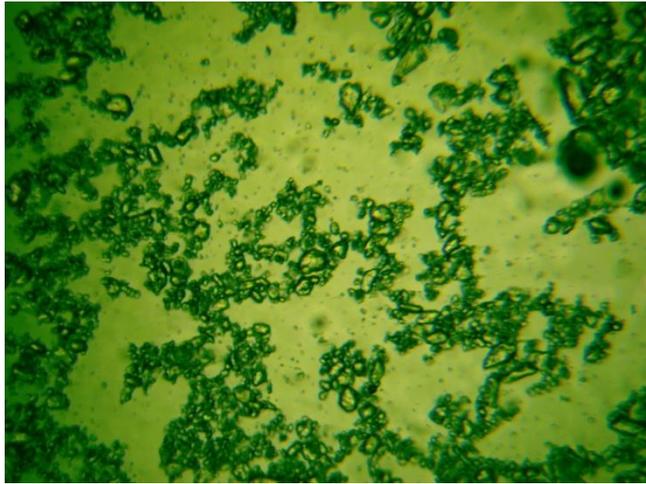


Image illustrant l'observation microscopique (10x10)

Du produit contenant 40% de Suppocire NA 15 et de 60% d'Ovucire à l'état fusionné



Image illustrant l'observation microscopique (10x10)

Du produit contenant 40% de Suppocire NA 15 et de 60% d'Ovucire à l'état cristallin

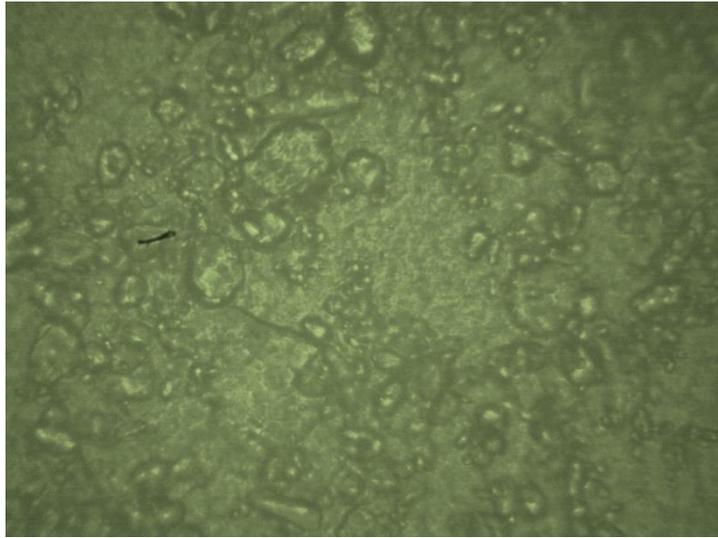


Image illustrant l'observation microscopique (40x10)

Du produit contenant 40% de Suppocire NA 15 et de 60% d'Ovucire à l'état fusionné

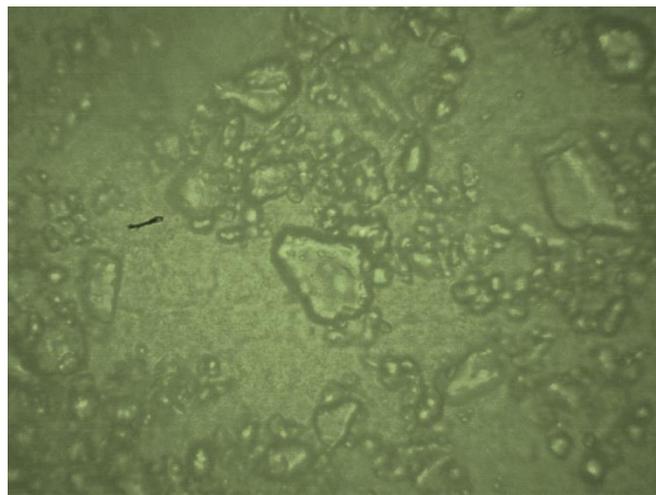


Image illustrant l'observation microscopique (40x10)

