

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 10 juin 2016  
Par M. Clément HAECK**

---

**Etudes préliminaires pour le développement de formulations injectables à  
action prolongée combinant une contraception et une prévention du VIH**

---

**Membres du jury :**

**Présidente :**

Mme SIEPMANN Florence, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Lille

**Assesseurs :**

Mme NEUT Christel, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Lille

Mme PINÇON Claire, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Lille

**Membres extérieurs :**

Mme AUFFRET Marine, Pharmacien - Praticien Hospitalier, Centre Régional de  
Pharmacovigilance du Nord - Pas de Calais à Lille

M. TABARAN Luc, Pharmacien des armées, Établissement de ravitaillement  
sanitaire des armées de Marolles

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 10 juin 2016  
Par M. Clément HAECK**

---

**Etudes préliminaires pour le développement de formulations injectables à  
action prolongée combinant une contraception et une prévention du VIH**

---

**Membres du jury :**

**Présidente :**

Mme SIEPMANN Florence, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Lille

**Assesseurs :**

Mme NEUT Christel, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Lille

Mme PINÇON Claire, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Lille

**Membres extérieurs :**

Mme AUFFRET Marine, Pharmacien - Praticien Hospitalier, Centre Régional de  
Pharmacovigilance du Nord - Pas de Calais à Lille

M. TABARAN Luc, Pharmacien des armées, Établissement de ravitaillement  
sanitaire des armées de Marolles



### Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :	Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
Vice- présidents :	Professeur Alain DUROCHER Professeur Régis BORDET Professeur Eric KERCKHOVE Professeur Eric BOULANGER Professeur Frédéric LOBEZ Professeur Damien CUNY Professeur Benoit DEPREZ Professeur Murielle GARCIN Monsieur Pierre RAVAUX Monsieur Larbi AIT-HENNANI Monsieur Antoine HENRY
Directeur Général des Services :	Monsieur Pierre-Marie ROBERT

### Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :	Professeur Damien CUNY
Vice-Doyen, 1 <sup>er</sup> assesseur :	Professeur Bertrand DECAUDIN
Assesseur en charge de la pédagogie	Dr. Annie Standaert
Assesseur en charge de la recherche	Pr. Patricia Melnyk
Assesseur délégué à la scolarité	Dr. Christophe Bochu
Assesseur délégué en charge des relations internationales	Pr. Philippe Chavatte
Assesseur délégué en charge de la vie étudiante	M. Thomas Morgenroth
Chef des services administratifs :	Monsieur Cyrille PORTA

### Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie Clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie Clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

## Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie Clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie Thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et économie Pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Droit et économie Pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M.	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie Organique
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

## Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

## Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie Thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie (90%)
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie Cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie

M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie Industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie Cellulaire (80%)
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie (80%)
Mme	CHARTON	Julie	Chimie Organique (80%)
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie (80%)
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie Cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mme	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacologie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie Thérapeutique 1
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie Pharmaceutique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	WILLEMAGNE	Baptiste	Chimie Organique
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL

### Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie Pharmaceutique

### Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

### Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

### Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	CUCCHI	Malgorzata	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et économie Pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

### AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEKYNDT	Bérengère	Pharmacie Galénique
M.	PEREZ	Maxime	Pharmacie Galénique



## ***Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille***

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX  
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64  
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

# Remerciements

A **Madame Florence SIEPMANN**, pour m'avoir soutenu pendant mes études et ma thèse ainsi que pour me faire l'honneur de présider cette thèse : veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de mes remerciements les plus sincères. Je n'oublierai jamais votre aide et votre disponibilité.

A **Madame Christel NEUT**, pour votre dévouement, votre gentillesse et vos encouragements tout au long de mes études. Soyez assurée de ma gratitude et de mon profond respect.

A **Madame Claire PINÇON**, pour votre bonne humeur et pour m'avoir donné le goût d'apprécier les statistiques malgré les difficultés. Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail.

A **Madame Marine AUFFRET**, pour l'honneur que vous me faites de siéger parmi les membres du jury, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance. Un grand merci pour tout ce que vous m'avez apporté durant mon stage en pharmacovigilance et pour votre sympathie. Je vous souhaite le meilleur pour le futur.

