

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de SAAD Dahleb de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et physiologie cellulaire



Laboratoire de Recherche de Biotechnologie, Environnement et Santé

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de master II en biologie

Option : Biochimie

Thème

**Analyse comparative de l'effet du Tensoprel ®25mg
(DCI : captopril) et de l'extrait aqueux de laurier
(*Laurus nobilis*) sur quelques paramètres biochimiques
chez le model murin**

Présentée par :

M^{lle} BELGACEM SAMIRA

M^{lle} BOURAOUI NOUR EL HOUDA

Soutenu le 03 / 07 /2018

Membres de Jury

Présidente : Mme TOUAIBIA M.

M.C.B

Examineur : Mr BOUKHATEM M.N.

M.C.A

Promotrice : Mme KEBBAS S.

M.C.B

Année universitaire : 2017/2018

Remerciement

Nos remerciements s'adressent en premier lieu, à notre Dieu le Tout Puissant qui nous a donné la santé et la prospérité et de nous avoir permis de terminer nos études, ainsi que ce projet dans des meilleures conditions, et dans les délais voulus.

Nous tenons à exprimer, nos chaleureux remerciements à notre encadreur madame Salima KEBBAS, Maître de Conférences B à département de biologie et physiologie cellulaire, faculté de science de la vie et de la nature, Université de Blida1, de nous avoir dirigé avec patience et intérêt durant tout ce travail. Son aide bénéfique, ses remarques constructives et ses idées enrichissantes ont largement contribué à l'aboutissement de cette étude.

Nous exprimons toute notre gratitude aux membres du jury :

Mme TOUAIBIA Meriem, Maître de Conférences B à département de biologie et physiologie cellulaire, faculté de science de la vie et de la nature, Université de Blida1 pour l'intérêt qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant de présider le jury

Monsieur BOUKHATEM Mohamed Nadjib Maître de Conférences A à département de biologie et physiologie cellulaire, faculté de science de la vie et de la nature, Université de Blida1 d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail et nous tenons à lui exprimer notre profond respect et toutes notre estime.

Nous tenons également à remercier, le chef des services de département de contrôle de qualité au niveau de Merinal unité de Oued Smar madame Fdiaet le chef de département Pharmaco-Toxicologie de Saidel -Medea – monsieur Benyahya Mohamed de nous avoir ouvert les portes de leur laboratoire et pour leurs conseils et leur aide précieuse, et à qui

Nous exprimons notre profond respect et nos sincères remerciements.

Nous tenons également, à remercier le chef d'option Mme Saidi Fairouz , pour ses conseils et son aide précieux, et à qui on 'exprime nôtre profond respect

Enfin, Nous remercions tous les enseignants qui nous ont suivis le long de nos études, et tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin à l'élaboration de ce travail

Merci à tous

Dédicace

Je dédie ce travail à

Mes très chers parents, avec tout mon amour, ma tendresse et mon estime, je n'arriverai jamais à leurs rendre ce qu'ils ont fait pour moi. Que Dieu vous protège.

A mes frères Ayoub, Billel et mes chères sœur Amina et Anaïs, pour tout l'amour qu'ils m'apportent et leur soutien

A l'âme de mon chère grand-père Mohamedrabiyarhmo , et à mon grand-père Abdrahman et à mes deux grands mère que dieu les gardes pour moi

A toute la famille Bouraoui , Benaïda

A ma belle-famille et surtout à mon futur mari Youcef

A mes chers oncles Kheriefwahab et mahdi Benaïda

A tous mes amis pour leur encouragement

A mon bras droit ma chère binôme Samira qui été comme une zeme sœur pour moi

Houda

Dédicace

Je dédie ce travail

A ma chère mère qu'a jamais cessé de me soutenir dans le bien comme dans le mal, maman que dieu te protège et prolonge ta vie car vous êtes la lumière qui éclaire mon chemin et la flamme de mon cœur.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde mon papa

A mes chères sœurs : Wassila , Latifa , Ratiba , et à vous mes anges : Meriem , Sid ali , Anfel, Ikram , abdelaziz et Ayoub ,Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aidez à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers

A mes chères mima et papa Sidou , Qui m'a accompagné par ses prières, sa douceur, puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans les deux vies

A la mémoire de ma grand et grande -mère J'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde

A toute ma famille

A Ma chers binômes : houda , je te souhaite une bonne continuation dans ta vie ma sœur

À tous mes amies

Samira

La liste des abréviations

CCM : chromatographie sur couche mince

D : la dureté

DCI : dénomination commune internationale

E. coli : Escherichia coli

ESH : la Société européenne d'hypertension

ESG : la Société européenne de cardiologie

HCL : acide chlorhydrique

HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance

HTA : hypertension artérielle

K⁺: potassium

mm Hg : millimètres de mercure

Na⁺: sodium

Nm : nanomètre

PA : principe actif

PE : Norme de pharmacopée européenne

PH : potentiel d'hydrogène

PA : pression artérielle

Ufc : unité de formation des colonies

% : pourcentage

° C : degrés Celsius

tr / min : tour par minute

UV : ultra violet

SOMMAIRE

INTRODUCTION1

CHAPITRE II

II.1 La description de l'hypertension artérielle2

II.2 La physiopathologie 3

II.3 Traitements hypotensifs 4

 II.3 .1 Le captopril 4

 II.3 .1.1 La description de la molécule.....4

 II.3 .1.2 La pharmacocinétique du captopril6

 II.3 .1.3 Mode d'action6

 II.3 .2 Identification du Tensoprel®25mg8

 II.3 .2.1 Procédés de fabrication9

II.4 La médecine alternative.....10

 II.4.1 Classification botanique du laurier noble11

 II.4.2 Description du laurier noble.....11

 II.4.3 Composition des feuilles.....12

 II.4.4 Utilisation des feuilles de *Laurusnobilis*12

CHAPITRE III

III.1 Matériel	14
III .1 .1 Matériel non biologique	14
III .1 .2 Matériel biologique	14
III .1 .2.1 Matériel végétal.....	14
III .1 .2.2 Matériel animal :.....	15
III .2 Méthodes :.....	15
III .2 .1 Etude physicochimique du produit fini.....	15
III .2 .1.1 Contrôle de l'aspect.....	15
III .2 .1.2 La masse moyenne et uniformité de masse.....	15
III .2 .1.3 Désagrégation (délitement).....	16
III .2 .1.4 La friabilité	16
III .2 .1.5 La dureté.....	17
III .2 .1.6 Perte à la dessiccation	17
III .2 .1.7 Dissolution du Tensoprel ®25mg	17
III .2 .1.8 Identification du captopril dans le Tensoprel® 25mg par chromatographie sur couche mince (CCM).....	18
III .2 .1.9 Dosage du produit fini (moyen, unitaire, des impuretés et des 40 (1 /4)).....	19
III .2 .2 Etude microbiologique du produit fini	22
III .2 .2 .1 Préparation de la solution mère.....	22
III.2 .2.2 Dénombrement des germes aérobie totaux.....	22
III .2 .2 .3 Dénombrement des levures et moisissures.....	23
III .2 .2 .4 Recherche d'Escherichia coli.....	23

III .2 .3 Etude biologique.....	23
III.2. 3. 1 Induction expérimentale de l’hypertension.....	24
III.2 .3. 2Suivi des animaux pendant la période du traitement.....	24
III.2 .3. 3Traitement des animaux.....	24
III.2 .3.4dislocation cervicale et prélèvement.....	25
III .2 .3 .5 Etude statistique.....	26

CHAPITRE IV

IV.1 Résultats de l’étude physicochimique du produit fini

IV .1.1 Résultats de l’aspect du Tensoprel ®25 mg.....	27
IV .1.2Résultats de la masse moyenne	27
IV .1.3Résultats d’uniformité de masse.....	27
IV .1.4Résultats de la désagrégation	27
IV.1.5 Résultats de la friabilité.....	28
IV .1.6 Résultats de la dureté	28
IV .1.7 Résultats de la perte à la dessiccation.....	29
IV .1.8 Résultats de la dissolution	29
IV .1.9 Résultats d’identification du captopril dans le Tensoprel® 25mg par chromatographie sur couche mince (CCM).....	30

IV .1.10 Résultats de dosage du produit fini (moyen, unitaire, des impuretés et des 40 (1 /4)).....	31
IV .1.10.1 Résultats du dosage moyen	31
IV .1 .10.2 Résultats du dosage unitaire.....	32
IV .1.10.3 Résultats du dosage des impuretés Di- Sulfure du captopril.....	34
IV .1.10.4 Résultats du dosage des quarts de comprimés du Tensoprel®25mg.....	35
IV.2 Résultats de l'étude microbiologique du produit fini.....	37
IV .3 Résultats de l'étude biologique.....	40
IV .3.1 Evolution des poids corporels, l'eau consommée et d'ionogramme sanguin avant Sacrifice.....	40
IV .3 .1.1 Poids corporels.....	40
IV .3 .1.2 Ionogramme sanguin.....	42
IV .3 .1.3 Evolution de la quantité d'eau consommée pendant l'expérimentation.....	43
IV .3.2 Paramètres biochimiques après sacrifice.....	44
IV .3.2.1 Glycemie.....	44
IV .3.2.2 Urée.....	45
IV .3.2.3 Créatinine.....	46
IV .3.2.4 ionogrammes sanguins.....	46
CONCLUSION.....	47

Résumé

L'objectif de notre travail est de vérifier la conformité d'un médicament antihypertenseur (Tensoprel ®25mg) auquel nous avons effectué un contrôle physicochimique et microbiologique. Nous avons par ailleurs réalisé une analyse comparative de l'effet de ce produit et de l'extrait aqueux de laurier (*Laurus nobilis*) sur quelques paramètres biochimiques chez le modèle murin

Les résultats de l'analyse physicochimique et microbiologique montrent une conformité du Tensoprel ® 25mg aux normes de la pharmacopée européenne (2017) et aux spécifications du produit

Par ailleurs, les résultats de l'étude comparative entre l'effet du Tensoprel ® 25mg et l'infusion à 10% du laurier noble montrent d'une part une efficacité plus importante du produit pharmaceutique pour la majorité du bilan sanguin mesuré (glycémie, urée, kaliémie), d'autre part, le bon effet diurétique du laurier n'est pas à négliger. En effet, une baisse du sodium chez le lot traité par *Laurus nobilis* a été enregistrée comparativement au lot témoin.

Les mots clés

Hypertension artérielle, Tensoprel ®25mg, *Laurus nobilis*, Effet diurétique, contrôle de qualité

ABSTRACT

The objective of our work is to verify the compliance of an antihypertensive drug (Tensoprel ®25mg) to which we carried out a physicochemical and microbiological control. We also carried out a comparative analysis of the effect of this product and the aqueous extract of laurel (*Laurus nobilis*) on some biochemical parameters in the mouse model.

The results of the physicochemical and microbiological analysis show a conformity of Tensoprel ® 25mg with the standards of the European pharmacopoeia (2017) and product specifications

In addition, the results of the comparative study between the effect of Tensoprel ® 25mg and infusion at 10% of the laurel show, on the one hand, a greater efficacy of the pharmaceutical product for the majority of the measured blood urea, potassium), on the other hand, the good diuretic effect of the laurel is not to neglect. In fact, a decrease in sodium in the batch treated with *Laurus nobilis* was recorded compared to the control group

Key words

High blood pressure, Tensoprel ®25mg, *Laurus nobilis* , Diuretic effect, quality control

الملخص

الهدف من العمل الذي قمنا به هو التحقق من جودة دواء خافض لضغط الدم (تينسوبريل 25 ملغ) بإجراء تحاليل فيزيوكيميائية و ميكروبيولوجية , بالإضافة إلى استعمال فئران تجارب للقيام بمقارنة بين تأثير هذا الدواء و

مستخلص laurier noble على بعض التحاليل الدموي

نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية المتحصل عليها أثبتت أن هذا الدواء يتوافق مع المواصفات الخاصة به المعمول بها داخليا والمحددة في دستور الأدوية الأوروبية 2017, أما نتائج البيولوجية فهي تشير إلى أن تينسوبريل 25 ملغ له فعالية أكثر على أغلبية التحليل الدموية التي قمنا بها (جلوكوز الدم ، واليوريا ، والبوتاسيوم في الدم) مقارنة مع مستخلص laurier noble

ولكن لا يمكننا تجاهل أن هذه النبتة مدرة للبول لأننا لاحظنا انخفاض الصوديوم في دم الفئران المعالجة بمستخلص

laurier noble مقارنة بالمجموعة الشاهدة

الكلمات المفتاحية : مراقبة الجودة ، تأثير مدر للبول, *Laurus nobilis*, ارتفاع ضغط الدم ، تينسوبريل 25 ملغ

I. Introduction

L'histoire moderne de l'hypertension commence avec la compréhension du système cardiovasculaire basée sur le travail du médecin William Harvey (1578-1657), le clergé anglais Stephen Hales a fait la première mesure publiée de la pression artérielle en 1733.

Des descriptions de l'hypertension comme une maladie sont venues entre autres de Thomas Young en 1808 et surtout Richard Bright en 1836 (**Esunge ,1991; kotchen ,2011**).

Par malchance pour les malades, et par chance pour les épidémiologistes, maladie ou facteur de risque, il n'y a pratiquement pas de traitement de l'hypertension artérielle jusqu'au début des années 1960 (**Ménard ,2010**)

Parmi les différents types des médicaments qui existent, on peut citer les « inhibiteurs de l'enzyme de conversion », notamment Tensoprel®25 mg (DCI : captopril) qui ne permet pas à ce jour de guérir l'HTA mais de la maîtriser. Les risques qu'entraîne la prise de certains médicaments incitent de plus en plus de personnes à se tourner vers la phytothérapie, les plantes sont faites pour nous soigner et le laurier fait partie de ces plantes qui sont très efficaces dans le contrôle de l'HTA et d'autres affections courantes.

Notre étude vise à vérifier l'effet diurétique d'un produit pharmaceutique (Tensoprel®25 mg), produit dans un laboratoire bien équipé et dans des bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication pour pouvoir obtenir la licence d'exploitation et à évaluer son efficacité comparativement à l'infusion (10%) du laurier noble (**APEMA, 2011**)

Ceci, a pour objectif de confirmer l'effet supposé des plantes et de pouvoir lever le doute sur leurs manques d'efficacité par rapport aux médicaments.

C'est dans ce cadre la que nous avons conduit cette étude qui est subdivisée en deux parties :

- Une partie bibliographique où sont présentés des rappels sur l'hypertension et ses traitements, une généralité sur le Tensoprel®25mg, le captopril et le laurier
- Une partie pratique comprenant : une étude physicochimique et microbiologique du Tensoprel®25mg et une étude biologique sur des souris albinos dont on a effectué un suivi des poids corporels, l'eau consommée et d'ionogramme sanguin avant sacrifice, une évaluation des paramètres biochimiques à la fin de l'expérimentation a été également réalisée.

CHAPITRE II
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

II. 1 La description de l'hypertension artérielle

La tension artérielle correspond à la pression du sang s'exerçant sur la paroi des artères (Luc, 2011). Lorsque cette pression devient trop élevée on parle d'hypertension artérielle (HTA) qui est une pathologie chronique silencieuse (Luc, 2015 ; Duong et al., 2016) reconnue actuellement comme un problème de santé publique à l'échelle mondiale en raison de sa fréquence et des risques de maladies cardiovasculaires et rénales qui lui sont rattachés . (Fourcade et al., 2007).

La pression artérielle (PA) est évaluée via deux mesures exprimées en millimètres de mercure (mm Hg). La première mesure est la pression artérielle systolique (PAS) ou maxima (le cœur en période de contraction) La deuxième est la pression artérielle diastolique (PAD) ou minima (le cœur revient au repos) (Crespo, 2016)

Généralement, on dit qu'une personne souffre d'hypertension artérielle lorsque la mesure de sa tension artérielle au repos montre des valeurs plus grandes ou égales à 90 mm Hg pour la tension diastolique ou 140 mm Hg pour la tension systolique (Lefebvre ,2008). Le tableau I résume la classification de la PA selon l'ESH et ESC

Tableau I : Classification de la PA selon l'ESH et ESC(2007)

Classification de la PA	TA systolique (mmHg)		TA diastolique (mmHg)
Optimale	<120	et	<80
Normale	120 - 129	et /ou	80-84
Normale haute	130-139	et /ou	85- 89
HTA systolique isolée	≥140	et	<90
HTA grade I	140 -159	et /ou	90-99
HTA grade II	160-179	et /ou	100-109
HTA grade III	≥180	et /ou	≥110

II. 2 La physiopathologie

Selon la théorie multifactorielle, l'élévation prolongée de la PA est due à l'association de multiples facteurs dont :

- Le système rénine angiotensine (Figure 1) qui est classiquement considéré comme un système hormonal : la rénine circulante provenant des cellules juxta-glomérulaires rénales agit sur l'angiotensinogène produit par le foie pour produire de l'angiotensine I. Cette angiotensine I est convertie à son tour en angiotensine II par l'enzyme de conversion de l'angiotensine endothéliale. L'angiotensine II se lie ensuite à ses récepteurs spécifiques AT1, et augmente la pression artérielle par plusieurs mécanismes : la vasoconstriction des artérioles, la rétention hydrosodée par stimulation de la sécrétion d'aldostérone, la limitation de la perte d'eau dans les urines par stimulation de la sécrétion d'ADH (encore appelée hormone antidiurétique), la stimulation de la sensation de soif augmentant l'ingestion d'eau pour augmenter le volume sanguin et donc la pression artérielle (**Damyet *al.* , 2007**)
- Des anomalies du transport du Na⁺ transmembranaire dues à une perturbation ou à une inhibition de la pompe Na⁺/ K⁺, ou à une perméabilité accrue au Na⁺ (**Stéphan, 2010**)
- Le système kallibréine qui synthétise la bradykinine, un puissant vasodilatateur, pourrait intervenir (**Stéphan, 2010**)
- Un déficit d'une substance vasodilatatrice plutôt qu'à l'excès d'un vasoconstricteur comme l'angiotensine ou la noradrénaline (**Stéphan, 2010**)
- Une dysfonction endothéliale : où les cellules endothéliales produisent de puissants vasodilatateurs tels l'oxyde nitrique (NO), la prostacycline et l'endothéline (**Stéphan, 2010**)

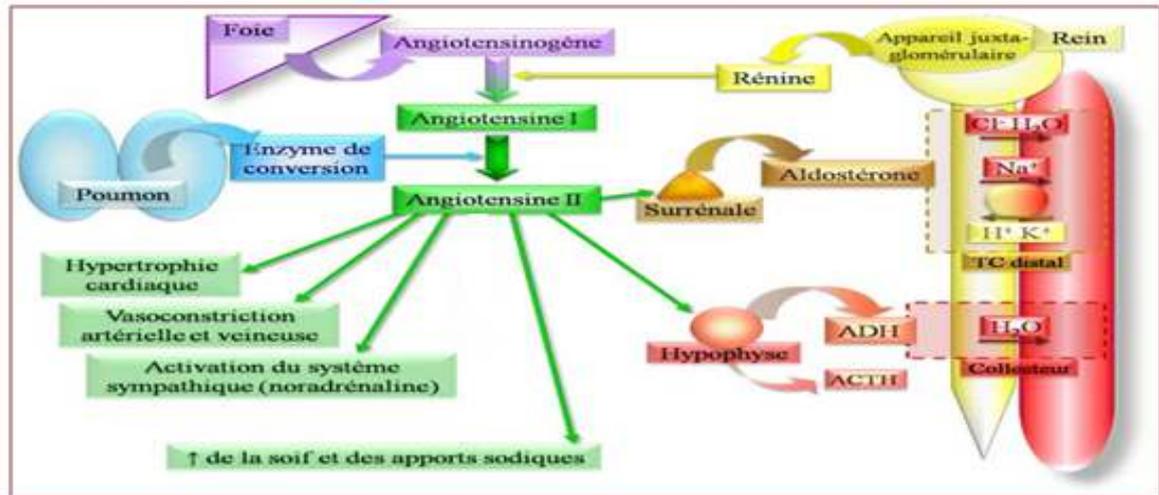


Figure.1 : Le système Rénine-Angiotensine-Aldostérone (Stéphan, 2010)

II. 3 Traitements hypotensifs

La réduction de la variabilité de la PA et d'autres facteurs de risque peut être due à des traitements antihypertenseurs qui ont été choisis selon le stade de l'HTA et les complications qui peuvent être présentes.