Du produit contenant 40% de Suppocire NA 15 et de 60% d'Ovucire à l'état cristallin

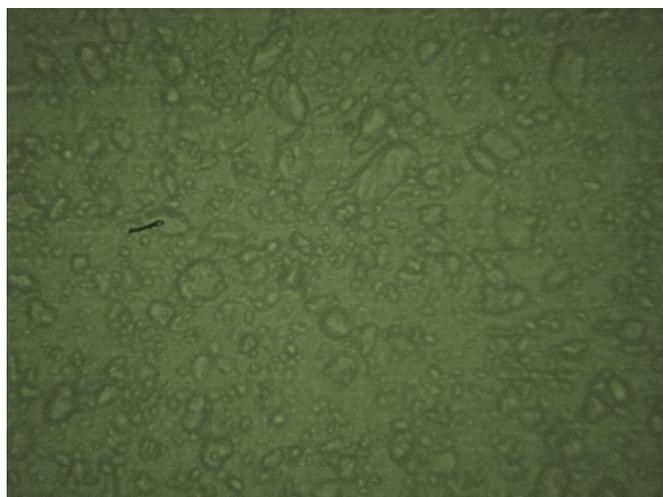


Image illustrant l'observation microscopique (40x10)
du Flagyl Sanofi France à l'état fusionné

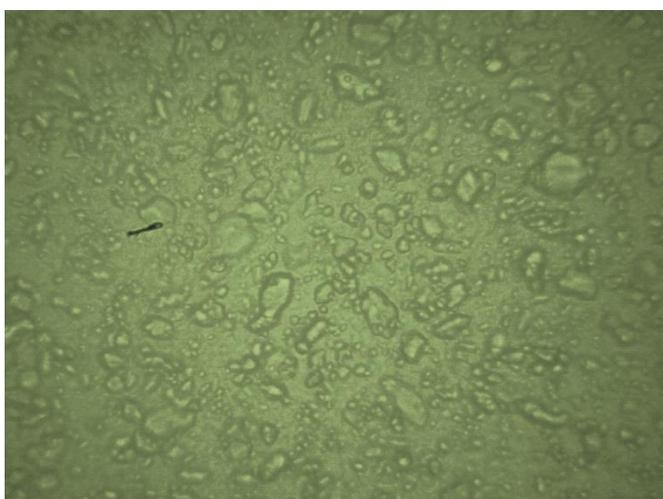
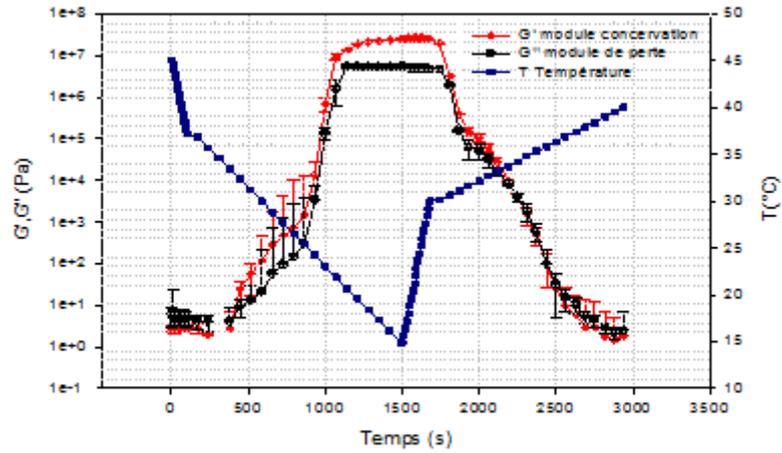
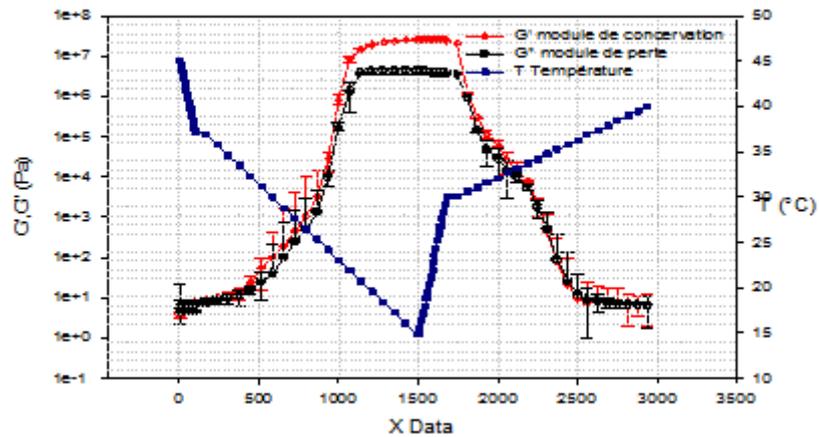