A **Monsieur Luc TABARAN**, pour avoir accepté de venir jusqu'à Lille pour m'aider à conclure cette scolarité et me faire le privilège de faire parti de mon jury. Merci beaucoup pour tes relectures et commentaires avisés, cette thèse n'aurait pas été possible sans toi !

A Messieurs Karl Malcolm et Thakur R.R. Singh, pour m'avoir permis de travailler sur ce projet pour ma thèse de doctorat en sciences et m'avoir autorisé à utiliser une partie de mes résultats pour écrire cette thèse d'exercice.

A l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), pour financer indirectement ce passionnant projet.

A mes parents, pour votre soutien à toute épreuve. Je n'aurais jamais pu être Docteur en Pharmacie sans vous ! Je vous remercie de m'avoir donné les moyens d'atteindre mes objectifs et fait confiance dans mes choix. Je vous dédie cette thèse.

A mes frères, Antoine et Frédéric, pour votre soutien sans faille ; et à Marina, pour ton aide précieuse.

A ma grand-mère Geneviève, pour nos conversations passionnées sur le monde de la Santé. J'espère qu'avoir un petit-fils Docteur en Pharmacie te rend fier !

A toute ma famille, pour m'avoir encouragé tout au long de ces études, et à la mémoire de ceux qui n'ont pu me voir pharmacien (notamment mes grands-parents Louisa et Lucien).

A Clémence G., Juliette J., Adeline W., Margaux T., Voreak S., Lucie L., Guillaume C., Léa B. et tous les autres, pour avoir fait de ces années étudiantes en pharmacie ce qu'elles ont été. Merci pour votre soutien et ces bons moments d'amusement et d'épanouissement passés ensemble.

A John G., *la chica* Eva María, Marion L., Alex' T., Theo et mes amis autour du monde (*IPSF colleagues* et autres), pour nos discussions, vos encouragements, votre soutien moral et votre précieuse amitié, malgré la distance.

A Diarmaid, Matthew, Clare, Sandeep, John McB', Peter, Nicole, Chirag, Andrew, Maeliosa, Alice, Mary-Carmel, Aaron, *my pals*,... et tous mes collègues de la *Queen's University Belfast*, pour leur soutien psychologique et technique.

A la Faculté de Pharmacie et à l'Université de Lille 2, pour leur soutien et pour m'avoir permis d'effectuer mes stages à l'étranger ainsi que mon année d'échange Erasmus en Angleterre.

A mes collègues et anciens collègues dans tous les endroits où j'ai fait des stages.

A tous ceux qui me font l'immense joie d'avoir été présents à ma soutenance de thèse.

Et, enfin, à toutes les personnes sans qui je n'aurais pas pu être où je suis aujourd'hui.

*Viva la Pharmacie !*

# Sommaire

Remerciements .....	8
Sommaire .....	10
Liste des abréviations .....	13

## **PARTIE 1 - Introduction**

1 Technologies de Prévention Polyvalentes (TPPs).....	16
1.1 Besoins cliniques et aspects de santé publique .....	16
1.2 Revue des TPPs existantes et en développement.....	18
1.3 Principaux problèmes avec les produits actuels et rationnel pour développer des TPPs à action prolongée .....	20
2 Formulations injectables à action prolongée .....	21
2.1 Contraceptifs injectables à longue durée d'action existants .....	21
2.2 Injections à action prolongée pour le traitement et/ou la prévention du VIH.....	24
3 Conclusions .....	25

## **PARTIE 2 - Caractérisation de principes actifs (PAs)**

1 Introduction .....	28
2 Matériels et Méthodes .....	29
2.1 Matériels .....	29
2.2 Observations microscopiques .....	29
2.3 Diffraction Laser .....	29
2.4 Analyse thermogravimétrique (TGA).....	30
2.5 Calorimétrie différentielle à balayage (DSC) .....	31
2.6 Spectroscopie ultraviolet-visible.....	32
2.7 Analysis statistiques.....	32
3 Résultats et Discussion.....	33
3.1 Taille et forme des particules .....	33