Il existe de nombreux traitements, agissant selon des mécanismes très variés destinés à lutter contre l'hypertension artérielle : les diurétiques, les bêta-bloquants, les inhibiteurs calciques, les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II et les **inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC)** (Chamontin, 2015).

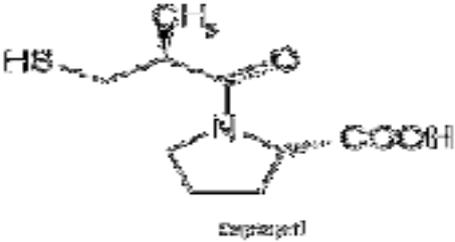
II. 3. 1 Le captopril

II. 3. 1. 1 La description de la molécule

Les IEC sont très nombreux et le **captopril** reste la molécule la plus utilisée (Coulibaly, 2013) qu'est le dérivé du venin de la vipère brésilienne *Bothrops jararaca* (Veran, 2009).

Une monographie du captopril figure dans la Pharmacopée Européenne et est résumée au niveau de tableau II.

Tableau II : Monographie du captopril selon la Pharmacopée Européenne 2017

Classe pharmacologique	Inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA)
Classe thérapeutique	Antihypertenseur
Le nom chimique	Acide(2S)-1-[(2S)-2-méthyl-3-sulfanylpropanoyl]pyrrolidine-2- carboxylique
Formule brute	$C_9H_{15}NO_3S$
Formule développée	 <p>The image shows the chemical structure of captopril. It consists of a pyrrolidine ring with a carboxylic acid group (-COOH) at the 2-position and a propanoic acid chain at the 1-position. The propanoic acid chain has a methyl group (-CH₃) at the 2-position and a thiol group (-SH) at the 3-position. The label 'captopril' is written below the structure.</p>
Température de fusion	106 °C
Poids moléculaire :	217,3 g/mol
Caractères	<ul style="list-style-type: none"> – Aspect : poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche – Solubilité : facilement soluble dans l'eau, dans le chlorure de méthylène et dans le méthanol. Le captopril se dissout dans les solutions diluées d'hydroxydes alcalins.

II. 3. 1 .2 La pharmacocinétique du captopril

La pharmacocinétique a pour but d'étudier le devenir du médicament dans l'organisme depuis son administration jusqu'à son élimination (la figure 2) (Bibiane et Nicole, 2005)

Le captopril est rapidement résorbé après administration orale et les concentrations sériques maximales sont obtenues environ une heure après la prise.

La quantité absorbée représente 75 % de la dose administrée et est diminuée de 30 à 35 % par la prise d'aliments, sans influence sur l'efficacité. (Veran ,2009)

Dans le plasma, 30 % sont fixés à l'albumine plasmatique, il diffuse rapidement dans tous les tissus, à l'exception du système nerveux central. Il ne franchit que peu la barrière hémato-encéphalique et ne franchirait pas la barrière placentaire et il diffuse très peu dans le lait maternel. (Veran ,2009)

La demi-vie d'élimination du captopril inchangé est proche de 2 heures (Brown et Vaughan ,1998), le captopril éliminé dans les urines représente environ 95 % (dont 40 à 50 % sous forme inchangée) de la dose de captopril administrée. (Veran ,2009)

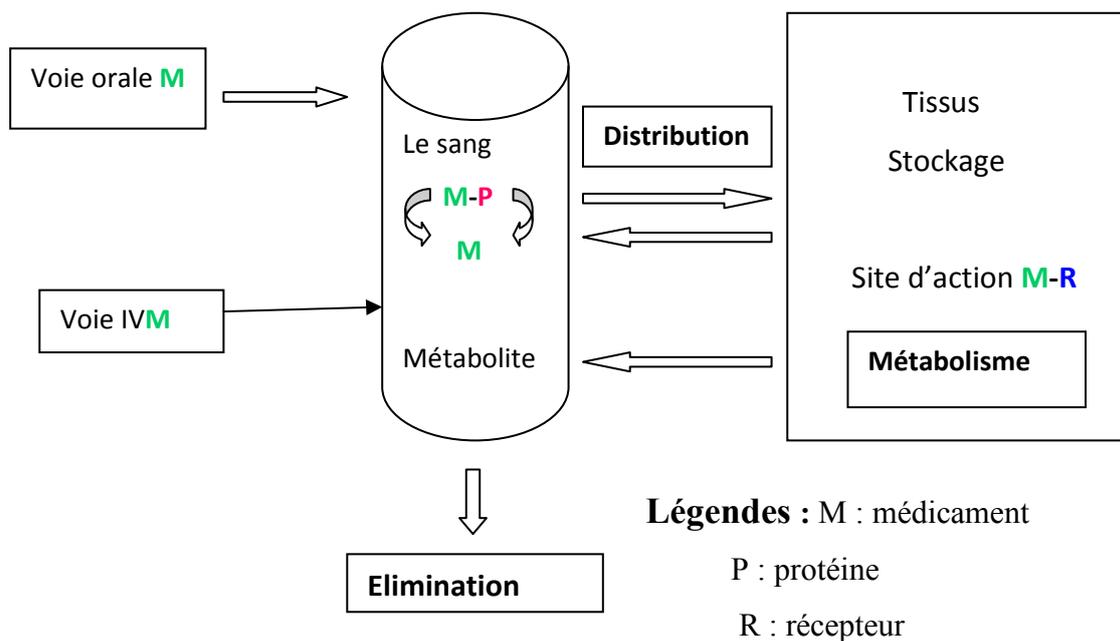


Figure .2 : devenir du médicament dans l'organisme (Van Hees, 2009)

II. 3. 1 .3 Mode d'action

Le captopril inhibe une métallo-enzyme à zinc de la classe des carboxypeptidase appelée l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), cette dernière permet de convertir

l'angiotensine I (décapeptide) en angiotensine II (octapeptide) et de dégrader la bradykinine en peptides inactifs (**Damyetal., 2007**). La figure 3 résume le mode d'action du captopril sur le fonctionnement du système rénine-angiotensine

Donc ce blocage entraîne une diminution de la vasoconstriction, une augmentation de la vasodilatation et, ultimement, une baisse de la PA, une diminution de la libération d'aldostérone de la corticosurrénale et donc un effet sur le bilan hydrique au niveau cellulaire, une diminution de la sécrétion d'ADH ce qui augmente la perte d'eau dans les urines accompagnées par une diminution du volume sanguin et donc la pression artérielle (**Coulibaly, 2013**).

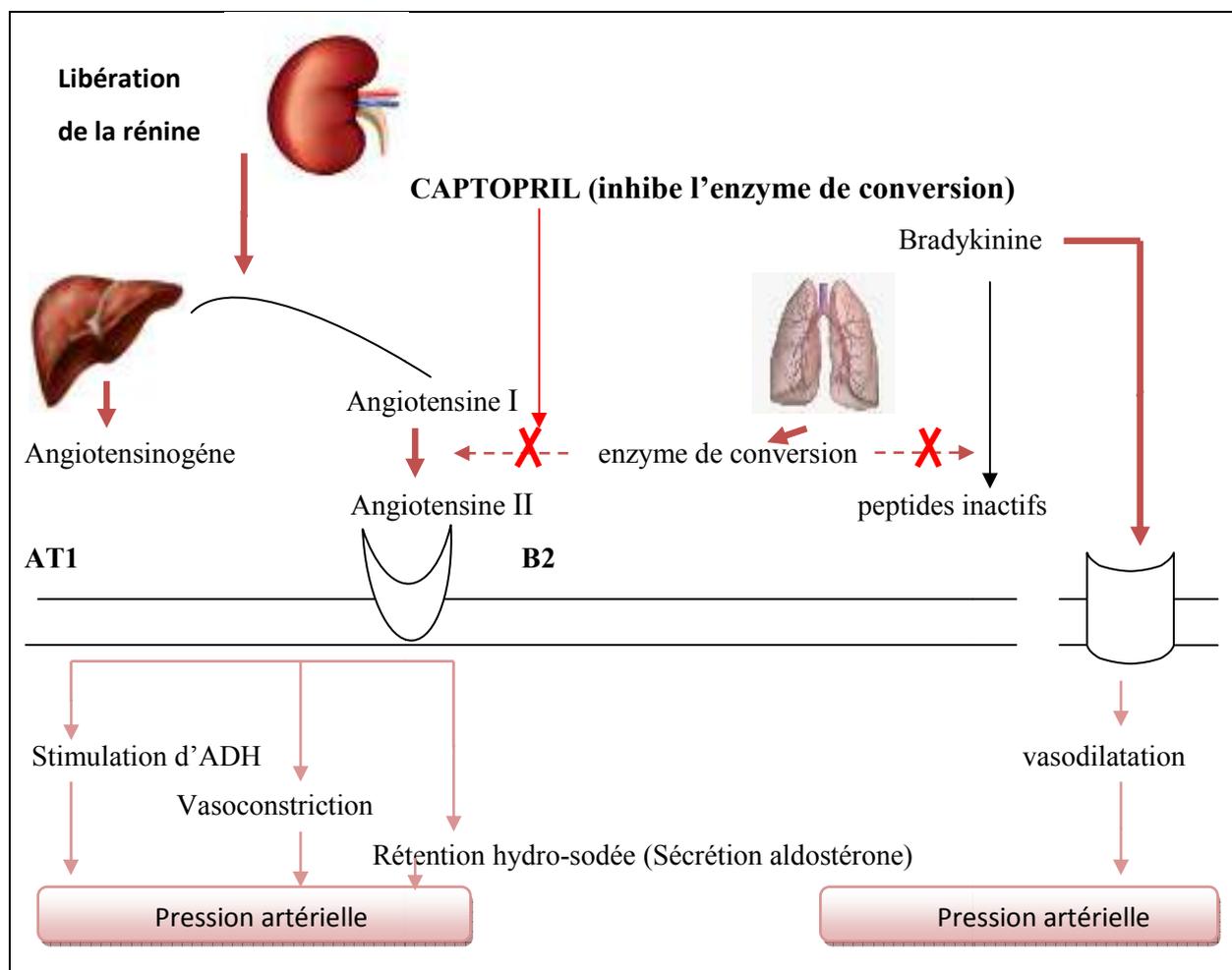


Figure.3 : Le mode d'action du captopril sur le fonctionnement du système rénine-angiotensine (**Faure et al., 2011**)

Devant les dépenses énormes de l'état algérien sur l'importation des médicaments et le développement de la population, l'Algérie (**Ouali, 2008**), comme tous les pays en voie de développement, a opté pour les médicaments génériques, qui possède la même composition

qualitative et quantitative en principe actif, la même forme pharmaceutique d'un médicament leader (molécule mère)(Tisseyre, 1983; Antognini, 1987).

Comme tous les médicaments le captopril possède plusieurs génériques (voir annexe 3), et parmi ces derniers, on peut citer le Tensoprel®25mg (figure 4) qui est fabriqué seulement en Algérie



Figure.4 : La forme d'emballage du Tensoprel® 25mg

II. 3 .2 Identification du Tensoprel®25mg

Le Tensoprel® 25mg est composé de : Cellulose microcristalline (Diluant et liant), captopril (le principe actif), lactose monohydrate granulé (diluant), amidon de maïs pré-gélatinisé (Diluant et liant) ,silice colloïdale 200 (délitnant) et acide stéarique micronisé (lubrifiant). Il a une forme de comprimé quadri sécable, prescrit en cas d'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque congestive et la néphropathie diabétique en revanche il est déconseillé en cas angio-œdème, grossesse et d'hypersensibilité au médicament ou autres inhibiteurs de l'ECA.

La dose optimale du Tensoprel ®25mg pour les adultes est, de 50 mg/j. Cette dose quotidienne doit être administrée en deux prises espacées au maximum de 12 heures, la prescription recommandée pour les enfants est de 0.15-0.30mg /kg de poids en trois prises par 24 heures. , les enfants sujets aux hypotensions commencent le traitement avec une dose de 0,15mg/kg

Il est utilisé avec précaution dans l'insuffisance rénale ou hépatique, hypo volémie, hyponatrémie, sténose aortique et cardiomyopathie, hypertrophique, insuffisance cardiaque, Lupus érythémateux disséminé, antécédents familiaux, d'angio-œdème, patients âgés, les patients allaités et les enfants.

Le Tensoprel® 25mg possède plusieurs effets secondaires parmi eux un risque d'insuffisance rénale en cas de sténose de l'artère rénale, une hypotension artérielle (expose aux vertiges et chutes chez le sujet âgé) , toux sèche (elle est favorisée par l'inhibition de la dégradation de la

bradykinine) , trouble du sommeil, altération du goût, difficultés respiratoires, nausées, vomissement, douleurs abdominales, diarrhées, constipation, éruption cutanée, chute de cheveux, sécheresse de la bouche et perte d'appétit

Comme tous les médicaments, le Tensoprel® 25mg exerce des interactions médicamenteuses afin d'avoir un effet souhaité. Un effet de synergie dans l'hypertension artérielle et l'insuffisance cardiaque est obtenu lors d'association avec les diurétiques : thiazidiques, furosémide.

Tandis qu'avec les Bêta-bloquants on obtient une diminution de la sécrétion de rénine (les bêta-bloquants renforcent l'action des IEC). Une association potentiellement délétère avec les IEC et les AINS (y compris l'aspirine mais uniquement aux doses supérieures à 160 mg/j) : les AINS en inhibant la synthèse des prostaglandines dont certaines sont vasodilatatrices antagonisent une partie des effets vasodilatateurs des IEC et réduisent ainsi une partie de leurs effets antihypertenseurs. (Notice mérial, 2016)

II. 3.2.1 Procédés de fabrication

La production du Tensoprel® 25mg regroupe l'ensemble des opérations de transformation des matières premières préalablement analysés (voir l'annexe 4) en produit fini. En premier lieu les composants purs du médicament (principe actif et les excipients) sont pesés, ici il est important de respecter le plus possible la précision du dosage, une fois pesées les substances sont mélangées à l'aide d'un mélangeur. Le médicament est donc créé mais il reste encore à lui donner sa forme définitive par une étape de compression qui consiste à transformer la poudre en comprimés quadriséable.

Pour protéger cette forme pharmaceutique jusqu'au moment d'utilisation il est nécessaire de passer par des étapes de conditionnement primaire et secondaire

- Le conditionnement primaire : c'est de mettre les comprimés en contact direct avec le blistères. Tout cela est fait sous une atmosphère contrôlée par une centrale de traitement d'air
- Le conditionnement secondaire : C'est la dernière grande étape, le médicament désormais contenu dans des blistères, est mis en boîte, les notices sont imprimées et mises avec.

Tout cela se fait à la chaîne le long d'un tapis roulant et à la fin de ce tapis, les médicaments sont mis en palettes puis stockés dans un dépôt.

Le médicament est désormais prêt à la vente mais il le sera seulement si les tests effectués tout au long de sa fabrication sont concluants, c'est à dire : Le contrôle qualité puis après le stockage, la libération des lots. La figure 5 montre le parcours du médicament de la fabrication à la distribution

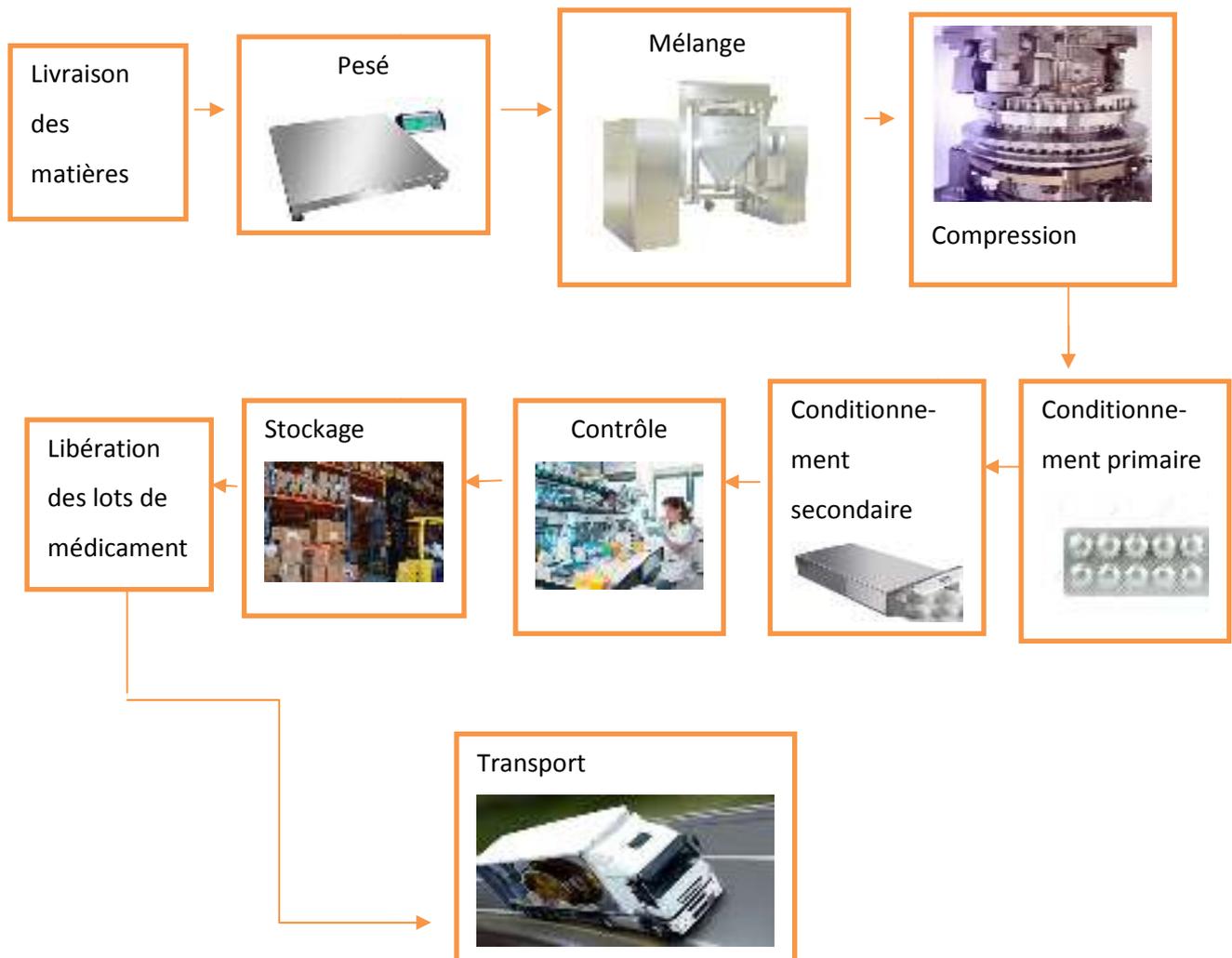


Figure. 5 : Le parcours du médicament

II. 4 La médecine alternative

La médecine alternative est celle qui n'utilise pas des médicaments et des molécules chimiques pour soigner les patients mais elle se base principalement sur l'emploi de techniques manuelles ou l'administration de substances naturelles. (OMS, 2002). Les médecines alternatives connaissent un succès grandissant. . En effet, de plus en plus de

patients, se tournent vers ce genre de traitements (**Blaiset al.,1997 ; SCHRAUB, 2002 ;Jungwee, 2005)**

Il existe plusieurs types de médecine alternative qui permettent de traiter l'hypertension artérielle telle que la phytothérapie (**Issiaka, 2005**), qui contribue à faire baisser la tension artérielle grâce à l'utilisation de certaines plantes anti hypertensives comme le laurier noble (**APEMA, 2011**)

II. 4.1 Classification botanique du laurier noble

Règne: Plantae

Sous-règne: Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe: Magnoliidae

Ordre: Laurales

Famille: Lauracea

Genre: Laurus

Espèce : *Laurus nobilis* (**Ballabio et al,2010**)

II. 4.2 Description du laurier noble

Le laurier noble est un arbre au feuillage persistant qui peut atteindre jusqu'au 15m de hauteur, à écorce lisse et noire. Les rameaux, vert le première année, deviennent gris tout en restant lisse (**Polese ,2006**)

Les feuille sont persistantes, alternées, simples, lancéolées (de 5 à 10cm de long), pointues aux extrémités, à bord lisse mais légèrement ondulées, elles sont d'un vert foncé luisant dessus, vert pâle et mat en dessous très odorantes (**Brosse ,2004**)