Image illustrant l'observation microscopique (40x10)
du Flagyl Sanofi France à l'état cristallin

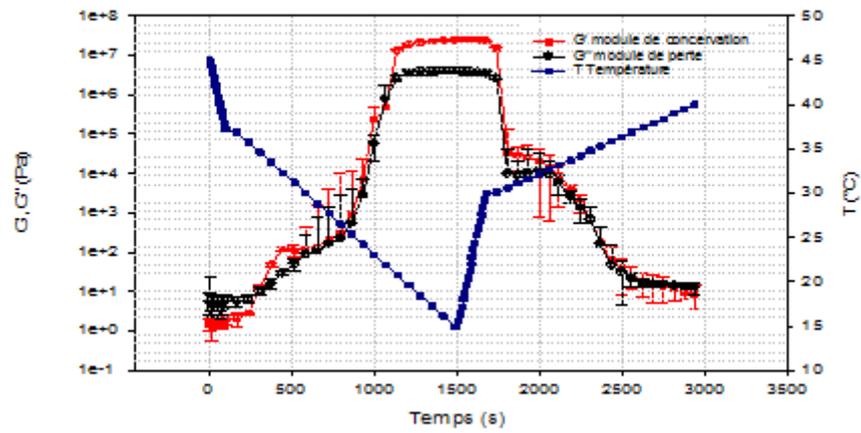
APPENDICE B



Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f=1$ Hz, $\gamma=0,5\%$, (produit contenant 60% de Suppocire NA 15 et 40% d'Ovucire WL3264)

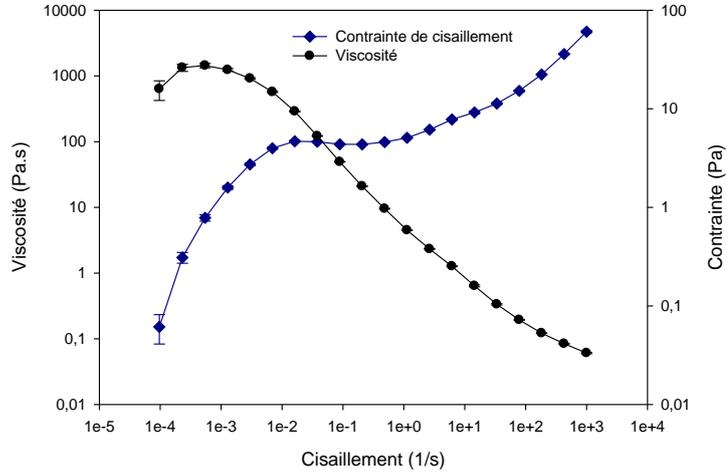


Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire, $f=1$ Hz, $\gamma=0,5\%$, (produit contenant 40% de Suppocire NA 15 et 60% d'Ovucire WL3264)