3.2	Comportement thermique .....	37
3.3	Absorption ultraviolet .....	41
4	Conclusions et Perspectives .....	43

### **PARTIE 3 - Caractérisation du contraceptif hormonal Depo-Provera®**

1	Introduction .....	46
2	Matériels et Méthodes .....	46
2.1	Matériels .....	46
2.2	Observations microscopiques .....	47
2.3	Diffraction laser .....	47
2.4	Calorimétrie différentielle à balayage (DSC) .....	48
2.5	Travail de « seringabilité » (TdS) .....	48
2.6	Analyses statistiques .....	49
2.7	Libération <i>in vitro</i> accélérée .....	49
2.8	Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) .....	49
3	Résultats et Discussion .....	50
3.1	Distribution de la taille des particules ( <i>particle size distribution</i> ou PSD) .....	50
3.2	Comportement thermique .....	52
3.3	Caractérisation mécanique .....	54
3.4	Libération <i>in vitro</i> .....	55
4	Conclusions et Perspectives .....	57

### **PARTIE 4 - Identification de la composition eutectique d'un mélange de deux médicaments : MPA et MC1220**

1	Introduction .....	60
2	Matériels et Méthodes .....	61
2.1	Matières premières .....	61
2.2	Mélange de poudres solides de MPA et MC1220 .....	62
2.3	Calorimétrie différentielle à balayage (DSC) .....	62

2.4	Prédiction de l'abaissement des températures de fusion.....	62
3	Résultats et Discussion.....	63
4	Conclusions et Perspectives .....	65
	<b>Conclusion générale</b> .....	<b>67</b>
	Liste des Figures.....	69
	Liste des Tableaux.....	70
	Bibliographie.....	71

# Liste des abréviations

ABT : albuvirtide

ARN : acide ribonucléique

ASTM<sup>®</sup> : *American Society for Testing and Materials*

AVAC: *AIDS Vaccine Advocacy Coalition*

AZT : atazanavir

BLT : *bone marrow–liver–thymus* ou moelle osseuse-foie-thymus

CAB : cabotégravir ou GSK744

CDP : médicament combiné ou *combination drug product*

DMPA : *depot medroxyprogesterone acetate* ou dépôt d'acétate de médroxy-progestérone

DRX : diffractométrie de rayons X

DSC : *Differential Scanning Calorimetry* ou calorimétrie différentielle à balayage

E2C : cypionate d'estradiol

EMLA<sup>®</sup> : « *Eutectic Mixture of Local Anesthetics* » ou « *Mélange eutectique d'anesthésiques locaux* »

FDA : *Food and Drug Administration*

FTC : emtricitabine

HPLC : *High Performance Liquid Chromatography* ou chromatographie en phase liquide à haute performance

HPV : *human papillomavirus*

IM : intramusculaire

IMPT : *Initiative for Multipurpose Prevention Technologies*

INNTI : inhibiteur non-nucléosidique de la transcriptase inverse

INTI : inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse

IP : inhibiteur de protéase

IPA : *isopropyl alcohol* ou alcool isopropylique

IRTF : spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

ISO : *International Organization for Standardization* ou organisation internationale de normalisation

IST : infection sexuellement transmissible

LPV/r : lopinavir / ritonavir

MEB : microscopie électronique à balayage

MP : méthyl-paraben

MPA : *medroxyprogesterone acetate* ou acétate de médroxy-progestérone

MPT : *Multi-purpose Prevention Technology*  
NET-EN : énanthate de noréthistérone  
ODD : Objectif de Développement Durable  
OMD : Objectif du Millénaire pour le Développement  
OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
ONU : Organisation des Nations Unies  
ONUSIDA : programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA  
PA : principe actif  
PrEP : *pre-exposure prophylaxis*  
PP : propyl-paraben  
PSD : *particle size distribution* ou distribution de la taille des particules  
 $R^2$  : coefficient de corrélation  
RAL : raltégravir  
RPV : rilpivirine  
RTV : ritonavir  
SC : sous-cutané  
SDG : *Sustainable Development Goal*  
SIDA : syndrome d'immunodéficience acquise  
TDF : ténofovir  
TdS : travail de « seringabilité »  
TFA : *trifluoroacetic acid* ou acide trifluoro-acétique  
 $T_g$  : *glass transition temperature* ou température de transition vitreuse  
TGA : *thermogravimetric analysis* ou analyse thermogravimétrique  
 $T_m$  : *melting onset temperature* ou température de fusion de début de pic  
 $T_o$  : *extrapolated onset temperature* ou température onset extrapolée  
TPP : Technologie de Prévention Polyvalente  
UV : ultraviolet  
VIH : virus de l'immunodéficience humaine  
VOICE : *Vaginal and Oral Interventions to Control the Epidemic*  
VPH : virus du papillome humain