La période de floraison s'étend de mars jusqu'à avril, les fleurs sont discrète, petites, jaune verdâtre, pédonculées, en petits groupes à l'aisselle des feuilles (**Brosse ,2004**)

Les fruits arrivant à la maturité de juin à novembre, ce sont des baies plus au moins sphérique de 12mm de diamètre, noir brillant, à pédoncule très court, presque sans chair, avec une grosse graine brune sphérique de 11mm de diamètre (**Reynaud ,2002**)

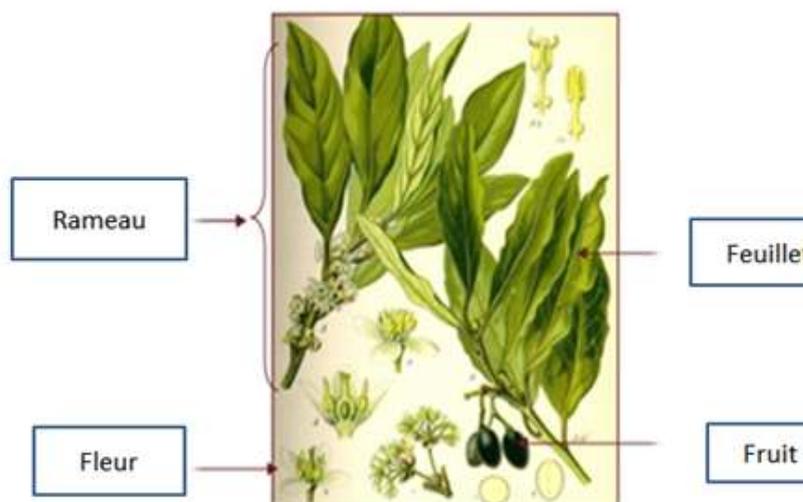


Figure. 6 : Aspect morphologique de *Laurus nobilis* (Beloued ,2005)

II. 4.3 Composition des feuilles

De nombreuses études ont été réalisées pour la détermination de la composition chimique des feuilles de *Laurus nobilis* et plusieurs ont prouvé la richesse de ses feuilles en substances actives. Par hydro distillation les feuilles fournissent environ 10-30 ml/Kg (1-3%) d'huile essentielle (Bruneton, 1999 ; Demir et al., 2004) .en effet Sayyah et al(2002) ont montré que l'huile essentielle du laurier noble est constituée principalement par :

De 1-8 cinéol (eucalyptol)(44 ,12%), eugénol (26,15%),méthyleugénol (10.75%), sabinène, (6.20%) ,4-terpinéol (3.60%), α -pinène(2.74%), β -pinène(2.05%)

Les feuilles contiennent également des flavonoïdes polaires et apolaires, des tanins, des sesquiterpènes lactones, des alcaloïdes (Fiorini et al., 1998 ; Kivçak et Mert, 2002), certains minéraux essentiels, en particulier K, Fe et Mg (Guenane1et al.,2016) et une richesse en vitamine E (Demo et al.,1998 ; Gómez- Coronado et al., 2004)

II. 4.4 Utilisation des feuilles de *Laurus nobilis*

Le laurier est principalement utilisé, par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique, lenteur de la digestion, éructations et flatulence (Iserin, 2001).L'extrait aqueux est utilisé dans la médecine traditionnelle turque en tant qu'anti hémorroïdal,

Antirhumatismal, diurétique et comme un antidote dans des morsures de serpent etpour le traitement du mal d'estomac (Kivçak et Mert, 2002).

Dans la médecine traditionnelle iranienne, les feuilles de cette plante ont été employées pour traiter l'épilepsie et le parkinsonisme (**AqiliKhorasani, 1992**).

L'huile essentielle obtenue des feuilles de cette plante a été employée pour le soulagement d'hémorroïdes et des douleurs rhumatismales (**Sayyah *et al.*, 2002**). En outre, l'huile essentielle est employée par l'industrie cosmétique en parfumerie et dans la fabrication des savons. Elle compte parmi les meilleurs moyens d'éloigner les insectes gênants (**Demir *et al.*, 2004 ; Beloued,2005**).

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

L'objectif de cette étude est de suivre et de réaliser dans un premier temps, un protocole de validation d'un produit médicamenteux utilisé pour traiter l'hypertension artérielle qui est le Tensoprel® 25mg. Dans un deuxième temps nous avons tenté de comparer les effets de ce médicament avec ceux d'un produit naturel à savoir l'infusé à 10% du Laurier noble (*laurus nobilis*) sur quelques paramètres biochimiques chez le modèle murin.

Pour cela nous avons conduit cette étude en premier lieu au niveau de Laboratoire de Mérinal Unité Oued Smar Alger pendant trois mois pour le contrôle de qualité du Tensoprel® 25mg de DCI : captopril (de la fabrication à sa mise sur le marché) et en deuxième lieu au niveau de Laboratoire Pharmaco-Toxicologie (animalerie) du complexe Antibiotique Sidal Médéa pendant six semaines pour réaliser l'analyse comparative de l'effet du Tensoprel® 25mg et de l'extrait aqueux du laurier (*laurus nobilis*)

III.1 Matériel

III .1 .1 Matériel non biologique

Dans cette étude, nous avons utilisé :

- Un produit pharmaceutique : le Tensoprel®25mg (DCI : captopril) qui est fabriqué dans le laboratoire mérinal –unité oued smar Alger
- Des verreries des appareils et des réactifs (sont mentionnés dans l'annexe 1 et 2)

III .1 .2 Matériel biologique

III .1 .2 .1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est composé de feuilles de laurier noble, qui ont été récoltées durant le mois de mars 2018 au niveau de la région de Ben hamdani (Blida) (figure 7)



Figure .7 : Carte géographique représentant le site de récolte (Google Maps, 2018)

Les feuilles fraîchement récoltées, sont lavées et laissées sécher à l'abri de la lumière, à une température ambiante et dans un endroit sec et bien aéré, pendant au moins une semaine (voir figure 8)



Figure .8 : Feuille fraîche et sèche du laurier noble.

III .1 .2 .2Matériel animal

L'étude a porté sur des souris blanches « *Mus musculus* », de souche : NMRI, de race : albinos et de sexe mâle ayant un poids moyen de 21 ,02g.

L'élevage de ces animaux s'est déroulé au sein de l'animalerie de complexe antibioticale Sidal Médéa, la température ambiante dans l'animalerie comprise entre 20-22°C et l'humidité était de 48%. Elles sont nourries avec des bouchons alimentaires (Aliment du bétail en tourteaux agglomères) et de l'eau potable

III .2 Méthodes

III .2 .1Etude physicochimique du produit fini

Cette étude physicochimique a été réalisée sur le générique (Tensoprel®25mg) selon les procédures internes de fabricant.

III .2 .1.1Contrôle de l'aspect

C'est le contrôle visuel des comprimés, l'aspect doit correspondre à la description mentionnée dans le bulletin d'analyse du produit correspondant (PH .EUR .2017)

III .2 .1.2La masse moyenne et uniformité de masse

20 comprimés sont prélevés au hasard et pesés individuellement afin de déterminer la masse moyenne. Uniformité de masse est déterminée par le calcul de l'intervalle de tolérance à partir de la masse moyenne trouvée selon le tableau III (PH .EUR .2017):

Tableau III : Ecart limite en pourcentage de la masse moyenne (PH .EUR .2017) .

Forme pharmaceutique	masse moyenne	Ecart limite en pourcentage de la masse moyenne (%)
Comprimés non enrobés	80 mg ou moins	10
	Plus de 80mg et moins de 250mg	7,5
	250mg ou plus	5

III .2 .1. 3 Désagrégation (délitement)

- **Principe**

Cet essai est destiné à déterminer l'aptitude des comprimés à se désagréger dans un temps prescrit, en milieu liquide (l'eau purifiée) .Dans le cadre de cet essai, la désagrégation n'implique pas une dissolution complète de l'unité soumise à l'essai ni même de son composant actif (PH .EUR .2017 ; **Technique interne ,2018**).

- **Mode opératoire**

Le test est effectué à $37 \pm 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$ sur 6 comprimés en milieu aqueux. Les comprimés sont soumis à un mouvement d'agitation régulier, le temps de désagrégation ne doit pas dépasser les 15 min (PE, 2017).

III .2 .1. 4 La friabilité

- **Principe**

Cet essai est destiné à déterminer, dans des conditions définies, la friabilité des comprimés c'est-à-dire le phénomène dans lequel la surface des comprimés est endommagée ou présente des signes d'abrasion ou de rupture sous l'effet du choc mécanique(**Technique interne ,2018**).

La quantité d'échantillon nécessaire pour cette analyse est l'équivalente à 6500mg pour les comprimés dont la masse moyenne est $\leq 650\text{mg}$ et de 10 comprimés pour les comprimés à masse moyenne $> 650\text{mg}$ (PH .EUR .2017).

- **Mode opératoire**

Dépoussiérer soigneusement les comprimés et peser exactement l'échantillon à analyser (Prise d'essai initiale (mg) (Pe)), les comprimés sont ensuite placés dans le tambour pendant 4min (25 tours /min) puis dépoussiérés et pesés à nouveau (Pe finale (mg))afin de Calculer la perte de la masse par l'équation suivante (PH .EUR .201) :

$$\%F = (Pe \text{ initiale} - Pe \text{ finale}) \times 100 / Pe \text{ initiale}$$

III .2 .1. 5 La dureté

- **Principe**

Cet essai est destiné à déterminer dans des conditions définies, la résistance à la rupture des comprimés mesurés par la force nécessaire pour provoquer leur rupture par écrasement (**Technique interne ,2018**).

- **Mode opératoire**

La mesure est effectuée sur 10 comprimés, on place le Cp entre les mâchoires et, on l'oriente de la même façon par rapport à la direction d'application de la force. En prenant soin d'éliminer tout débris de Cp avant chaque détermination. La dureté moyenne est en suite déterminée selon l'équation suivante (**PH .EUR .2017**) :

$$D = \Sigma Di / 10$$

Remarque : Ces tests sont préalablement faits in process parallèlement à la compression chaque une heure

III .2 .1. 6 La perte à la dessiccation

C'est un procédé d'élimination d'eau d'un médicament, il s'agit d'une déshydratation visant à éliminer autant d'eau que possible qui est apportée par des facteurs environnementaux ,donc le principe de dessiccation c'est la détermination de la teneur en eau résiduelle (**Technique interne ,2018**).

- **Mode opératoire**

10comprimés du Tensoprel 25mg sont broyés dans un mortier, on pèse 1g de cette poudre et on le transfère dans une capsule (creuset) qui a été pesé vide préalablement .La capsule pleine est ensuite placée dans une étuve pendant 3 heures à 60°C puis dans un dessiccateur pour déterminer la teneur en eau résiduelle par l'équation suivante (**PH .EUR .2017**)

$$F = (pecv + pe) - pecp) \times 100 / Pe$$

Pecv : prise d'essai du creuset vide (mg)

Avec : Pe : prise d'essai (mg)

Pecp : prise d'essai du creuset plein (mg)

III .2 .1. 7 Dissolution du Tensoprel@25mg

- **Mode opératoire**

Milieu	Appareil	Temps	vitesse	Température
900ml	Panier	20min	50tr /min	37°C±0,5°C

Le test de dissolution appliqué aux comprimés, permet de s'assurer, qu'une fois administrés, ces derniers libèreront le PA qu'ils contiennent, pour le mettre à la disposition de l'organisme, et ceci dans les limites de concentration et de vitesse déterminées, afin de garantir l'effet thérapeutique désiré (Le Hir, 2001). Le profil de dissolution du captopril de chacun de 6 comprimés du Tensoprel®25 mg est déterminé dans une solution d'acide chlorhydrique 0.01N (PH .EUR .2017).

- **Solutions à préparer**

A-Solution témoin

111mg du standard de captopril sont pesés et dissous dans une fiole avec 100ml d'HCl 0.1N, la solution est ensuite passée à l'ultrason pendant 5min puis agitée (5min). On prélève 5ml de cette solution et on le met dans 200ml HCl 0.01N (PH .EUR .2017).

B-Solution essai

Remplir les six paniers de contrôle par 900ml d'acide chlorhydrique 0,01 N et mettre dans chaque panier un comprimé. La température doit atteindre 37°C ±0,5 et la vitesse de rotation des paniers doit régler à 50tr /min.

Après 20 min, on prélève 25 ml de chaque récipient, on les filtre et on le met dans des tubes. Après le refroidissement de la solution on réalise la lecture de témoin et de la solution à examiner à une longueur d'onde de 212 nm à l'aide d'un spectre UV. Le pourcentage de dissolution égale à (PH .EUR .2017) :

$$\% = (DO_{\text{ess}}/DO_{\text{t}} \times Pt/100 \times 5/200 \times 900/25) \times 100$$

DO_{ess} : Absorbance de la solution à examiner

DO_t : Absorbance de la solution témoin

Pt : Poids étalon en mg $\times \frac{100 - \% \text{ (teneur en eau)}}{100} \times T/100$ avec T : la pureté

III .2 .1. 8 Identification du captopril dans le Tensoprel® 25mg par chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM est une méthode de séparation qui s'effectue par migration de soluté dans un solvant ou un mélange de solvants approprié à travers une couche mince (Munier, 1968)

- **Solutions à préparer**

A- Phase mobile

L'éluant utilisé est un mélange de 75ml de Toluène, 25ml d'acide acétique glaciale et 1ml de méthanol (PH .EUR .2017).

B- Liquide de visualisation

Dissoudre 40mg de l'acide 5-5`dithiobis 2 Nitrobenzoïque dans 100ml de méthanol, après prélever 60ml de cette solution et ajouter 10 ml d'hydroxyde d'ammonium (PH .EUR .2017).

C- Solution témoin

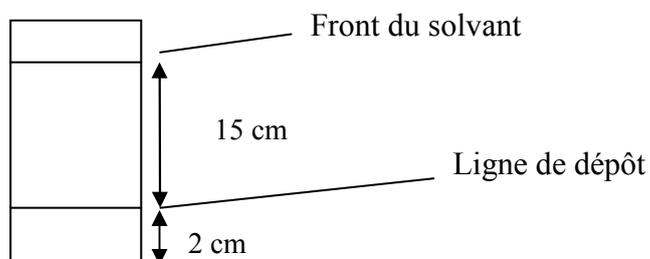
On pèse 100mg du captopril et on le dissout dans 25ml de méthanol, la solution est passée à ultrason pendant 5min puis agitée 5min (PH .EUR .2017)

D- Solution essai

On dissout 540 mg de poudre (équivalente à 4 comprimés) dans 25 ml de méthanol l'échantillon est ensuite passée à ultrason pendant 15 min après on centrifuge pendant 5min à une vitesse de 3500tr / min et on récupère le surnageant (PH .EUR .2017).

- Manipulation

Tout d'abord on remplit la cuve d'environ 0,5 cm de hauteur avec l'éluant et on la rebouche avec un couvercle pour que le mélange de solvants sature la cuve. Avec un stylo on trace soigneusement une ligne de dépôt sur une plaque de silice d'environ 2 cm du bas et on dépose sur cette ligne à l'aide d'une seringue 50ul de chacune des solutions déjà préparées (Solution témoin et essai), la plaque est placée dans la cuve jusqu'à l'élution d'environ 1 cm du haut de



la plaque puis la faire sortir, séchée et révélée par la solution de visualisation

Calcul : Le rapport frontal (R_f) = hauteur de la tache/hauteur du front du solvant avec $R_f < 1$

(PH .EUR .2017)

Figure. 14 : plaque CCM

III .2 .1. 9 Dosage du produit fini (moyen, unitaire, des impuretés et des quarts)

- Principe

L'identification et la teneur en captopril ainsi que les impuretés proviennent essentiellement de la synthèse et/ou des matières de départ utilisées sont déterminées par HPLC dans les conditions retenues des procédures chromatographiques, elle permet de séparer le captopril du reste des excipients

- **Conditions chromatographiques**

Tableau IV : conditions d'HPLC

Colonne	Phase mobile	Température	Débit	Longueur d'onde	Volume d'injection	Temps
Kromasil c185 µ 25cm *0,46cm	l'eau PH=3, méthanol	35°C	1ml/min	220mm	20µl	8min

Concernent les séquences d'injections on a : une injection pour le solvant et les 10 comprimés. Deux injections pour la résolution, la dilution du disulfure de captopril, la prise d'essai 1 et 2 et pour le standard des trois dosages pour assurer la stabilité de notre HPLC exercer 6 injections du standard de suitabilité

- **Solution à préparer**

A-La phase mobile

Pour préparer la phase mobile on mélange 45ml d'eau à ph = 3 avec 55ml de méthanol, tandis que le ph d'eau est ajusté avec l'acide orthophosphorique à 4% (PH .EUR .2017)

B- Dosage moyen de produit fini

➤ **Solution stock du disulfure de captopril**

Dissoudre 20mg du standard de disulfure de captopril dans une fiole de 20ml avec 10ml de méthanol HPLC, passer la solution à l'ultrason pendant 10 min puis homogénéiser et Ajuster jusqu'à 20ml.(PH .EUR .2017)

➤ **Solution de résolution**

Dans une fiole de 50ml on ajoute 50mg du standard de captopril avec 1ml de la solution stock du disulfure de captopril puis on dilue avec la phase mobile (PH .EUR .2017).

➤ **Solution témoin**

Dissoudre 25mg du standard de captopril dans 10ml de la phase mobile, faire passer à l'ultrason pendant 10 min puis ajuster le volume à 25 ml avec la phase mobile et agiter 5min pour homogénéiser (PH .EUR .2017)

➤ **Solution essai**

20 comprimés du Tensoprel® 25mg sont broyés, transférer 135mg de cette poudre dans une fiole de 25ml et ajouter 10ml de la phase mobile, passer la solution à l'ultrason pendant 10min puis ajuster à 25ml par la phase mobile et filtrer avec un filtre seringue 0.45 µm.(PH .EUR .2017).

Calcul du dosage moyen de produit fini (PH .EUR .2017) :

$$[S_{\text{ess}} \times P_t \times 25 \times T \times (100 - T_e) \times MM] / St \times 25 \times P_{\text{ess}} \times 100 \times 100$$

Sess : surface de la solution à examiner

St : surface de la solution témoin

MM : la masse moyenne (mg)

Pess : prise d'essai de la solution à examiner (mg)

T : Titre (%)

Pt : prise d'essai du témoin(mg)

Te : teneur en eau(%)

C-Dosage unitaire

➤ Solution témoin

Utiliser la solution du dosage moyen (PH .EUR .2017).

➤ Solution essai

Doser individuellement 10 comprimés. Transférer chacun comprimé dans 15ml de la phase mobile, passer les solutions à l'ultrason pendant 10min puis ajuster à 25ml par la phase mobile et filtrer avec un filtre seringue 0,45 um. (PH .EUR .2017).

Calcul du dosage unitaire (PH .EUR .2017).

$$[S_{\text{ess}} \times Pt \times 25 \times 100 \times T \times (100 - Te)] / (St \times 25 \times 25 \times 100 \times 100)$$

Sess : surface de la solution à examiner

St : surface de la solution témoin

T : Titre(%)

Pt : prise d'essai du témoin (mg)

Te : teneur en eau(%)

Le calcul de la valeur d'acceptation (PH .EUR .2017) :

$$Va = M - X + (S \times K)$$

M : valeur de référence

\bar{X} : la moyenne (mg)

S : écart type

K : constante d'acceptabilité

D-Dosage des impuretés

➤ Solution témoin

On dissout 1 ml de la solution stock du disulfure de captopril dans 50ml de la phase mobile.(PH .EUR .2017)

➤ Solution de résolution et solution à examiner

Ce sont les mêmes solutions que celles préparées pour le dosage moyen (PH .EUR .2017).

Calcul du dosage des impuretés (PH .EUR .2017):

$$[(S_{\text{ess}} / S_{\text{t}}) \times (P_{\text{t}} / 20) \times (1/50) \times (T / 100) \times (100 - \text{Teneur en eau}) / 100] \times 100$$

Avec :

S_{ess} : surface de la solution à examiner

S_t : surface de la solution témoin

T : Titre (%)

P_t : prise d'essai du témoin (mg)

E-Dosage des quarts de comprimé du Tensoprel® 25mg

➤ Solution témoin

La solution témoin du dosage des quarts est préparée par la dissolution de 5ml de la solution témoin du captopril dans 20ml de la phase mobile (PH .EUR .2017).