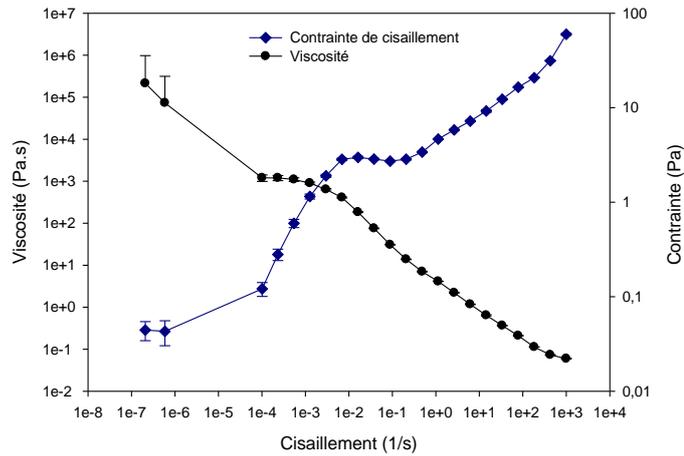


Evolution de G' et de G'' en fonction du temps et de la température en régime oscillatoire
 $f=1$ Hz, $\gamma=0,5\%$, (produit contenant 20% de Suppocire NA 15 et 80% d'Ovucire
 WL3264)

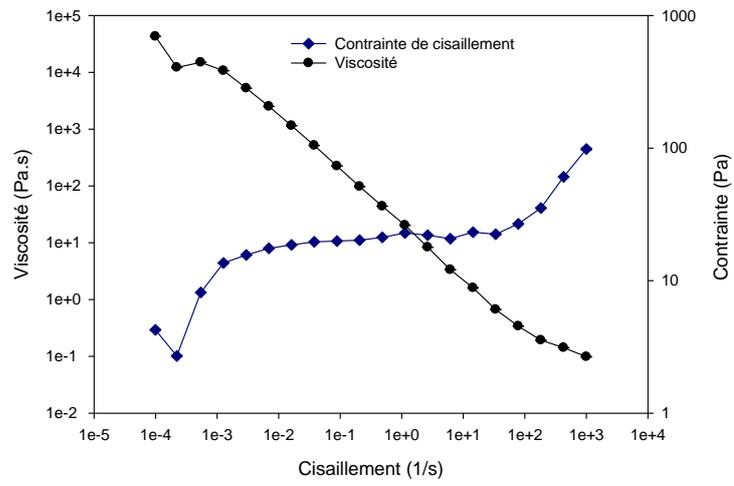
APPENDICE C



Courbes d'écoulement du produit formulé contenant 40% de Suppocire NA 15 et 60 % d'Ovucire WL 3264 en présence du VFS, $T = 37^{\circ}\text{C}$

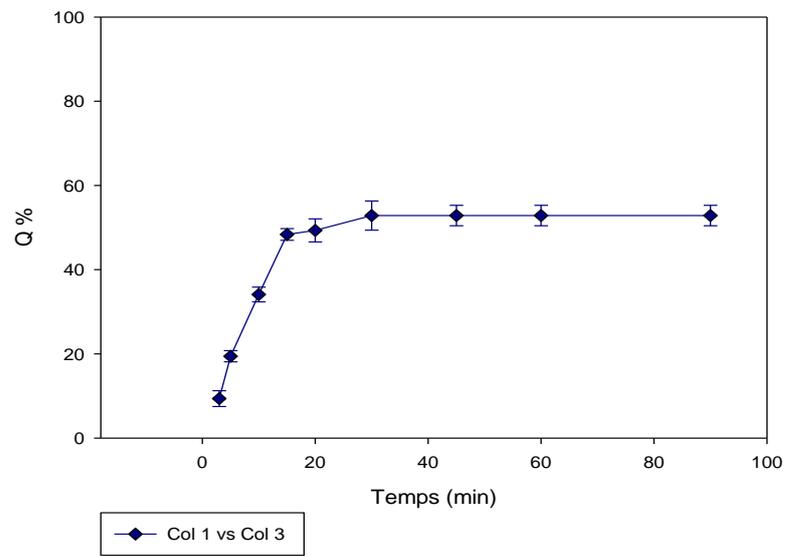


Courbes d'écoulement du produit formulé contenant 20% de Suppocire NA 15 et 80 % d'Ovucire WL 3264 en présence du VFS, $T = 37^{\circ}\text{C}$