# 1

---

## Introduction

---

# 1 Technologies de Prévention Polyvalentes (TPPs)

## 1.1 Besoins cliniques et aspects de santé publique

En 2012, il était estimé que 40% des grossesses étaient non désirées (données incluant les naissances non-prévues, les avortements et les fausses couches)<sup>1</sup> et environ 20% d'entre elles incluaient une interruption de grossesse.<sup>2</sup> Cette situation est largement attribuée à une non-utilisation ou un manque d'accès à la contraception parmi les femmes qui veulent éviter une grossesse.

Etre enceinte, subir un avortement ou faire une fausse couche met la vie des femmes en danger, notamment dans les pays en voie de développement où les femmes ont un accès limité à la contraception.<sup>3</sup> Dans ces pays, environ 79% des grossesses non-planifiées sont dues à ce manque d'accès à la contraception.<sup>4</sup>

Plus de 30 ans après sa découverte, il n'existe toujours pas de remède pour l'infection au virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Cette infection affecte la terre entière avec la plus forte prévalence dans les pays émergents. Les derniers chiffres de fin 2014 estimaient qu'environ 36,9 millions de personnes vivaient avec le VIH.<sup>5</sup> Environ 70% d'entre elles sont en Afrique sub-Saharienne, 14% dans la région Asie-Pacifique et 5% en Amérique Latine.<sup>6</sup> Même si la répartition des sexes des personnes vivant avec le virus est à l'équilibre au niveau mondial, les femmes portent le fardeau des infections au VIH dans la plupart des pays d'Afrique sub-Saharienne et des Caraïbes où il est estimé que 60% des personnes vivant avec le VIH sont de sexe féminin.<sup>7</sup> Selon le rapport annuel de 2011 de l'ONUSIDA : « chaque minute, une jeune femme est infectée par le VIH ». Au niveau mondial, les jeunes femmes de 15 à 24 ans sont les plus vulnérables au VIH avec des taux d'infection deux fois plus élevés que chez les jeunes hommes du même âge et comptent pour 22% de toutes les nouvelles infections au VIH. Le VIH est également la première cause de décès chez les femmes en âge de procréer dans le monde.<sup>8</sup>

En 2000, huit Objectifs du Millénaire pour le Développement (OMDs) ont été établis par la Déclaration du millénaire de l'Organisation des Nations Unies (ONU), signée par ses 193 États membres. Les leaders mondiaux ont ainsi engagé leurs nations à réduire pauvreté, faim et maladies dans le monde. Ces buts incluaient des objectifs spécifiques à atteindre d'ici 2015. Les objectifs 5 et 6 de cette déclaration se concentraient respectivement sur l'amélioration de

la santé maternelle et sur l'éradication de la pandémie du VIH/SIDA. Un des points retenus dans l'objectif 5 était de parvenir à un accès universel à la contraception d'ici 2015. Malheureusement, cet objectif n'a pas été atteint.<sup>9</sup>

L'Assemblée générale des Nations Unies a adopté le 25 septembre 2015 une nouvelle résolution intitulée « Transformer notre monde : le Programme de développement durable à l'horizon 2030 » qui inclut 17 nouveaux objectifs appelés : Objectifs de Développement Durable (ODDs, en anglais : *Sustainable Development Goals* ou SDGs).<sup>10</sup> Ces ODDs remplacent les OMDs et portent sur la période 2015-2030.