➤ Solution essai

On a dosé individuellement 40 comprimés. Un quart de chaque comprimé du Tensoprel® 25 mg est transféré dans une fiole de 25ml pour être dissous avec 15ml de la phase mobile,

Le volume est ajusté à 25ml après le passage dans l'ultrason pendant 10min puis filtré par un filtre seringue 0.45µm (PH .EUR .2017).

Calcul du dosage des quarts (PH .EUR .2017) :

$$[S_{\text{ess}} \times P_{\text{t}} \times 5 \times 25 \times T \times (100 - T_{\text{e}}) \times 100] / (S_{\text{t}} \times 20 \times 25 \times 6,25 \times 100 \times 100)$$

S_{ess} : surface de la solution à examiner

S_t : surface de la solution témoin

P_t : prise d'essai du témoin (mg)

T : Titre (%)

T_e : teneur en eau (%)

III .2 .2 Etude microbiologique du produit fini

III .2 .2 .1 Préparation de la solution mère

Pour préparer la solution mère on met 10g du Tensoprel® 25mg dans 90ml de la solution tampon peptonée au chlorure de sodium ph 7 (PH .EUR .2017).

III .2 .2 .2 Dénombrement des germes aérobie totaux

- Mode opératoire

On prend 1ml de la solution mère et on la dépose dans le fond d'une boîte de pétri, on ajoute ensuite environ 15 à 20 ml de milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja liquéfié dont la température ne dépasse pas 45°C (Préparer au moins 2 boîtes de pétri).

On met une autre boîte pour le contrôle du milieu (sans échantillon) puis on incube toutes les boîtes à 30-35°C pendant 3-5 jours (PH .EUR .2017).

III .2 .2 .3 Dénombrement des levures et moisissures

- **Mode opératoire**

On prend 1 ml de la solution mère et on la dépose dans le fond d'une boîte de pétri, on ajoute ensuite environ 15 à 20 ml de milieu gélosé sabouraud dextrosé liquéfié qui ne dépasse pas une température de 45°C, (Préparer au moins 2 boîtes de pétri) (PH .EUR .2017).

On met une autre boîte pour le contrôle du milieu (sans produit) puis on incube à 20- 25°C pendant 5-7 jours (PH .EUR .2017).

III .2 .2 .4 Recherche d'*Escherichia coli*

Le genre *Escherichia* appartient à la famille des Enterobactériaceae, ce sont des bacilles à gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs. *L'Escherichia coli* (*E. coli*) est une bactérie qui vit dans les intestins des humains ainsi que des animaux, comme les vaches, les porcs et les ovins. Certaines souches d'*E. Coli* sont inoffensives, mais d'autres peuvent rendre les gens malades, causant de la diarrhée des infections urinaires (Bakhoun ,2004 ; Allag, 2013)

- **Mode opératoire**

Il est réalisé par l'ensemencement de 10 ml de la solution mère dans 100 ml du milieu liquide aux peptones de caséine et de soja, homogénéiser et incuber à 30 -35°C pendant 18-24h (PH .EUR .2017)

Pour confirmer qu'il s'agit d'un développement d'*E. Coli*, un prélèvement de 1 ml de la culture d'enrichissement est ensemencé dans 100 ml de bouillon MacConkey. Après incubation à 42- 44°C pendant 24- 48h, deux à trois gouttes sont prélevées et étalées sur une boîte contenant de la gélose de MacConkey qu'en ensuite incuber à 30- 35°C pendant 18-72h (PH .EUR .2017)

III .2 .3 Etude biologique

L'objectif de départ était de tester l'effet antihypertenseur de deux produits, l'un issu de l'industrie pharmaceutique (Tensoprel®25mg) et l'autre issu de la phytothérapie qui est l'infusion à 10% de Laurier noble.

En raison de l'absence de dispositif adapté à la mesure de la pression artérielle des souris, nous avons été dans l'obligation d'orienter notre étude vers l'effet diurétique des ces deux produits.

III .2 .3 .1 Induction expérimentale de l'hypertension

En raison de l'existence d'une relation directe entre la consommation en sel et l'augmentation de la pression artérielle. Nous avons tenté d'induire une hypertension chez nos souris en leur administrant un régime supplémenté en sel tel que décrit dans le protocole modifié de **Pfeffer (1984)**

- **Préparation des lots**

On a réalisé 3 lots:

- Le témoin : comporte 2souris mâles
 - 2 Lots d'essais :
 - Lot N°1 du Tensoprel® 25mg
 - Lot N°2 du laurier
- chaque lot contient
9 souris de sexe mâles

- **Préparation des solutions salines**

On préparé 4 solutions salines de différentes concertations croissantes :

Solution à 2% : 2g de sel (Nacl) dans 100 ml de l'eau potable

Solution à 4% : 4g de sel (Nacl) dans 100 ml de l'eau potable

Solution à 6% : 6g de sel (Nacl) dans 100 ml de l'eau potable

Solution à 8% : 8g de sel (Nacl) dans 100 ml de l'eau potable

- **Mode opératoire**

Dans les deux premiers jours de l'expérience les souris des 3 lots (témoin, lot1, lot2) reçoivent par gavage 0,5 ml de sérum salé à 0,9%, puis les deux jours suivants reçoivent toujours par gavage 0,5ml de la solution saline à 2%, les 2jours après les souris ingèrent aussi 0,5ml d'une solution saline à 4% puis après 2jours une solution à 6 % et on continue le reste de la période (le reste de 23 jours) par la solution à 8%

III .2 .3 .2 Suivi des animaux pendant la période du traitement

Nous avons effectué un suivi des souris par mesure de l'ionogramme sanguin, la quantité d'eau consommée chaque semaine et les poids corporels grâce à une balance Gibertini.

III .2 .3 .3 Traitement des animaux

- **Préparation de l'infusion**

L'extrait de laurier est préparé par une infusion de 10 g de plante sèche dans 100 ml d'eau bouillante pendant 20 minutes avec agitation de temps en temps. Après refroidissement, l'infusé est filtré puis administré aux souris du lot N°02

- **Préparation de la solution médicamenteuse**

Pour préparer la solution du Tensoprel®25mg il faut prendre en considération le poids moyen et la surface corporelle des souris. A cet effet, nous avons calculé la dose équivalente animale (DEA) en divisant ou en multipliant la dose humaine (mg / kg) par le rapport K_m (voir l'annexe 5) (Nair et Jacob, 2016) :

$$\text{DEA (mg / kg)} = \text{dose équivalente humain (HED) (mg / kg)} \times \text{le rapport } K_m$$

- Calcul de la dose équivalente humain (HED) (Nair et Jacob, 2016) :

La dose du Tensoprel®25mg administrée par jour égale à 50 mg (administrée en deux prises : 25 mg par prise) pour un humain de poids corporel moyen 60kg

Donc pour un poids corporel de 1 kg on a (Nair et Jacob, 2016) :

$$\begin{array}{l} 25\text{mg} \longrightarrow 60\text{kg} \\ X \longrightarrow 1\text{kg} \end{array} \quad (25 \times 1) / 60 = 0,416 \text{ mg / kg}$$

HED = 0,416 mg / kg

$$\text{DEA} = 0,416 \times 12,3 \quad \Longrightarrow \quad \text{DEA} = 5,125 \text{ mg/kg}$$

DEA = 5,125 mg/kg

- **Mode opératoire**

Les souris du lot 1 ont été traitées par gavage de 0,5 ml de la solution médicamenteuse préparée préalablement, tandis que les souris du lot2 ont été traitées par 0,5 ml de l'extrait aqueux de laurier

Les traitements ont été administrés aux souris quotidiennement à l'aide d'une sonde de gavage deux fois par jour pendant une semaine.

III .2 .3 .4 Dislocation cervicale et prélèvements

- **Dislocation cervicale des souris**

Après 6 semaines d'expérimentation, les souris ont été sacrifiées le matin à jeun, par décapitation à l'aide d'une lame bistouri stérile selon les règlements d'éthique dans le *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (National Research Council, 2010).

- **Prélèvement sanguin**

Après décapitation, le sang est immédiatement recueilli dans des tubes héparines pour le dosage de la glycémie, l'urée, la créatinine et l'ionogramme sanguin.

III .2 .3 .5 Etude statistique

Les logiciels STATISTICA (Version 10.0 ; Statsoft Inc.2011) et Excel (Version 2007 ; Microsoft Office Inc 2007), ont été utilisés pour les analyses statistiques et la conception des graphiques. Nous avons utilisé les tests de l'analyse des variances ANOVA pour évaluer l'effet du traitement administré sur les différents paramètres biochimiques. Le test post hoc de Tukey pour faire ressortir les différences significatives entre les moyennes des échantillons témoins et les différents lots au seuil de $P < 0,05$, $P < 0,01$ et $P < 0,001$.

CHAPITRE IV

Résultats et discussion

IV.1. Résultats de l'étude physicochimique du produit fini

IV.1.1. Résultats de l'aspect du Tensoprel ®25 mg

Tableau V : Résultats de l'aspect du Tensoprel ®25 mg

Contrôle	Norme (PH .EUR .2017)	Résultat
Aspect	Comprimé plat blanc, rond quadri-sécable	Conforme

Ces résultats montrent que notre produit est un comprimé rond quadri-sécable de couleur blanche, ce qui est conforme aux normes exigées par la PH .EUR .2017.

IV.1.2 Résultats de la masse moyenne

Tableau VI : Résultats de la masse moyenne

Contrôle	Norme (PH .EUR .2017)	Début	Milieu	Fin
Masse moyenne	[130,95-139,05] mg	135,32	135,16	135, 74

Les trois essais de calcul de la masse moyenne se situent entre 130,95 et 139,05 mg. Le comprimé fini donne une pesée valable

IV.1.3 Résultats d'uniformité de masse

Tableau VII : Résultats d'uniformité de masse

Contrôle	Norme (PH .EUR .2017)	Début	Milieu	Fin
Uniformité de masse	La masse individuelle de 2 au plus de 20 unités peut s'écarter de 7,5% de la masse moyenne trouvée. La masse d'aucune unité ne peut s'écarter de plus de 15% de la masse moyenne trouvée	Conforme	Conforme	Conforme

Le poids individuel de chaque comprimé se trouve dans les limites d'intervalle 7,5% du poids moyen. Ce résultat répond aux exigences de la PH .EUR .2017, donc la répartition du mélange initial en unité de prise est vérifiée

IV.1.4 Résultats de la désagrégation

Tableau VIII: Résultat du temps de désagrégation (déitement)

Contrôle	Norme (PH .EUR .2017)	Résultat
Temps de désagrégation (min)	≤ 15	2 ‘ 20’’

Le test de désagrégation a donné une durée de 2 min et 20 s, ce qui répond aux normes exigées par la **PH .EUR .2017** (15 min). Nous pouvons affirmer que ce médicament se désagrège facilement au niveau de l’œsophage ce qui favorise une bonne absorption du médicament

IV.1.5 Résultats de la friabilité

Tableau IX : Résultat de la friabilité

Contrôle	Norme(PH .EUR .2017)	Résultat		
		Début	Milieu	Fin
Friabilité	<1%	0,25%	0,24%	0 ,23%

- Exemple de calcul

$$F\% = (6535,4 - 6520,3) \times 100 / 6535,4 ; \quad F\% = 0,23\%$$

Le taux de friabilité est de 0,25 %, 0,24% et 0,23% respectivement, au début au milieu et à la fin de la compression de médicament. Ce résultat confirme que le mélange est bien compressé. Le produit fini résiste aux chocs mécaniques au moment du conditionnement et du transport.

IV.1.6 Résultats de la dureté

Tableau X : Résultats de la dureté

Contrôle	Norme(PH .EUR .2017)	Résultat		
		Début	Milieu	Fin
La dureté	6-9	7 ,37	7,20	7,50

- Exemple de calcul

$$D = 6,36 + 8,15 + 5,95 + 8,46 + 8 ,05 + 8 ,66 + 7,44 + 6,32 + 7,14 + 7,03 / 10 ; \quad D = 7,37$$

Le taux de la dureté est de 7,37 %, 7,20 % et 7,50 % respectivement, au début au milieu et à la fin de la compression, ce qui répond aux normes exigées par la **PH .EUR .2017** (6-9).ce résultat confirme que les comprimés présentent une résistance mécanique suffisante pour ne pas se briser lors de leurs manipulations ou d'étapes de production ultérieures.

IV.1.7 Résultats de la perte à la dessiccation

Tableau XI: Résultat de perte à la dessiccation

Contrôle	Norme (PH .EUR .2017)	Résultat
perte à la dessiccation	≤ 6 ,5%	0 ,01%

- Application de l'équation

$$F\% = [(29,4401 + 1,0032) - 30,4324] / 1,0032 \times 100 ; \quad F\% = 0,01\%$$

La double pesée après séchage montre une perte de masse de 0,01 % ce qui représente le taux d'humidité de médicament, donc la teneur en eau résiduelle n'est pas importante pour qu'il y a une croissance microbienne. Ce résultat est conforme à la norme de la **PH .EUR .2017** (≤ 6,5%).

IV.1.8 Résultats de la dissolution

Tableau XII: Résultats du taux de dissolution par un spectre UV

Désignation	Lectures DO	Moyennes DO	%Dissolution
Standard	0,7255	0,7352	
	0,7550		
	0,7250		
Bac 1	0,7402	0,7402	100
	0,7402		
Bac 2	0,7363	0,7364	100
	0,7364		
Bac 3	0,7286	0,7286	99
	0,7286		
Bac 4	0,7283	0,7285	99
	0,7286		
Bac 5	0,7887	0,7889	107
	0,7890		
Bac 6	0,7664	0,7665	104
	0,7665		

- Exemple de calcul

$$Q\% = (0,7402 \times 111 \times 5 \times 900 \times 100 \times (100-0) \times 100) / (0,7352 \times 100 \times 200 \times 25 \times 100 \times 100) ;$$

$$Q\% = 100\%$$

aux normes ($Q \geq 80\%$ après 20min) exigées par la P. E 2017. ce résultat permet de s'assurer qu'une fois administrés les comprimés du Tensoprel ®25mg libèreront le PA qu'ils contiennent, pour le mettre à la disposition de l'organisme

IV.1.9 Résultats d'identification du captopril dans le Tensoprel ®25mg par chromatographie sur couche mince (CCM)

Les résultats montrent que les taches ont le même niveau de migration (fig. 9)

Témoin 1 et 2 (standard de captopril)

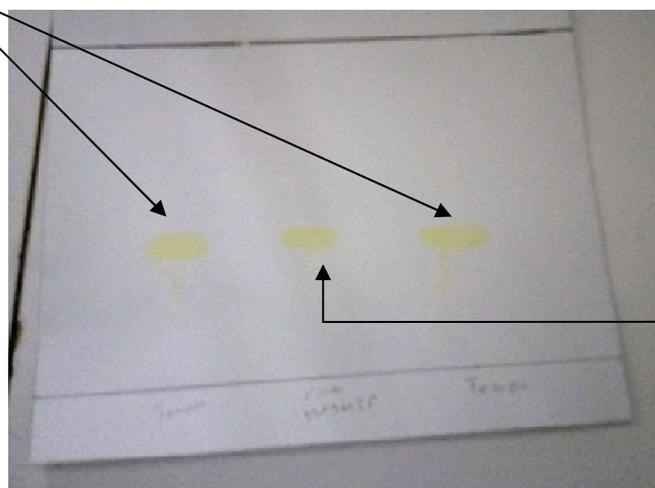


Figure 9: Chromatogramme après révélation

- Calcul du rapport frontal (Rf)

La distance parcourue par le témoin 1 et 2 = 5 cm et la distance parcourue par l'essai égale à 4,9 cm

La distance parcourue par l'éluant (H) = 15cm

Rf = h/H donc :

Rf témoin 1 et 2 : $5 / 15 = 0.33$

Rf essai : $4.9 / 15 = 0.32$

} tous les rapports sont inférieurs à 1 et $Rf t_1, t_2 \approx Rf$ essai
donc le produit est le même et le Tensoprel®25mg
Contient le captopril

IV.1.10 Résultats de dosage du produit fini (moyen, unitaire, des impuretés et des 40 (1 /4))

IV.1.10.1 Résultats du dosage moyen

Tableau XIII: Résultats du dosage moyen (standard de captopril)

	Prise témoin (mg)	Surface de témoin	Temps de rétention (min)
Standard	25	13606978	4.116
		13635363	4.117
	Moyenne	13621170	4.1165
	Volume (ml)	25	
	Titre (%)	100	
	Teneur en eau (%)	0,00	

Tableau XIV: Résultats du dosage moyen (Essai)

	Prise d'essai(mg)	Surface de l'essai	D (mg /comprimé)	Temps de rétention (min)
Essai	135.2	13785260	25.29	4.115
		13521963	24.66	4.115
		Moyenne	24.98	4.115
		T (%)	99.9	

- Exemple de calcul

$$D = \frac{(13785260 \times 25 \times 25 \times 100 \times (100 - 0) \times 134.34)}{(13621170 \times 25 \times 135.2 \times 100 \times 100)}; D = 25,29 \text{ mg}$$

L'analyse de produit fini Tensoprel ®25mg ainsi que le standard de référence ont donné des résultats comparables (Fig. 10et 11)

Le temps de rétention est de 4.1165 min pour le standard de captopril et 4.115 min pour l'échantillon. La quantité moyenne de la matière première (captopril) dans 135,2 mg du Tensoprel®25 (équivalente d'un comprimé) est dans les normes des spécifications du produit ($23.75 \leq 24,98 \text{ mg} \leq 26.5$)

Ce résultat montre que le produit fini Tensoprel®25mg est de bonne qualité car il contient 99.9 % principe actif

Ce résultat obtenu est conforme aux spécifications du produit qui préconisent que la pureté de captopril dans le produit fini Tensoprel® 25mg doit être comprise entre $95 \% \leq T\% \leq 105\%$.

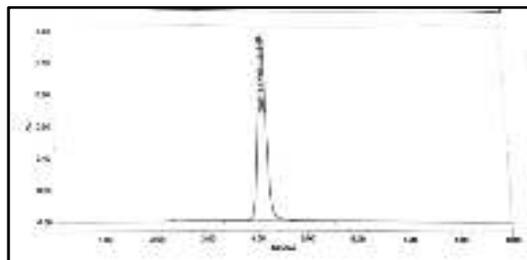


Figure10: Chromatogramme HPLC du standard de captopril .

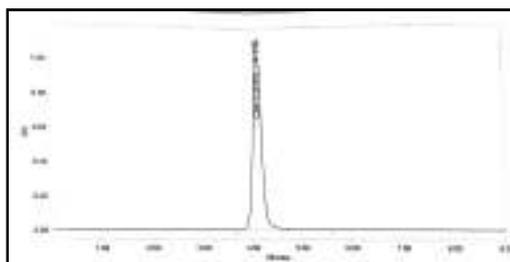


Figure11 : Chromatogramme HPLC de captopril dans le produit fini

IV.1.10.2 Résultats du dosage unitaire

Tableau XV: Résultats du dosage unitaire (standard de captopril)

	Prise témoin (mg)	Surface de témoin	Temps de rétention (min)
Standard	25	14025201	4,113
		13985423	4,113
	Moyenne	14005312	4,113
	Volume (ml)	25	
	Titre (%)	100	
	Teneur en eau (%)	0,00	

Tableau XVI: Résultats du dosage unitaire (10 comprimés)

Comprimé	Surface de l'essai	D (%)	Temps de rétention (min)
1	13190426	94,18	4,111
2	13403985	95,70	4,111
3	13411910	95,76	4,113
4	14322965	102,2 6	4,115
5	13465061	96,14	4,113
6	13552845	96,76	4,112
7	14003250	99,98	4,117
8	13285402	94,85	4,112

9	13454320	96,06	4,112
10	13477434	96,23	4,111
La moyenne	13557760	96,79	4,113

- Exemple de calcul

$$D = (13190426 \times 25 \times 25 \times 100 \times 100 \times (100 - 0)) / (14005312 \times 25 \times 25 \times 100 \times 100) ; D\% = 94,18\%$$

- Calcul de la valeur d'acceptation

Tant que la teneur cible par unité de prise autorisée du fabricant est inférieure à 101,5% (T=100 %) et la moyenne des teneurs individuelles (\bar{X}) 96,79% est inférieure 98,5% donc

La valeur de référence M = 98,5% et la valeur d'acceptation (VA) égale :

$$VA(L1) = M - \bar{X} + KS$$

$$VA(L1) = 98,5 - 96,79 + 2,4 \times 2,4684 ; \quad VA(L1) = 7,6$$

Le dosage individuel de la substance active dans un certain nombre d'unités du Tensoprel® 25mg (10 unités) en comparaison avec le standard de captopril à donner des chromatogrammes comparables (Fig.12 et 13)

La moyenne du temps de rétention de captopril contenu dans 10 unités et le temps de rétention du standard de captopril sont les mêmes (4,113min)

La moyenne des teneurs individuelles en captopril des unités examinées exprimée en pourcentage (96,79%) se trouve dans l'intervalle de spécification du dosage unitaire 95% à 105% et leur RSD (=2,5) est > 2 %

Uniformité des préparations unidoses est assurée, car la valeur d'acceptation (L1 = 7.6) correspond à l'exigence de la P.E 2017. (L1 ≤ 15)

Ces résultats sont conformes aux spécifications du produit donc le Tensoprel® 25mg est de bonne qualité.