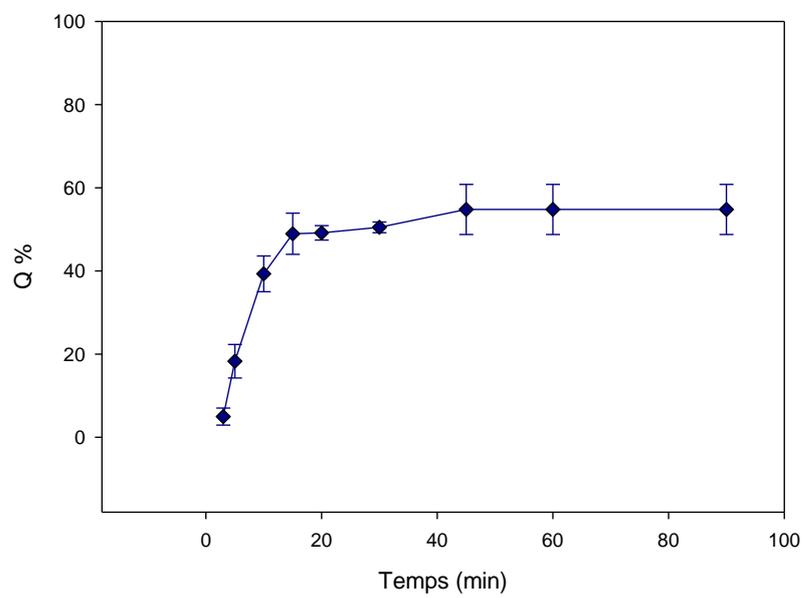


Courbes d'écoulement du produit formulé contenant 80% de Suppocire NA 15 et 20 % d'Ovucire WL 3264 en présence du VFS, $T = 37^{\circ}\text{C}$

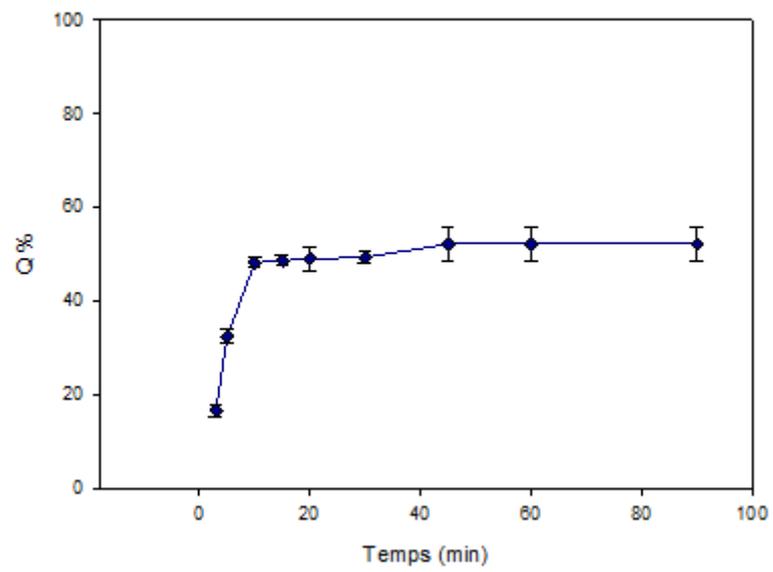
APPENDICE D



Profil de dissolution du produit formulé contenant 60% de Suppocire NA 15 et 40% d'Ovucire WL 3264



Profil de dissolution du produit formulé contenant 40% de Suppocire NA 15 et 60% d'Ovucire WL 3264



Profil de dissolution du produit formulé contenant 20% de Suppocire NA 15 et 80% d'Ovucire WL 3264