Un seul ODD, l'objectif 3, se focalise sur la santé et s'intitule : « permettre à tous de vivre en bonne santé et promouvoir le bien-être de tous à tout âge ». Ces cibles incluent, d'ici à 2030 :

- de faire passer le taux mondial de mortalité maternelle au-dessous de 70 pour 100 000 naissances vivantes,
- de mettre fin à l'épidémie du SIDA,
- d'assurer l'accès de tous à des services de soins de santé sexuelle et procréative, y compris à des fins de planification familiale, d'information et d'éducation, et veiller à la prise en compte de la santé procréative dans les stratégies et programmes nationaux.

Par ailleurs, cette dernière cible est commune avec l'une des cibles de l'ODD 5 qui vise à « parvenir à l'égalité des sexes et rendre autonomes toutes les femmes et les filles ».

Les organisations les plus importantes dans le domaine de la santé, incluant l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), encouragent vivement au développement de nouvelles technologies appelées Technologies de Prévention Polyvalentes (TPPs, *multi-purpose prevention technologies* ou MPTs en anglais), ayant pour but de répondre à tous ces objectifs et toutes ces cibles en même temps en utilisant une forme posologique unique.<sup>11</sup> Ces TPPs représentent une nouvelle catégorie de produits qui combinent planning familial et prévention des infections au VIH et/ou aux autres infections sexuellement transmissibles (ISTs). En principe, ils sont conçus pour mieux protéger la santé des femmes par leur efficacité, leur autonomie et leur simplicité d'utilisation. Ils offrent aux femmes le pouvoir de les initier quand elles le désirent en faisant appel à leur initiative personnelle.

## 1.2 Revue des TPPs existantes et en développement

Les préservatifs représentent la plus vieille forme de technologie de prévention polyvalente TPP. Leur première utilisation connue a été mise en évidence par une peinture murale découverte dans une cave en France datant d'entre 12 000 et 15 000 ans.<sup>12</sup> Même s'ils sont utilisés depuis des siècles, les préservatifs dans leur forme actuelle ne sont pas communément utilisés ni faciles d'accès dans les pays en voie de développement.<sup>13</sup> Comme Mitchell Warren, directeur général d'AVAC (une organisation de revendication mondiale militant pour la prévention du VIH), l'a expliqué dans un commentaire en mai 2014, les préservatifs sont « les technologies de prévention polyvalentes qui existent déjà ».<sup>14</sup> Les principales barrières à l'utilisation des préservatifs sont qu'ils sont difficilement acceptés et ne sont pas efficaces à 100% pour la contraception.<sup>15</sup> Un rapport du *Guttmacher Institute* de mars 2016 estimait en effet que les préservatifs masculins avaient un taux d'échec d'environ 5.4% après les 12 premiers mois d'utilisation, suite à une étude rétrospective des données de 43 pays.<sup>16</sup> Néanmoins, de nouveaux designs et concepts de préservatifs sont activement développés pour essayer de surmonter la barrière de l'acceptabilité ; récemment, onze projets ont notamment été financés par la *Bill and Melinda Gates Foundation*.<sup>17</sup>

La Figure 1 montre la gamme des produits pour les trois priorités majeures de santé sexuelle et reproductive : grossesse, infections au VIH et autres ISTs. Les produits TPPs se trouvent dans les régions à l'intersection des ellipses de la figure. Les préservatifs (masculins et féminins) sont les seules TPPs qui répondent à toutes les priorités.<sup>14</sup> Il est intéressant de noter que le virus du papillome humain VPH (en anglais *human papillomavirus*, HPV) peut infecter des zones non recouvertes par un préservatif ; les préservatifs ne fourniraient donc pas une protection totale contre le VPH.<sup>18</sup>

Les produits TPPs actuellement en développement se concentrent sur la prévention du VIH et la contraception, ceci étant dû aux taux d'infection du VIH parmi les jeunes femmes en Afrique.<sup>18</sup> La plupart des ces concepts de produits sont basés sur les formulations injectables à longue durée d'action, les anneaux vaginaux<sup>19</sup>, les diaphragmes cervicaux<sup>20</sup> ou une combinaison d'un diaphragme cervical et d'un gel vaginal.<sup>21</sup> D'autres produits utilisant des technologies similaires sont également considérés pour prévenir simultanément l'infection au VIH et à une des autres ISTs.<sup>22</sup>