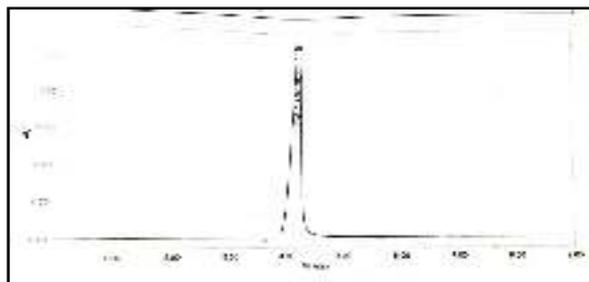


Figure. 12: Chromatogramme HPLC du standard de captopril .

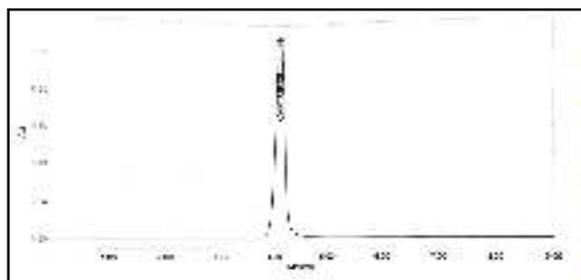


Figure. 13: Chromatogramme HPLC d'un des 10 comprimés du Tensoprel®25mg

IV.1.10.3 Résultats du dosage des impuretés di- Sulfure du captopril

Tableau XVII: Résultats du dosage des impuretés (standard du disulfure de captopril)

	Standard Di- sulfure	
Titre /Te(%)	99	0,00
Pt (mg) /volume (ml)	20,1	20
Dilution STD	1	50
La surface de témoin	316311	311018
La moyenne	313665	
Temps de rétention	6,676	6,674
La moyenne	6,675	

Tableau XVIII : Résultats du dosage des impuretés (Essai)

	Surface d'essai	Résultat (%)	Temps de rétention(min)
Essai	22734	0,14	6,663
	24689	0,16	6,663
Moyenne (%)		0,15	6,663

- Exemple de calcul

$$D = (22734 \times 20,1 \times 1 \times 99 \times 100 \times (100-0)) / (313665 \times 20 \times 50 \times 100 \times 100) ; D\% = 0,14\%$$

Les figures 14 et 15 montrent les chromatogrammes HPLC pour le captopril et son impureté contenue dans le produit fini Tensoprel®25mg, et le standard de disulfure de captopril dilué respectivement

Le standard disulfure de captopril élué au moment de rétention $R = 6,675$ min, tandis que l'impureté principale de captopril (le disulfure de captopril) élué au temps de rétention $t R = 6,663$ min

Le résultat du produit de dégradation de captopril (0,15%), est conforme à la spécification du produit dont la norme doit être $\leq 2\%$ donc le Tensoprel ®25mg est de bonne qualité car les impuretés sont dans la norme.

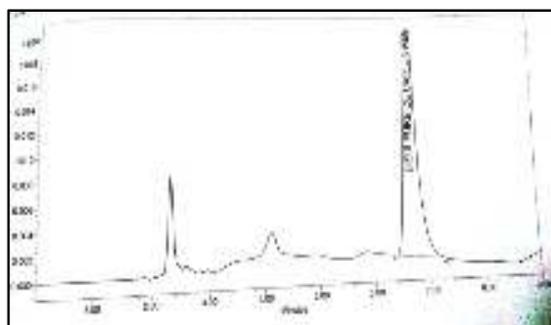


Figure.14: Chromatogramme HPLC du standard de disulfure de captopril dilué

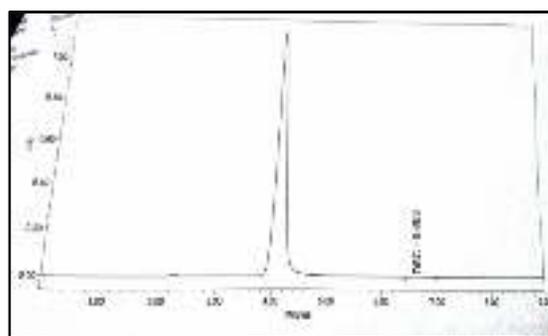


Figure.15 : Chromatogramme HPLC du produit fini

IV.1.10.4 Résultats du dosage des quarts de comprimés du Tensoprel®25mg

Tableau XIX : Résultats du dosage des quarts (standard)

	Standard	
Titre / teneur en eau (%)	99,2	0,00
Pt (mg)/volume (ml)	25,3	25
Dilution	5	20

Temps de rétention	4,089
	4,089

Tableau XX: Résultats du dosage des quarts (40 comprimés)

Comprimé	Surface	Temps de rétention (min)	D%	Comprimé	Surface	D%	Temps de rétention (min)
CP1	3506214	4,089	97,81	Cp 21	3543922	98,86	4,091
CP2	3527245	4,086	98,40	CP22	3553718	99,13	4,092
CP3	3673966	4,087	102,49	CP23	3678137	102,6	4,086
CP4	3528695	4,089	98,44	CP24	3527974	98,42	4,083
CP5	3556348	4,089	99,21	CP25	3701832	103,27	4,090
CP6	3586872	4,090	100,06	CP26	3641709	101,59	4,093
CP7	3390995	4,091	94,59	CP27	3597115	100,34	4,090
CP8	3629266	4,089	101,24	CP28	3595272	100,29	4,089
CP9	3788112	4,085	105,67	CP29	3557397	99,24	4,088
CP10	3880896	4,092	104	CP30	3643689	101,64	4,087
CP11	3672528	4,089	102,45	CP31	3524290	98,31	4,092
CP12	3707588	4,088	103,43	CP32	3683760	102,76	4,089
CP13	3632513	4,087	101,33	CP33	3365155	93,87	4,089
CP14	3416224	4,090	95,30	CP34	3503238	97,73	4,090
CP15	3462401	4,088	96,59	CP35	3776618	105,35	4,092
CP16	3458381	4,086	96,47	CP36	3712418	103,56	4,089
CP17	3649849	4,088	101,82	CP37	3694167	103,05	4,089
CP18	3449894	4,089	96,24	CP38	3510425	97,93	4,093
CP19	3454534	4,093	96,73	CP39	3297676	91,99	4,087
CP20	3516615	4,088	98,10	CP40	3256597	90,85	4,089
	Moyenne	4,089 min	99,51%				
	Ecart type	3,58					
	RSD(%)	3,59					

- Exemple de calcul

$$\bar{X} = (3506214 \times 25,3 \times 5 \times 25 \times 99,2 \times (100-0) \times 100) / (3598759 \times 20 \times 25 \times 6,25 \times 100 \times 100); \bar{X}\% = 97,81\%$$

Le dosage individuel de la substance active dans un quart des 40 comprimés du Tensoprel® 25 mg en comparaison avec le standard de captopril dilué à donner des chromatogrammes comparables (Fig.16 et 17)

La moyenne du temps de rétention de captopril contenu dans quart de 40 unités et le temps de rétention du standard de captopril dilué sont les mêmes (4,089min)

La moyenne en pourcentage de captopril dans un quart des unités examinées se trouve dans l'intervalle de spécification du dosage des quarts ($X \pm 15\%$: [84,68% _ 114,57%] et $X \pm 25\%$: [74,63% _ 124,63%]) et leur RSD ($3,59\% > 2\%$)

Ces résultats conformes aux spécifications du produit donc le Tensoprel® 25mg est de bonne qualité

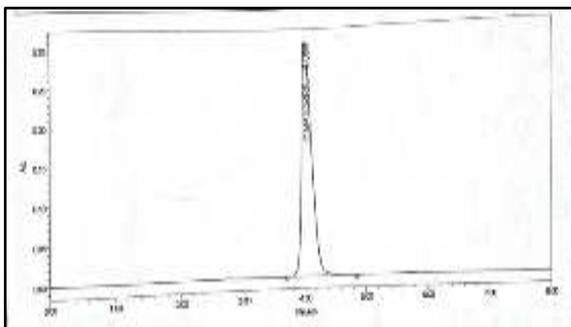


Figure. 16 : Chromatogramme HPLC du standard de captopril dilué

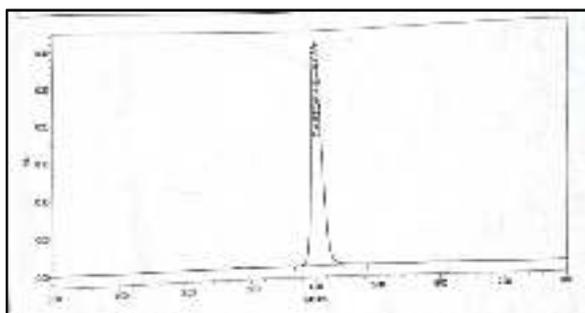


Figure. 17: Chromatogramme HPLC d'un quart des 40 comprimés du Tensoprel®25mg

IV .2 Résultats de l'étude microbiologique du produit fini

Les résultats de l'analyse microbiologique du produit fini Tensoprel®25 mg sont indiqués ci-dessous :

Tableau XXI : résultats de dénombrement des germes aérobies totaux

Contrôle	Norme (PH .EUR .2017)	Résultats
Dénombrement Des germes aérobie totaux (DGAT)	$\leq 10^3$ UFC / ml	3 UFC / ml

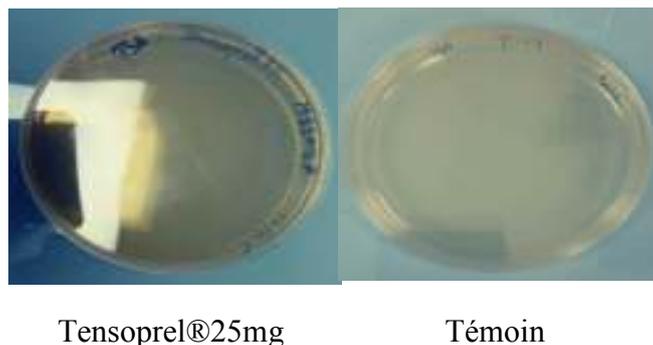


Figure. 18: Résultats du dénombrement des germes aérobies totaux sur agar Caséine- soja

Pour le test de dénombrement des germes aérobies totaux on peut dire qu'il n'y a aucune prolifération parce que le nombre des colonies trouvées est négligeable (3UFC/ ml) par rapport à la norme ($\leq 10^3$ UFC / ml)

Pour le témoin le résultat est négatif (aucune prolifération bactérienne). Ce résultat montre que le milieu de culture n'est pas contaminé

Tableau XXII : résultat de dénombrement des levures et des moisissures

Contrôle	Norme (PH .EUR .2017)	Résultats
Dénombrement des levures et des moisissures (DMLT)	$\leq 10^2$ UFC / ml	2 UFC / ml

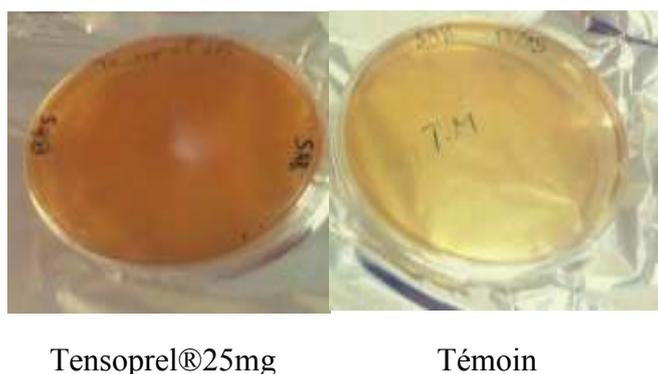


Figure 19 : Résultats de dénombrement des levures et des moisissures sur agar Sabouraud

Le nombre des colonies trouvées dans le test de dénombrement des levures et des moisissures (2 UFC / ml) est négligeable, car il est dans la norme ($\leq 10^2$ UFC / ml)

Nous remarquons aussi pour le témoin une absence totale, d'aucune prolifération sur le milieu de culture agar Sabouraud

- Une très bonne qualité microbiologique révélée par l'absence des germes totaux et de la flore fongique mais étant donné que le Tensoprel®25 mg est regroupé dans la catégorie des préparations pharmaceutiques non obligatoirement stériles, on peut noter la présence de quelques germes totaux et fongiques à condition que cela reste toujours dans les normes exigées par la PH .EUR .2017 .

Tableau XXIII : Résultats de dénombrement d'*E. Coli*

Contrôle	Norme (PH .EUR .2017)	Résultats
Recherche d' <i>Escherichia coli</i>	absence dans 1g	Absence



Figure. 20: Résultats de dénombrement d'*E. Coli* sur agar MacConkey

Nous remarquons une absence de toute catégorie de colonie bactérienne dans le test réalisé sur milieu Mac Conkey ce qui indique l'absence d'*E. Coli* dans le produit.

Ces résultats répondent aux normes exigées par la P.E 2017. Donc le produit fini Tensoprel®25mg est de bonne qualité microbiologique

Cette bonne qualité microbiologique de ce produit peut être expliquée par :

- La forme déshydratée de comprimé qui est défavorable pour toute prolifération microbienne.
- Le respect des bonnes pratique d'hygiène par :
 - Le lavage et la désinfection des mains au moins à chaque reprise de travail.
 - L'hygiène de matériel qui est désinfecté avant et après chaque production
 - L'hygiène de l'environnement et des excipients

IV .3 Résultats de l'étude biologique

Nous avons utilisé l'Excel et le logiciel Statistica pour effectuer les analyses statistiques, les résultats sont présentés sous forme de moyen \pm écart type. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre le témoin et les deux lots est réalisée par le test « ANOVA » pour la variation des poids avant et après le traitement et pour les différents paramètres biochimiques analysés.

Les différences sont considérées significatives à * $P < 0,05$ et très significative à ** $p < 0,01$, hautement significatives à *** $P < 0,001$

IV .3 .1 Evolution des poids corporels, ionogramme sanguin et l'eau consommée avant sacrifice

IV .3 .1 .1 Poids corporels

Les figures 21 et 22 présentent les résultats des mesures des poids corporels, avant et après le traitement des animaux par le Tensoprel® 25mg et l'infusion de Laurier 10%

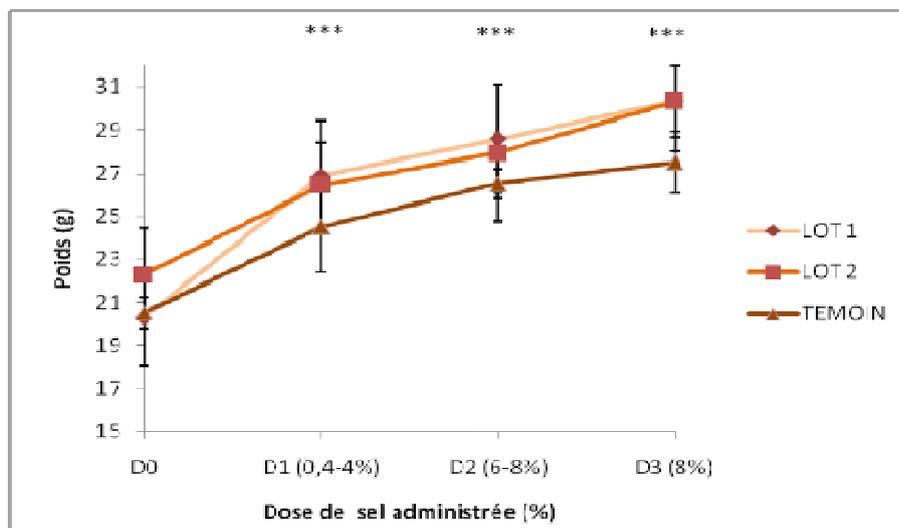


Figure. 21: Variation des poids corporels des souris avant le traitement

Nous remarquons que le poids des souris augmente à mesure que les solutions salines administrées aux souris sont concentrées ils passent de $20,5 \pm 0,70$ à $27,5 \pm 1,41$ g chez le témoin et de $20,28 \pm 2,13$ à $30,32 \pm 1,76$ g chez le lot 1 et de $22,28 \pm 2,13$ à $30,3 \pm 2,28$ g chez le lot 2. L'évolution de ce poids est comparable chez les trois lots. En effet, par le test d'ANOVA, nous constatons que les poids des souris augmentent de manière hautement

significative en fonction de la dose de sel administrée ($***p < 0.001$) et cela indépendamment du lot considéré ($P > 0,05$). Tous les lots ont subi la même augmentation de poids

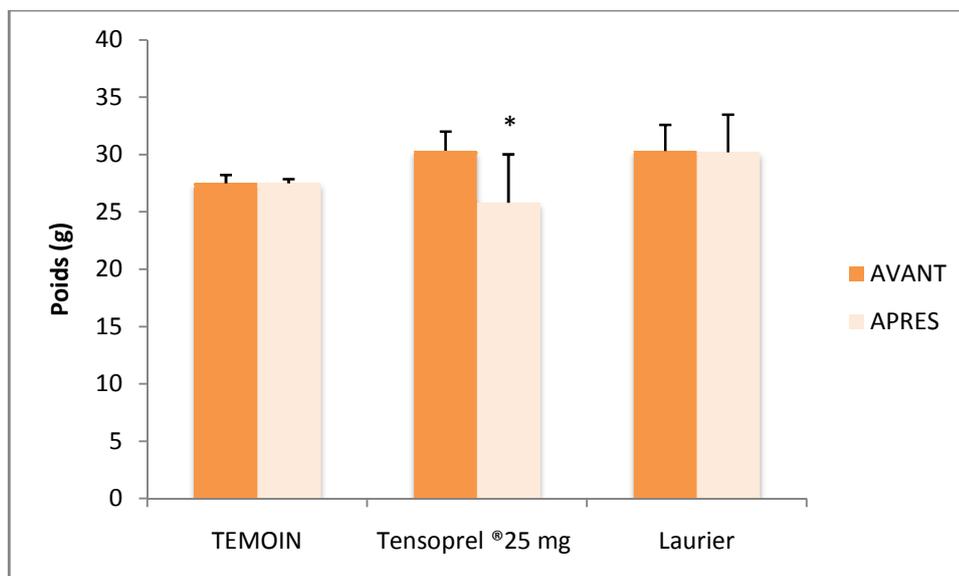


Figure. 22: Variation des poids corporels des souris avant et après une semaine de traitement

Par l'analyse ANOVA, nous constatons que le poids des souris du lot1 diminue de manière significative ($* P < 0,05$) après le traitement par le Tensoprel®25 mg, et cela indépendamment du lot considéré ($P > 0,05$), le lot 1 a subi la même diminution de poids

D'après les résultats obtenus (**Fig. 21**), nous remarquons une augmentation des poids corporels des souris avec l'augmentation des doses de sel administrées qui serait liée à la rétention d'eau qui s'accompagne de la consommation élevée du sel ce qui peut se traduire par une prise de poids causée uniquement par un excès d'eau dans le corps (**Burnier, 2001**).

En revanche dans la (**Figure 22**) nous observons après le traitement une diminution significative des poids des souris traitées par le Tensoprel®25mg (15%). Ce dernier a donc réussi à inhiber la rétention hydro sodée, par l'inhibition du système rénine angiotensine qui est le principal élément régulateur de la biosynthèse d'aldostérone (une hormone minéralocorticoïde) qui joue un rôle important dans le contrôle de la balance hydro-sodée (**Damy et al., 2007**)

Par contre les souris témoins et les souris traitées par le laurier n'ont pas changé de poids avant et après le traitement, donc on peut déduire que probablement l'extrait aqueux de laurier à 10% n'a pas d'effet sur le poids

IV .3 .1 .2 Ionogramme sanguin

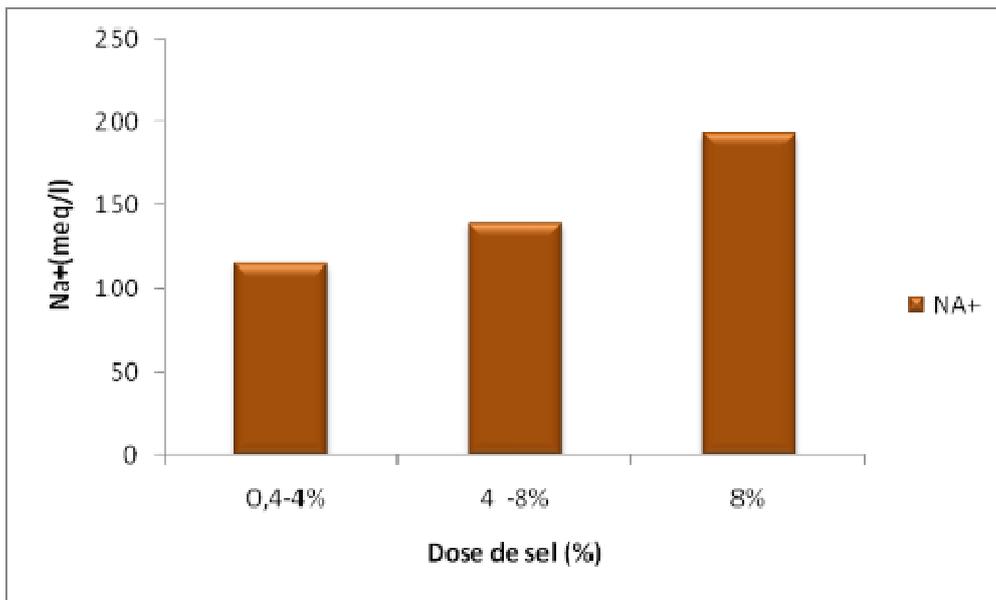


Figure. 23: Variation de la natrémie des souris avant le traitement

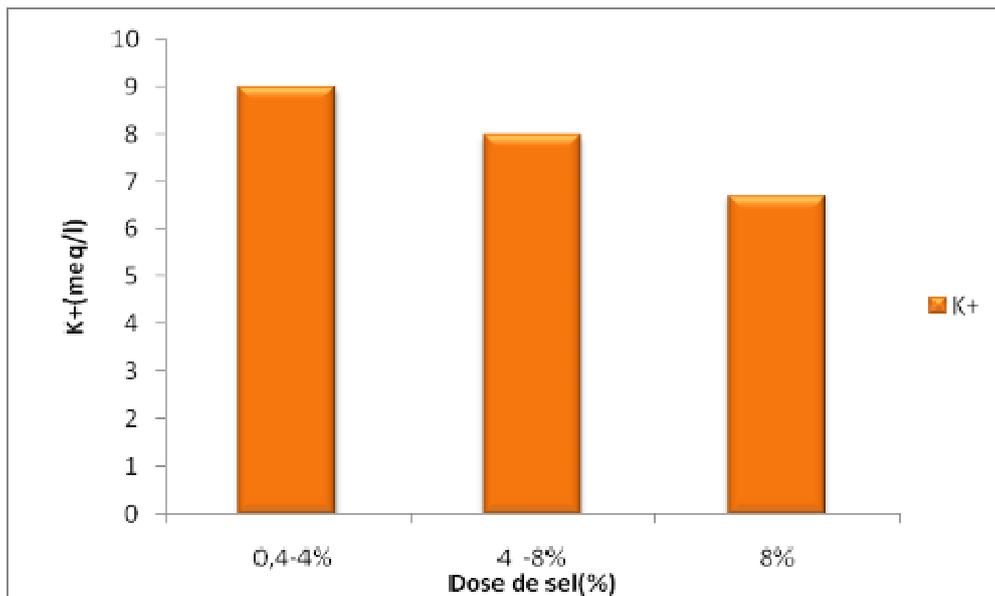


Figure. 24 : Variation de la Kaliémie des souris avant le traitement

D'après les **figures 23 et 24** nous remarquons que la concentration sanguine du sodium augmente et du potassium diminue avec l'augmentation des doses de sel administrées aux souris avant le traitement

Le sel de table est une source commune de sodium, donc une augmentation dans la concentration de sel provoque une augmentation de natrémie corrélée avec une diminution de kaliémie

La différence dans la concentration est engendrée par une ATPase de la membrane plasmique qui se comporte comme une pompe expulsant activement 3 ions Na⁺ vers l'extérieur de la cellule et important deux ions K⁺ vers l'intérieur, le transport de ces ions est étroitement couplé à l'hydrolyse de l'ATP (Horisberger, 2006)

IV .3 .1 .3 L'eau consommée

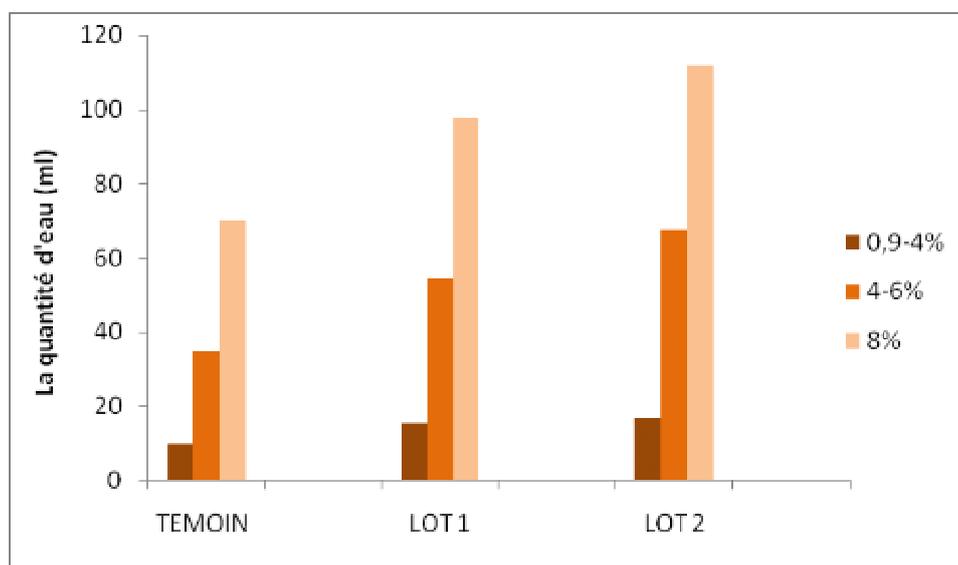


Figure. 25: Variation de la quantité d'eau consommée avant le traitement

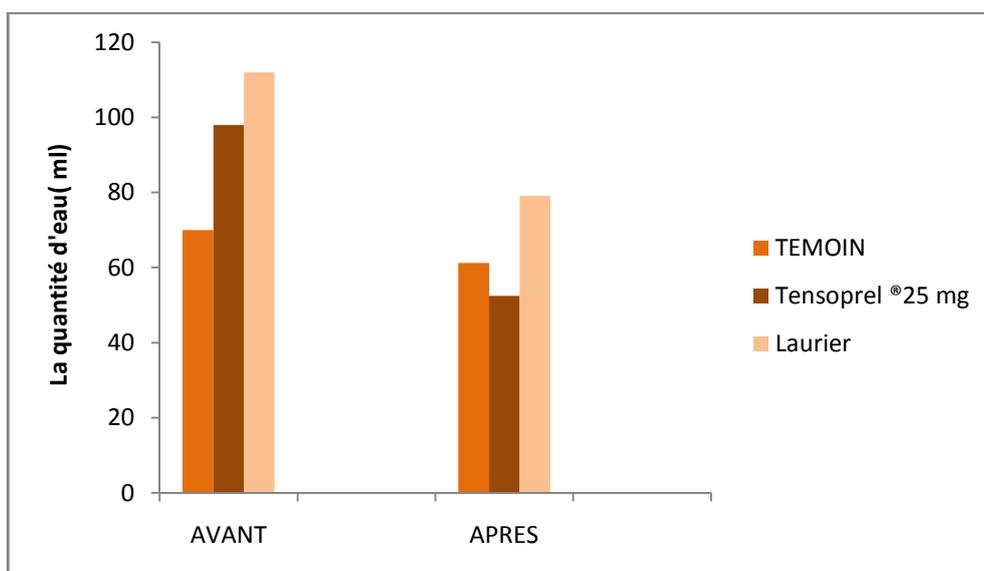


Figure. 26: Variation de la quantité d'eau consommée avant et après le traitement

La mesure de la quantité d'eau consommée avant le traitement (**Fig. 25**) augmente avec l'augmentation des doses de sel administrées, l'excès de Na⁺ augmente la pression osmotique. L'eau sera donc aspirée vers l'espace extracellulaire et les cellules seront vidées partiellement (**Deluzarche, 2006**), ce phénomène provoque la sensation de soif qui conduit l'animal à boire un volume d'eau approprié

Nous pouvons donc supposer qu'un arrêt dans la consommation de sel entraîne une diminution de la soif tel qu'il est illustré au niveau de la **Figure 26**. Cette même figure illustre la diminution de la quantité d'eau consommée chez les deux lots (laurier et Tensoprel®25mg) par rapport au témoin. Ceci est peut-être dû aux traitements (solution aqueuse de laurier et la solution médicamenteuse) qui sont une source d'hydratation capables de compenser le déséquilibre de la balance hydrique. De plus le Tensoprel®25mg a contribué à la diminution de la sensation de soif, inhibant le système rénine-angiotensine qui permet d'augmenter cette sensation (**Damy et al., 2007**)

IV .3 .2 Paramètres biochimiques après sacrifice

IV .3 .2.1 Glycémie

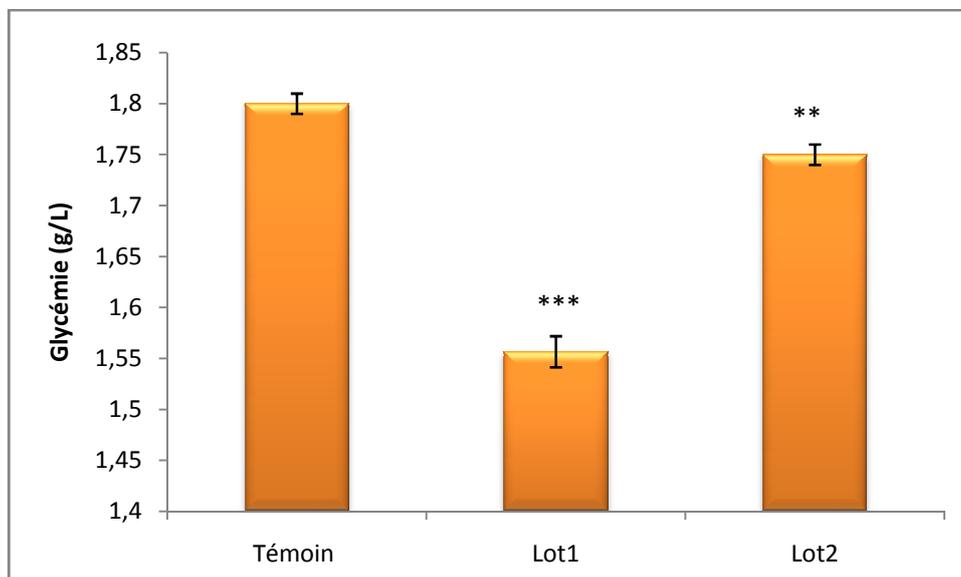


Figure. 27 Evaluation de la glycémie après traitements

Par l'analyse ANOVA, nous constatons une diminution hautement significative ($***P < 0,001$) de la glycémie chez le lot 1 tandis que la diminution est très significative chez le lot2 ($** p < 0,01$)

Les résultats obtenus après une semaine de traitement (**Fig. 27**) montrent que la glycémie est dans les normes pour les trois lots (17- 2,7g /l) (**Keeble,2009 ; Harkness et al ., 2010**) . La glycémie des souris traitées par le Tensoprel®25mg et celle traitées par l'infusé à 10 % de laurier est inférieure à la glycémie des souris témoins, sachant que la glycémie du lot traité par le Tensoprel®25mg (1,55g/l) est inférieure à la glycémie de laurier (1,75g/l)

Le Tensoprel®25mg donne de bon résultat sur la diminution de glycémie car l'inhibition de l'enzyme de conversion empêche la transformation de la bradykinine en peptide inactif ce qui permet la fixation de la bradykinine sur les récepteurs β et l'activation des voies métaboliques bénéfiques telles que la production d'ATP et de phosphocréatine tout en stimulant le transport de glucose (**Bascands et Girolami, 1996**) .Notre résultat est renforcé par une étude précédente(**Donnelly,1992**) qui montre que les IEC ont un effet bénéfique sur la tolérance au glucose

Les composants antidiabétiques du laurier noble (vitamine E, eugénol et tanins) favorisent l'amélioration de l'activité de l'insuline ce qui provoque une légère diminution de la glycémie des souris traitées par le laurier (**Paolisso et al .,1993 ;Goetz et Ghédira ,2012**)

IV.3 .2 .2 Urée

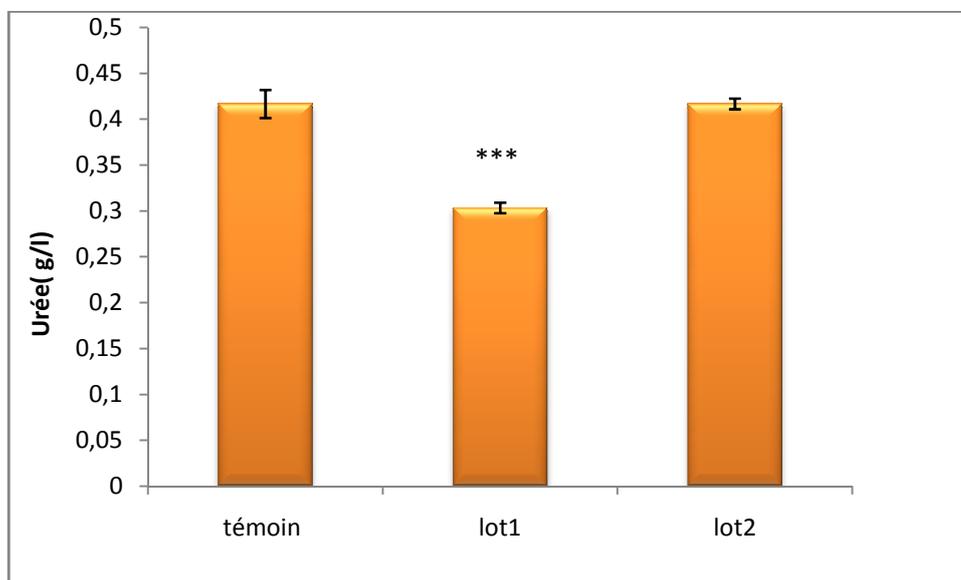


Figure. 28: Evaluation de l'urée après traitements

D'après le test ANOVA, une diminution hautement significative dans le taux d'urée est observée chez le lot1 (***) ($P < 0,001$), et aucune différence n'est observée chez le lot 2

Le taux d'urée dans le sang est dans la norme (0,3-0,5g/l) (Keeble,2009 ; Harkness et al ., 2010) pour les trois lots (Fig.28), mais l'urémie des souris traitées par le Tensoprel®25mg est plus faible par rapport aux autres lots. Ce résultat probablement dû à une hormone anti diurétique (ADH) qui augmente la réabsorption de l'urée (Klein, 2013). Elle est sécrétée principalement en réponse à l'angiotensine II, lorsque cette dernière est absente à cause de l'inhibition d'ECV il y a un manque d'ADH ce qui provoque une diminution de la réabsorption de l'urée (Damyet *al.*, 2007)

IV .3 .2 .3Créatinine

Aucun changement n'a été observé dans la créatinine pour les trois lots (4 g/l). Il ne semble pas y avoir d'altération rénale chez les souris car nous n'avons trouvé aucune augmentation dans la créatinine et l'urée. Les résultats observés pour le laurier sont en accord avec d'autres auteurs (ElMalti et Amarouch ,2009) qui ont indiqué qu'il n'y a aucun changement dans la concentration sanguine de la créatinine et de l'urée après l'administration des doses différentes du laurier noble.

IV.3 .2 .4 Ionogrammes sanguins



Figure. 29: Evaluation de la natrémie après sacrifice

D'après le test ANOVA, nous observons une diminution hautement significative dans le taux de la natrémie chez le lot1 et lot 2 (**P <0,001) par rapport au témoin

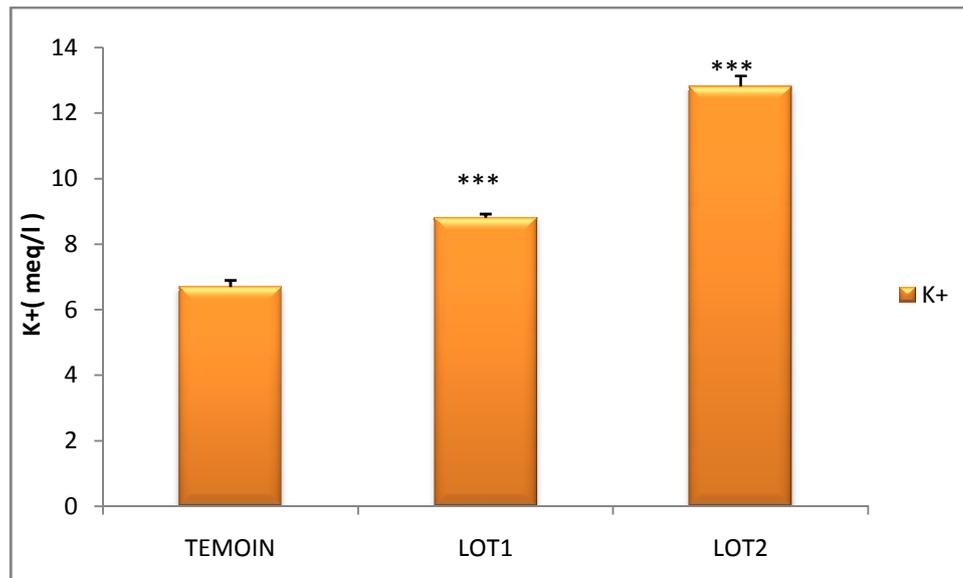


Figure. 30: Evaluation de la kaliémie après sacrifice

D'après le test ANOVA, on observe une augmentation hautement significative dans le taux de la kaliémie chez le lot1 et 2 (***P <0,001) par rapport au témoin

Après sacrifice les résultats montrent que le taux de sodium (Na) dans le plasma est élevé chez le témoin mais il est dans l'intervalle prescrit pour le lot1 et 2 (112-193meq/l) (Keeble,2009 ; Harkness et al ., 2010) (Fig. 29). La concentration de potassium est élevée pour le lot2 et conforme aux normes (5,1-10,4meq/ l) (Keeble,2009 ; Harkness et al ., 2010) pour le témoin et le lot1, sachant que la kaliémie de lot1 est supérieure au témoin (Fig. 30)

La concentration élevée de natrémie pour le témoin est corrélée à la dose élevée du sel administré pendant les cinq semaines. Cette concentration est ensuite réduite après traitement par le Tensoprel®25mg accompagnée par une augmentation du potassium. Selon le mode d'action de ce médicament, l'inhibition de l'enzyme de conversion entraîne une inhibition de la sécrétion d'aldostérone par la région corticale de la glande surrénale. Le rôle de cette hormone est donc annulé et à fortiori la rétention du sodium et l'élimination du potassium et l'hydrogène (Booth et al., 2002)

Nos résultats montrent également une diminution du sodium et une augmentation du potassium dans le lot2 en raison des propriétés diurétiques exercées par le laurier (Kivçak et Mert, 2002) et à la composition de cette plante qui est riche en certains minéraux essentiels, en particulier K⁺, Mg⁺⁺ (Guenaneet al ., 2016)

Le magnésium active d'autre part l'ATPase qui permet d'actionner les pompes à sodium et potassium et maintient la juste teneur de ces minéraux à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule (Boislève, 2016)

Listes des figures

Figure.1 : Le système Rénine-Angiotensine-Aldostérone	4
Figure.2 : devenir du médicament dans l'organisme	6
Figure.3 :Le mode d'action du captopril sur le fonctionnement du système rénine-angiotensine	7
Figure.4 : La forme d'emballage du Tensoprel®25mg	8
Figure.5 :Le parcours du médicament	10
Figure.6 : Aspect morphologique de <i>Laurusnobilis</i>	12
Figure.7 : Carte géographique représentant le site de récolte	14
Figure 8 : feuille fraîche et sèche du laurier noble	
Figure.9 :Chromatogramme après révélation	30
Figure.10 :Chromatogramme HPLC du standard de captopril	32
Figure.11 : Chromatogramme HPLC de captopril dans le produit fini	32
Figure.12 : Chromatogramme HPLC du standard de captopril	34
Figure.13 :Chromatogramme HPLC d'un des 10 comprimés du Tensoprel®25mg	34
Figure.14 :Chromatogramme HPLC du standard de disulfure de captopril dilué	35
Figure.15 : Chromatogramme HPLC du produit fini	35
Figure.16 : Chromatogramme HPLC du standard de captopril dilué	37
Figure.17 : Chromatogramme HPLC d'un quart des 40 comprimés du Tensoprel®25mg	37
Figure.18 :Résultats du dénombrement des germes aérobies totaux sur agar Caséine-soja	38
Figure.19 : Résultats de dénombrement des levures et des moisissures sur agar Sabouraud	38
Figure.20 : Résultats de dénombrement d' <i>E. Coli</i> sur agar MacConkey	39
Figure.21 :Variation des poids corporels des souris avant le traitement	40
Figure.22 :Variation des poids corporels des souris avant et après une semaine de traitement	41
Figure.23 :Variation de la natrémie des souris avant le traitement	42

Listes des figures

Figure.24: Variation de la Kalemie des souris avant le traitement	42
Figure.25 : Variation de la quantité d'eau consommée avant le traitement	43
Figure.26: Variation de la quantité d'eau consommée avant et après le traitement	43
Figure.27: Evaluation de la glycémie après traitements	44
Figure.28: Evaluation de l'urée après traitements	45
Figure.29: Evaluation de la natrémie après sacrifice	46
Figure.30: Evaluation de la kaliémie après sacrifice	47

Listes des figures



Listes des figures

Liste des tableaux

Tableau I : Classification de la PA selon l'ESH et ESC	2
Tableau II : Monographie du captopril selon la Pharmacopée Européenne 2017	5
Tableau III : Ecart limite en pourcentage de la masse moyenne	16
Tableau IV : conditions d'HPLC	20
Tableau V : Résultats de l'aspect du Tensoprel ®25 mg	27
Tableau VI : Résultats de la masse moyenne	27
Tableau VII : Résultats d'uniformité de masse	27
Tableau VIII: Résultat du temps de désagrégation (déitement)	29
Tableau IX: Résultat de la friabilité	38
Tableau X : Résultats de la dureté	28
Tableau XI: Résultat de perte à la dessiccation	29
Tableau XII: Résultats du taux de dissolution par un spectre UV	29
Tableau XIII: Résultats du dosage moyen (standard de captopril)	31
Tableau XIV: Résultats du dosage moyen (Essai)	31
Tableau XV: Résultats du dosage unitaire (standard de captopril)	32
Tableau XVI: Résultats du dosage unitaire (10 comprimés)	32
Tableau XVII: Résultats du dosage des impuretés (standard du disulfure de captopril)	34
Tableau XVIII: Résultats du dosage des impuretés (Essai)	34
Tableau XIX : Résultats du dosage des quarts (standard)	35
Tableau XX : Résultats du dosage des quarts (40 comprimés)	36
Tableau XXI : résultats de dénombrement des germes aérobie totaux	37
Tableau XXII : résultat de dénombrement des levures et des moisissures	38
Tableau XXIII: Résultats de dénombrement d' <i>E. Coli</i>	37

Liste des tableaux

Référence bibliographique

Allag H.2013 . bacilles à Gram négatif.policopie de cours .4p.(consultes le 12 /4 /2018) sur http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/bacterio3an-bacilles_gram_negatif.pdf

Antognini G.1987. "Les génériques", Journal Suisse de la Pharmacie, 14: 386p.

Apema R. O. G. E. R., Mozouloua D., Kosh-Komba E., NGOULE Y.et au Développement A.2011. Les plantes médicinales utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle par les tradipraticiens à Bangui.

AqilikhorasaniM.S.1992.Collection of drugs.EducationalOrganization,Tehran. pp : 624-630.

BakhoulI.2004.Contrôle de qualité et validation de différentes micro méthodes d'identification bactérienne. Thèse Pharmacie.

Ballabio R., et Goetz P. (2010). Huile de graine/fruit de laurier *Laurus nobilis* L., *Laurus azorica* (Seub.) Franco, *Laurus novocanariensis* Rivas Mart., Lousã, Fern. Prieto, E. Dias, JC Costa et C. Aguiar. *Phytothérapie*, 8(2), 141-144.

Bascands J. L ., et Girolami J. P. 1996. La bradykinine ;12 pp.582-92.

Beloued A.2005 .Plantes médicinales d'Algérie . 5ème édition. Ben aknoun (Alger).pp. 124-125 .

Beloued A.2005. Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires.Alger :124p.

Bibiane C ., et Nicole M .2005 .Pharma-Fiches, 4e édition, Montréal, Gaëtan Morin, pp : 26-27.

Bioslévej b .Métabolisme et physiopathologie du magnésium .2016.(consulte le 6/6 /2018) sur :www.sante-vivante.fr .

Blais R., Maïga A., et AboucacarA.1997. How different are users and non-users of alternative medicine. *Can J Public Health*, 88(3), pp :159-62.

BodinL .La définition de l'hypertension artérielle .(consultation le 9-4-2018)

Sur : www.luc-bodin.com/2011/05/01/la-definition-de-lhypertension-arterielle

Référence bibliographique

Booth R. E., Johnson J. P., et Stockand J. D. 2002. Aldosterone. *Advances in physiology education*, 26(1),pp: 8-20.

Botineau M. 2015. Guide des plantes à fruits charnus comestibles et toxiques .édition : brigittepeyrot. lavoisier,Paris. ISMB :978-2-7430-2046-0

Brosse j. 2004 .larousse des arabes :dictionnaire des arabes et des arbustes . edit messagerie .Canada .pp : 571.

Brown N.J., et Vaughan DE. 1998. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Circulation* 1998 ; 97 .pp: 1411-1420.

Bruneton J. 1999 .Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Intercept

Burnier A. C. M. 2001. Consommation de sel et hypertension, un sujet qui reste d'actualité. *Rev Med Suisse*, 3, 21594.

Buyck, J. 2008. Rôles du calcium et des transports ioniques de l'épithélium des voies Aériennes dans la réponse à l'agression septique par *Pseudomonas aeruginosa* (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II).

Chamontin B. 130- hypertension artérielle de l'adulte : épidémiologie ,étiologie ,physiopathologie ,diagnostique ,évolution ,pronostic et traitement de l'hypertension artérielle essentielle.

Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Research Council. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. 2010. 8th edition. ISBN: 0-309-15401-4. pp:1-248.

Coulibaly M. B. O. 2013. Etude des effets indésirables liés aux Médicaments antihypertenseurs au CS Réf CI du district de Bamako .

Crespo K. 2016. Modularisation épistatique des loci à trait quantitatif associés à la pression artérielle et identification de gènes candidats pour l'hypertension.

Damy T., Guellich A., Vermes E., Deswarte G., et Hittinger L. 2007. Physiologie et physiopathologie du système rénine-angiotensine-aldostérone. *Mt cardio*, 3(4),pp : 257-262 .

Référence bibliographique

- Deluzarche c .2016** .Pourquoi... .A-t-on soif quand on mange salé. L'Internaute (consulte le20/05/2018) sur : www.linternaute.com .
- Demir V., Guhan T., Yagcioglu A.K., et Degirmencioglu A. 2004.** Mathematical modeling and the Determination of some Quality Parameters of Air-dried Bay leaves. Biosystems Engineering. 88 (3) ,pp: 325-335
- Demo A., Petrakis C., Kefalas P., et Boskou D. 1998.** Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plant leaves. Food research international, 31(5), pp: 351-354.
- Dictionnaire.doctissimo.fr .(consulte 17 /03 /2018) sur :<http://www.doctissimo.fr/principe-actif-5174-CAPTOPRIL.htm>
- Donnelly R .1992.** Angiotensin-converting enzyme inhibitors and insulin sensitivity : Metabolic effects in hypertension, diabetes and heart failure. J Cardiovasc Pharmacol; 20 (Suppl. 11).pp : 38-44.
- Duong R., Brion F., Lelang H., Yannoutsos A., et Blacher J .2016.** Étude physiopathologique de l'hypertension artérielle essentielle. EMC - Cardiologie ;11(4) ,pp :1-9 [Article 11-301-A-20].
- El Malti J., et Amarouch, H. 2009.** Antibacterial effect, histological impact and oxidative stress studies from Laurusnobilis extract Journal of food quality, 32(2), pp:190-208.
- Esunge P. M. 1991.** From blood pressure to hypertension: the history of research. J R Soc Med. 84 (10), pp: 621. PMC 1295564 ,PMID 1744849.
- Faure S., Chillon g .m., Nelly E .S., Corinne M.C., et Partrinck P.2011** . Fiche pratique - Médicaments ciblant le système rénine angiotensine. université d'angers, UNSPF, France
- Fiorini C., David B., Fouraste I., et Vercauteren J.1998.** Acylated kaempferol glycosides from Laurusnobilis leaves. Phytochemistry. 47.ppp: 821–824.
- Fourcade L., Paule P., et Mafart B. 2007.** Hypertension artérielle en Afrique

Référence bibliographique

subsaharienne. Actualité et perspectives. Médecine tropicale, 67(6).pp : 559-568

Gherib H., Carbonell-Barrachina A ., Cano-Lamadrid M., Krika F.,

Berrabah M.,,et Bakchiche B .2016. Minerals analysis, antioxidant and chemical composition of extracts of *Laurusnobilis* from southern Algeria

Goetz P.,GhédiraK.2012.“Phytothérapie anti-infectieuse”. Springer- Verlag,France ,Paris, pp : 286.

Gómez-Coronado D. J., Ibanez E., Rupérez F. J., et Barbas C.2004. Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin. Journal of Chromatography A, 1054(1-2),pp: 227-233

Guidelines J . 2007 .Hypertens .ESH ESC;25 .pp:1105 -1187

Harkness J.E .,Vandewoude S ., Turner P.V ., et al. 2010 . Harkness and wagner’s biologie and medicine of rabbits and rodents .5eme edition. Ames: Wiley and Balackwell,pp:107-193

Horisberger J. 2006. Mécanisme du transport des cations Na. + et K. + par la Pompe à sodium. M/S :médecine sciences, 22(1) .pp : 27–28. doi:10.7202/012227ar

Iserin, P. 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. London, ypogly Edith Ybert, Tatiana Delasalle- Feat. Vol 01, 335p.

IssiakaG. 2005. Etude du traitement traditionnel de l’hypertension artérielle au Mali (Doctoral dissertation, Thèse de pharmacie, Bamako, 126p).

Jungwee P .2005. Le recours aux soins de santé non traditionnels, Statistique Canada, rapport sur la santé, 16(2).

Keeble E .2009 . Rodents : Biology and Husbandry . In :Keeble E., Meredith A ., Basava manual of rodents and ferrets. Gloucester:British Small Animal Veterinary Association ,PP: 1-17

Kivcak B., Mert T.2002. Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurusnobilis*L.leaf extracts. Fitoterapia. 73.pp: 242-243.

Référence bibliographique

Klein, BG. 2013.« Solute reabsorption ». In Cunningham's textbook of veterinary physiology, 5th ed. St. Louis, Mo: Elsevier/Saunders. pp.469-80.

Kotchen TA.2011. Historical trends and milestones in hypertension research: a model of the process of translational research.Hypertension. 58 (4).pp : 522–38. doi:[10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.177766](https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.177766). PMID 21859967.

Lahlou S., Figueiredo A. F., Magalhães,P. J. C., et Leal-Cardoso J. H. 2002. Cardiovascular effects of 1, 8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oils, in normotensive rats. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 80(12), pp:1125-1131.

Lefebvre J. 2008. Polymorphismes génétiques et variations interindividuelles de la réponse aux agents antihypertenseurs(Doctoral dissertation, Université Laval).

Le Hir A.2001 . Biodisponibilité des formes orales. In : Abrégés de pharmacie galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments, 8ème édition. Masson. pp: 290-304.

Luc B. 2015. L'hypertension artérielle discrète et trompeuse. le journal n° 22 [Alternative Santé https://www.alternativesante.fr/.../l-hypertension-arterielle-discrete-et-trompeuse](https://www.alternativesante.fr/.../l-hypertension-arterielle-discrete-et-trompeuse) Dernière visite : 19/02/18

Ménard J. 2010. Les va-et-vient de l'histoire de l'hypertension artérielle. La Revue du Praticien, 60, pp : 1-6.

Merinal 2018 (technique interne).

Munier R. L.1968. La chromatographie sur couche mince: Principes et possibilités. QualitasPlantarum et Materiae Vegetabiles, 16(1-4),pp : 12-34.

Notice merinal 2016.

OMS.2002 ; Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002 – 2005 , Genève ,135 p.

Ouali M. 2008, L'Algérie encourage l'utilisation de médicaments génériques. Maghrebia (revue de presse). (Consulté le 23/02/2011) sur [:http://magharebia.com/fr/articles/awi/features/2008/03/14/feature-01](http://magharebia.com/fr/articles/awi/features/2008/03/14/feature-01)

Référence bibliographique

Paolisso G., D'Amore A., Giugliano D., Ceriello A., Varricchio M., et D'onofrio F. 1993. Pharmacologic doses of vitamin E improve insulin action in healthy subjects and non-insulin-dependent diabetic patients. *The American journal of clinical nutrition*, 57(5), pp :650-656.

PersuA., Krzesinski J. M., et Van de Borne P. 2007. Nouvelles recommandations (2007) des Sociétés Européennes d'Hypertension et de Cardiologie pour la prise en charge de l'hypertension artérielle. *Louvain médical*, 126(7), pp :225-237.

Pfeffer M. A., Pfeffer J., Mirsky I., et Iwai J. U. N. I. C. H. I. 1984 .Cardiac hypertrophy and performance of Dahl hypertensive rats on graded salt diets. *Hypertension*, 6(4), pp :475-481.

Poles J M ,2006 . la culture des plantes aromatique .editartemis : 382p .

Reynaudj.la flore du pharmacien .editmedicales internationales .Paris :257p.

Sayyah M., Valizadeh J., et Kamalinejad M. 2002. Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurusnobilis* against pentylenetetrazole-and maximal electroshock-induced seizures. *Phytomedicine*, 9(3),pp: 212-216.

Schraub S. 2002. Quelle attitude devant une demande de médecine parallèle. *Oncologie*, 4(6),pp : 416-419 .

Soreq H., et Seidman, S. 2001. Acetylcholinesterase—new roles for an old actor. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(4), 294

Stéphan J. 2010. Hypertension artérielle: acupuncture expérimentale. *Acupuncture et Moxibustion*, 9(2) .pp :136-145

Tisseyre M. 1983, "introduction et définition des médicaments génériques", *laboPharma problèmes techniques*, 31, 329 .pp: 145-146

VanHees T. 2009. Le devenir du médicament dans l'organisme: Quand l'effet du médicament dépasse la volonté thérapeutique.

Veran N. 2009 . du diplôme d'études spécialises de pharmacie hospitalier et des collectivités .

Référence bibliographique

Conclusion

Dans notre étude visant à contrôler la qualité du Tensoprel® 25 mg et à comparer leur effet avec une plante médicinale *Laurus nobilis* sur quelques paramètres biochimiques chez le modèle murin, nous avons trouvé les résultats suivants :

Les analyses physico-chimiques du produit fini révèlent que ce dernier est de bonne qualité en raison de la pureté chimique des matières premières et de la bonne maîtrise de la chaîne de fabrication.

L'analyse microbiologique du produit fini reflète sa pureté microbiologique affirmée par l'absence des levures et des moisissures ainsi que l'absence totale d'*E. coli*, ceci témoigne du respect des conditions de conservation au niveau du magasin de stockage

A l'issue des résultats obtenus ; nous pouvons dire que le lot étudié du Tensoprel®25 mg en tant que médicament peuvent être délivrés aux malades en toutes sécurités. Cela veut dire qu'ils répondent aux exigences décrites dans le dossier d'autorisation de mise sur le marché de ce médicament

Les résultats de l'étude biologique ont révélé que la récupération des poids corporels initiaux après un régime riche en sel est observée seulement chez les souris traitées par le Tensoprel®25mg. Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux obtenus pour la baisse d'eau consommée suite aux différents traitements. En effet, la diminution d'eau consommée est plus importante chez les souris traités par le laurier et le Tensoprel®25mg suivis par le témoin

Après sacrifice, le traitement des animaux par le Tensoprel®25mg et le laurier, a permis d'obtenir une baisse de glycémie par rapport au témoin, une diminution assez importante a été obtenue par le tensoprel®25mg que par le laurier

Pour les effets sur le bilan rénal on a obtenu une réduction des taux sériques de l'urée chez les souris traitées par le Tensoprel®25mg, une diminution de la natrémie et une augmentation de la kaliémie pour le lot 1 et 2, sachant que le taux de potassium dans le sang est plus élevée chez les souris traitées par le laurier que les souris traitées par le Tensoprel®25mg, en revanche aucun changement n'a été observé dans la créatinine pour les trois lots.

D'après les résultats obtenus, le laurier montre une efficacité diurétique moindre par rapport au produit pharmaceutique, ce qui suggère que les traitements naturels ne peuvent pas remplacer les traitements médicamenteux sans l'avis de médecin et un contrôle quotidien

Ce travail gagnerait à être approfondi par :

Une prolongation dans la durée de ce remède naturel ou bien l'isolement de composés à propriétés thérapeutiques peuvent donner une efficacité meilleure.

D'après cette étude, nous pouvons suggérer aux malades de se faire traiter à la fois par les médicaments et les plantes pour obtenir des résultats meilleurs qu'un traitement médicamenteux seul tout en veillant à ce qu'il n'y ait pas d'effet antagoniste ou néfaste sur l'état de santé du patient. En outre, un contrôle de la dose des remèdes naturels administré doit régulièrement être effectué sous surveillance médicale.

Annexe 1

Appareillages et produits utilisés dans merinal



Pro pipette



Portoir



Pipette



les Sabots



Creuset



Mortier



spatule



filtre seringue



fioles jugées

béchers

Erlenmeyers

Entonnoirs



Eprouvette



tube à essai



pipette gradue



Flacon

Annexe



Agitateur



Ultrason



Etuve



Bec benzène



Plaque chauffante



PH mètre



Thermomètre à sonde



balance



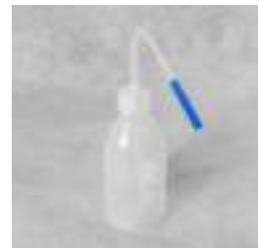
Boites de pétries



Gants à usage unique



seringue



pissette

Annexe



Dessiccateur



Friabilimètre



compteur de colonies



centrifugeuse



Désagréateur



Dissolutest



Cuve en verre et plaque CCM



Duromètre



Spectrophotomètre



HPLC



Mélangeur



Compresseur



Machine de conditionnement



les bins

Annexe



Méthanol HPLC



Méthanol



Standard de captopril



d'hydroxyde d'ammonium



Toluène



HCL



Acide ortho phosphorique



Acide 5-5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque



Acide acétique glacial



standard de Disulfure de captopril

Annexe 2

Appareillages et produits utilisés dans saidal



Les cages



Les biberons



Seringue de gavage



Bistouri



Bécher



Tube héparine



Gants à usage unique



Spatule



balance pour les souris



balance



le sel

Annexe 3

Les génériques du captopril

Classe thérapeutique	Nom du médicament
Cardiologie et angiologie	• CAPOTEN ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOLANE ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL ARROW ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL BAYER ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL BIOGARAN ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL CRISTERS ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL EG ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL GNR ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL IREX ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL MSD ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL MYLAN ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL QUALIMED ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL RATIOPHARM ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL RPG ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL SANDOZ ®
Cardiologie et angiologie	• CAPTOPRIL TEVA ®

Annexe

Cardiologie et angiologie	<ul style="list-style-type: none">• CAPTOPRIL ZENTIVA ®
Cardiologie et angiologie	<ul style="list-style-type: none">• CAPTOPRIL ZYDUS ®
Cardiologie et angiologie	<ul style="list-style-type: none">• LOPRIL ®
Cardiologie et angiologie	<ul style="list-style-type: none">• NOYADA ®
Cardiologie et angiologie	<ul style="list-style-type: none">• TENSOPREL ®
Urologie néphrologie	<ul style="list-style-type: none">• CAPTOLANE ®
Urologie néphrologie	<ul style="list-style-type: none">• CAPTOPRIL ARROW ®
Urologie néphrologie	<ul style="list-style-type: none">• CAPTOPRIL BIOGARAN ®
Urologie néphrologie	<ul style="list-style-type: none">• CAPTOPRIL CRISTERS ®
Urologie néphrologie	<ul style="list-style-type: none">• CAPTOPRIL MSD ®
Urologie néphrologie	<ul style="list-style-type: none">• CAPTOPRIL MYLAN ®
Urologie néphrologie	<ul style="list-style-type: none">• CAPTOPRIL RATIOPHARM ®
Urologie néphrologie	<ul style="list-style-type: none">• CAPTOPRIL RPG ®
Urologie néphrologie	<ul style="list-style-type: none">• CAPTOPRIL SANDOZ ®
Urologie néphrologie	<ul style="list-style-type: none">• LOPRIL ®
Urologie néphrologie	<ul style="list-style-type: none">• NOYADA®
Cardiologie e angiologie	<ul style="list-style-type: none">• Tensoprel®

Annexe 4

Bulletin d'analyse de la matière première (captopril)

Contrôle	Normes	Résultat
Aspect	Poudre cristalline , blanche a sensiblement blanche	Conforme
Solubilité dans :		
l'eau	Soluble	Conforme
chlorure de méthylène	Facilement soluble	Conforme
méthanol	Facilement soluble	Conforme
solution diluée	Se dissout	Conforme
d'hydroxydes		

Contrôle	Normes	Résultat
Identification		
pouvoir rotatoire spécifique (substance desséchée)	-132 a -127	-129
infrarouge	Comparable au spectre de référence captopril SCR	CONFORME
Essai :		
Aspect de la solution	La solution S est limpide et incolore	Conforme
Ph	2 - 2,6	2,4
Pouvoir rotatoire spécifique (substance desséchée)	-132 a -127	- 129
Impureté F par CPG (%)	≤0,2	NF

Annexe

Contrôle	Normes	Résultat
Substance apparentées par HPLC :		
impureté A %	≤ 1	0
impureté J %	$\leq 0,2$	0
impureté B %	$\leq 0,15$	0
impureté C %	$\leq 0,15$	0
impureté D %	$\leq 0,15$	0
impureté E %	$\leq 0,15$	0
Impureté non spécifique %	$\leq 0,1$	Conforme
Total %	$\leq 1,2$	0
Perte a la dessiccation %	≤ 1	0,1
Cendre sulfurique %	$\leq 0,2$	0,01
Dosage (%)	98 – 101 ,5	100,3
Substance desséchée		

Annexe 5

Tableau : le rapport Km de différentes espèces

Species	Reference body weight (kg)	Body surface area (m ²)	To convert dose in mg /kg to dose in mg /m ² divide by km	To convert human dose in mg /kg to AED in mg/kg either	
				Multiply human dose by	Divide human dose by
Human	60	1.62	37	/	/
Mouse	0,02	0,007	3	12,3	0,081
Rat	0,15	0,025	6	6,2	0,162
Hamaster	0,08	0,016	5	7,46	0,135
Dog	10	0,50	20	1,8	0,541

Annexe 6

Tableau : Résultats de peser des 20 comprimés (La masse moyenne et uniformité de masse).

	La masse (mg)									
Début	135,7	134,4	134	133 ,5	136	137 ,6	135,4	135,7	136	133,5
Milieu	135	135 ,2	136	132	134	133	138 ,5	137	136	135 ,7
Fin	135,3	132 ,5	136	133,5	135,7	136,4	135,7	134,8	134	133,1

	La masse (mg)									
Début	138	137	132 ,3	138 ,8	135	133,7	133,5	138,4	133	135
Milieu	134	136	133.7	137.9	134 ,3	135	138.1	132.9	134	135
Fin	136,6	137	135	138,4	139,2	133,7	137,8	138,2	132 ,9	139

Tableau : La masse moyenne de 20 comprimés (dosage moyen)

	Cp 1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6	CP7	CP8	CP9	CP10
La Masse (mg)	134 ,34	134 ,34	133,34	135 ,34	134,34	134	134,68	134,17	132,51	136,34
	CP11	CP12	CP13	CP14	CP15	CP16	CP17	CP18	CP19	CP20
La Masse (mg)	133,17	135,51	134,34	132,34	136,34	132,34	136,34	134,34	134,34	134,34
La masse moyenne (mg)	134 ,34									

Annexe

Tableau : Les formules de calcul du dosage unitaire

Variable	Définition	Conditions	Valeur
Equation	Moyenne des teneurs individuelles(x1,x2 , ..) Exprimée en pourcentage de la valeur indiquée sur l'étiquette		
x1, x2,.....xn	Teneur individuelle des unités examinées, exprimée en pourcentage de la valeur indiquée sur l'étiquette		
n	Effectif de l'échantillon (nombre d'unités le constituant)		
k	Constante d'acceptabilité	Si n=10 Si n=30	2,4 2,0
s	Ecart type de l'échantillon		$\left[\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1} \right]^{1/2}$
M (cas 1) A appliquer lorsque T≤101,5	Valeur de référence	Si 98,5pour cent ≤Equation ≤101,5pour cent, alors Si Equation <98,5pour cent, alors Si Equation > 101,5pour cent, alors	M=Equation (VA= ks) M =98,5 % (VA=98,5-Equation +ks) M=101,5 pour cent (VA= Equation-101,5 +ks)

Annexe

M (cas 2) A appliquer lorsque T>101,5	Valeur de référence	Si 98,5pour cent $\leq \text{Equation} \leq T$, alors	M=Equation (VA= ks)
		Si Equation <98,5pour cent, alors	M =98,5 % (VA=98,5-Equation +ks)
		Si Equation> T pour cent, alors	M=T pour cent (VA= Equation-T +ks)
T	teneur cible par unité de prise lors de la fabrication, exprimée en pourcentage de la valeur indiquée sur l'étiquette. sauf indication contraire, T est égal à 100%, ou T est la teneur cible par unité de prise autorisée du fabricant		

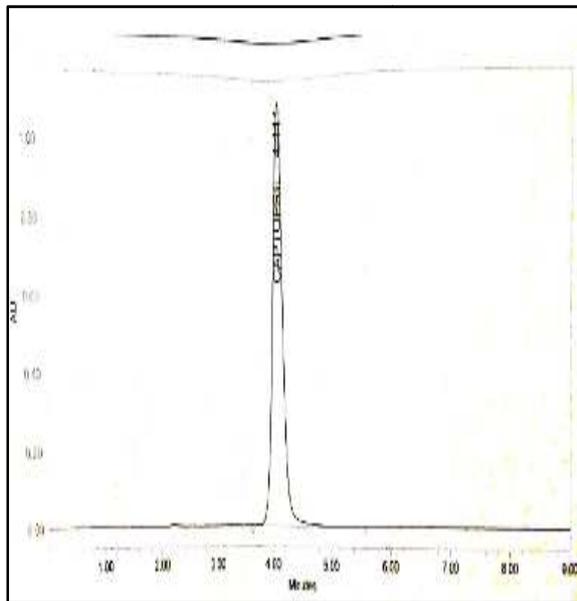
Calcul de l'écart type :

$$S = [(94,18-96,79)^2 + (95,70 -96,79)^2 + (95,76 -96,79)^2 + (102,26 -96,79)^2 + (96,14 -96,79)^2 + (96,76 -96,79)^2 + (99,98 -96,79)^2 + (94,85 -96,79)^2 + (96,06 -96,79)^2 + (96,23 -96,79)^2 / 10-1]^{1/2}$$

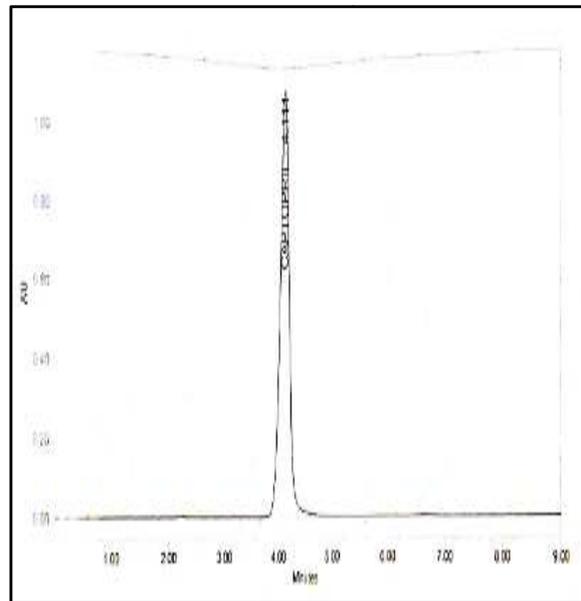
$S = 2,4684$

Annexe

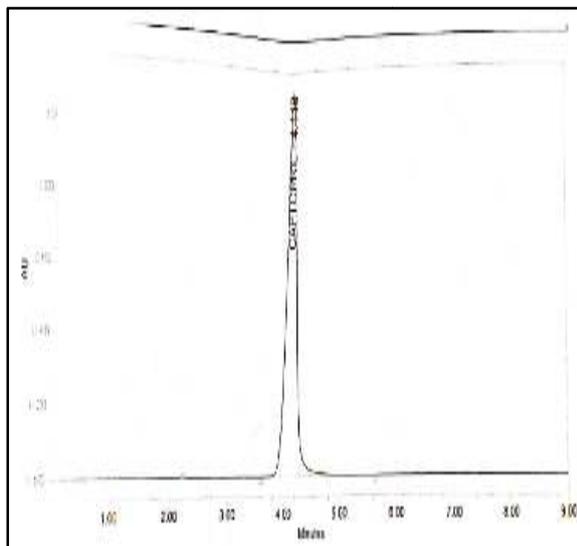
Chromatogramme HPLC des 10 comprimés du Tensoprel ®25mg respectivement (le dosage unitaire)



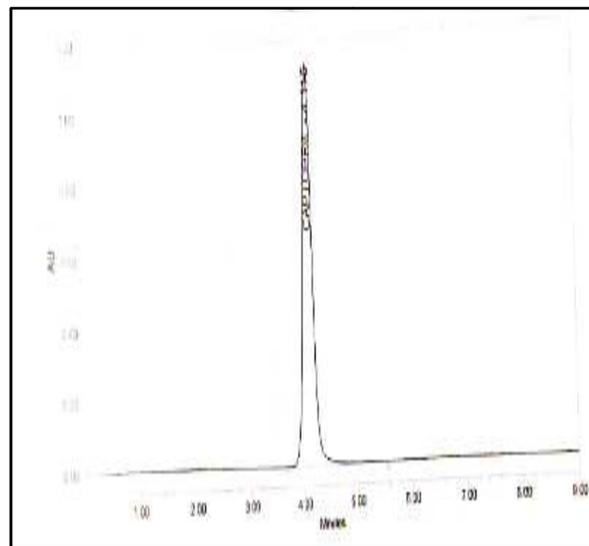
Comprimé 1



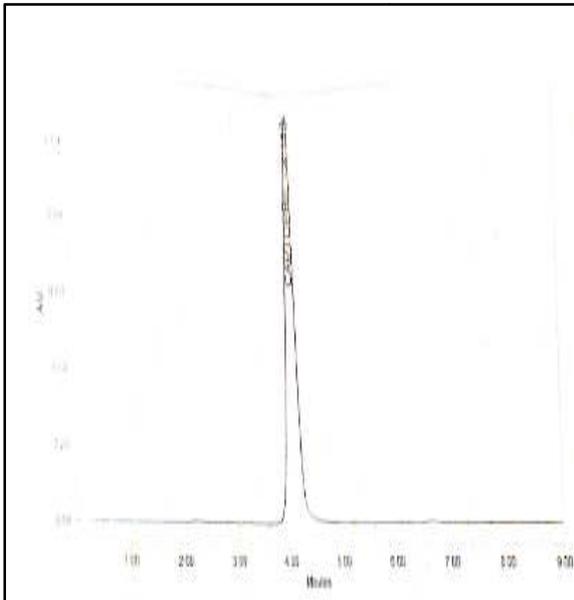
Comprimé 2



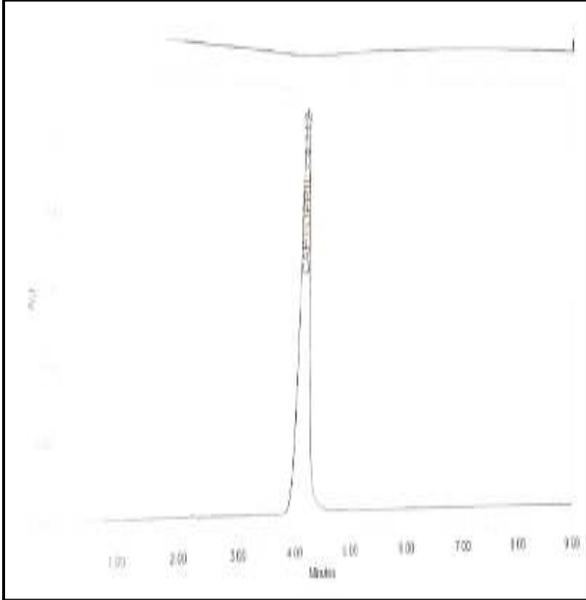
Comprimé 3



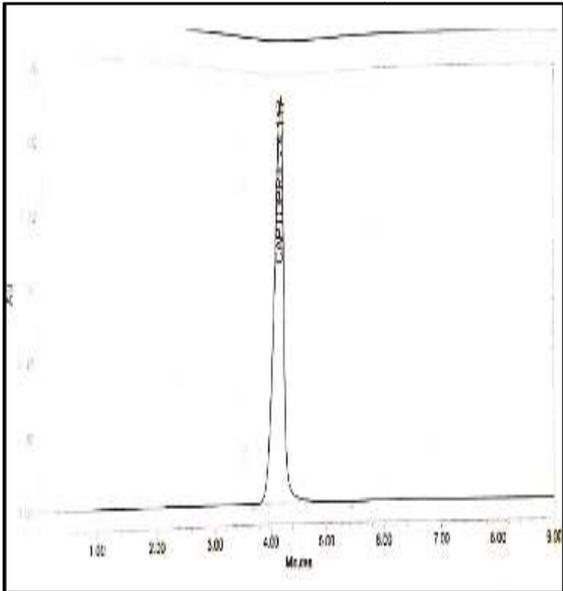
Comprimé 4



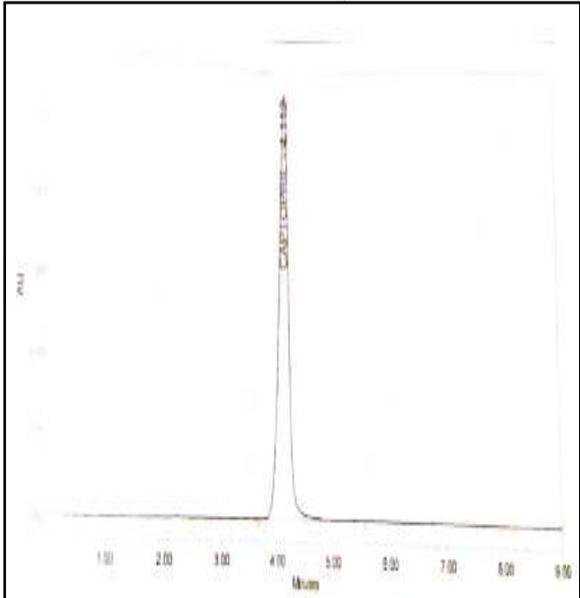
Comprimé 5



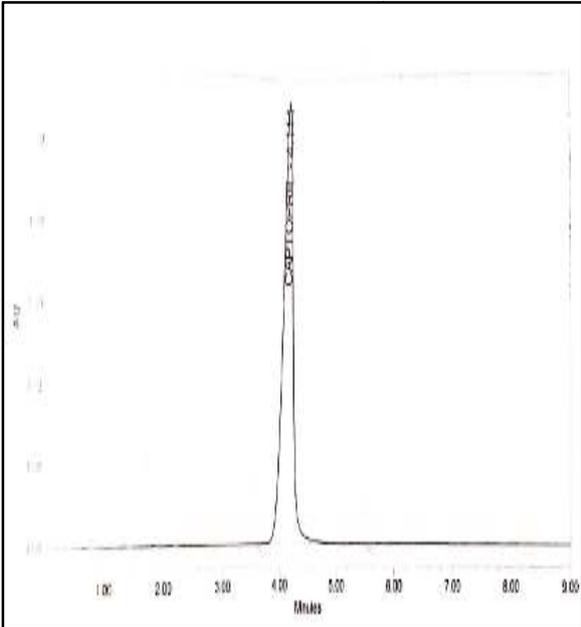
Comprimé 6



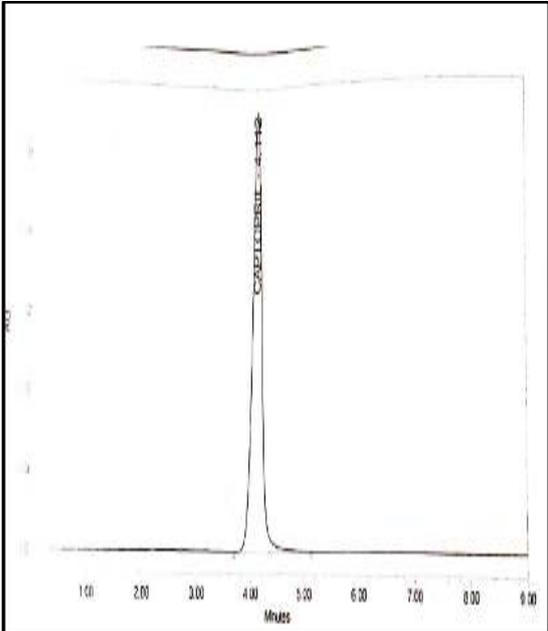
Comprimé 7



Comprimé 8



Comprimé 9



Comprimé 10

Glossaire

Principe actif : Le terme de principe actif désigne une substance qui possède des propriétés thérapeutiques

Le système rénine-angiotensine-aldostérone : C'est un système hormonal que l'on trouve dans le rein et qui sert à préserver l'homéostasie hydrosodée.

L'aldostérone : est une hormone sécrétée par les glandes surrénales, elle joue un rôle dans les variations de la tension artérielle

La rénine : est une substance enzymatique, sécrétée principalement par les appareils juxta-glomérulaires du rein. Elle transforme une substance plasmatique fabriquée par le foie, l'angiotensinogène, en angiotensine I

Un vasodilatateur : est une substance qui permet de dilater les vaisseaux sanguins.

Un vasoconstricteur : est une substance qui agit de façon à rétrécir les vaisseaux sanguins

Un diurétique : est une substance qui entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire et qui peut être utilisée notamment pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque, certains œdèmes et l'hyperkaliémie.

Un bêta-bloquant est un médicament utilisé en cardiologie qui bloque l'action des médiateurs du système adrénergique tels que l'adrénaline.

Les inhibiteurs calciques ou antagonistes du calcium sont des médicaments qui permettent d'inhiber le transfert membranaire du calcium dans les cellules musculaires cardiaques et les cellules musculaires vasculaires.

Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II : Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA-II) bloquent l'effet de l'angiotensine II au niveau des récepteurs AT1 de l'angiotensine. Leurs effets sont comparables à ceux des Inhibiteurs de l'enzyme de conversion mais sont mieux tolérés que ces derniers.

Pharmacopée : est un ouvrage réglementaire dessiné aux professionnels de santé qui définit les critères de pureté des matières premières ou des préparations entrant dans la fabrication de médicament.