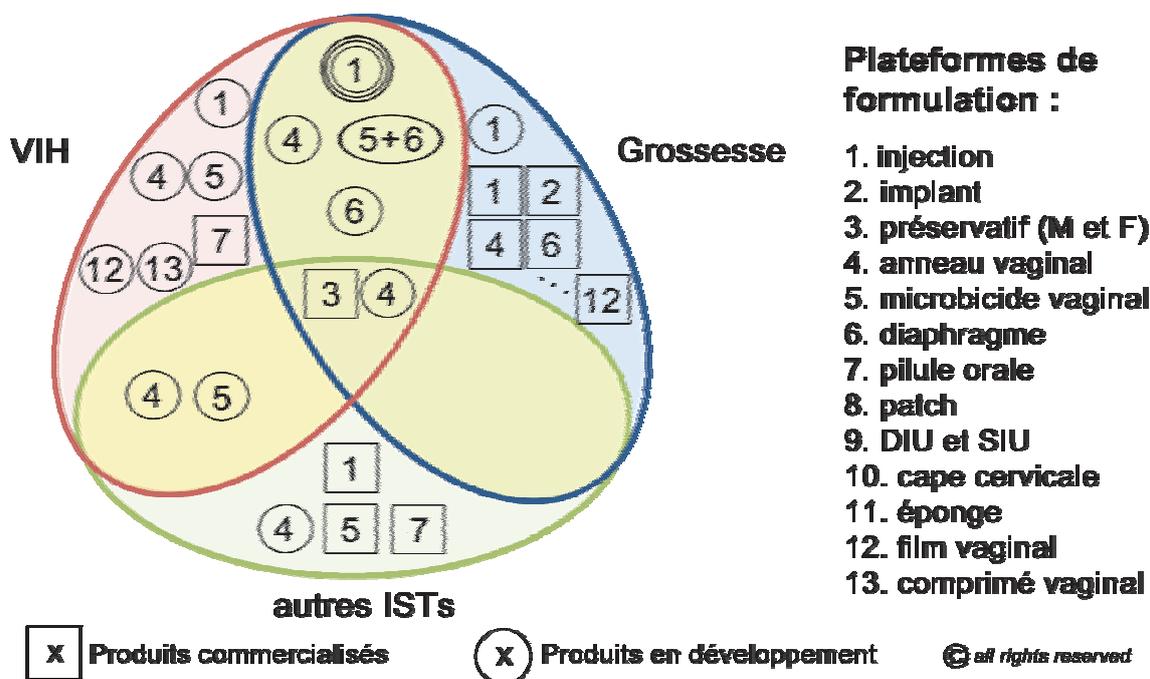


Figure 1 : Aperçu général de la gamme des produits sur le marché et en développement pour prévenir/traiter le VIH, d'autres ISTs et la grossesse. VIH – virus de l'immunodéficience humaine, M – Masculin, F – Féminin, DIU - dispositif intra-utérin/stérilet, SIU – système intra-utérin, ISTs – infections sexuellement transmissibles.

Bien que les stratégies TPPs se focalisant sur la prévention de la grossesse et des ISTs sont considérées comme des indicateurs prioritaires dans de nombreux pays<sup>23</sup>, il n'y a pas eu d'activité pour développer ces méthodes TPPs non-VIH. Une tendance à se concentrer essentiellement sur le VIH et non sur les autres ISTs pourrait en être une raison. Ceci n'est pas une surprise étant donné que la plupart des projets de développement des TPPs sont issus de la recherche sur les microbicides contre le VIH<sup>24</sup> (composés qui peuvent être appliqués par voie vaginale ou rectale pour protéger contre les ISTs dont le VIH).<sup>25</sup> Trouver les agents anti-infectieux appropriés et efficaces pour combattre ces ISTs est un autre problème, sujet de litige.

Beaucoup de revues ont amplement couvert la recherche et le développement des produits TPPs en les traitant sous divers angles.<sup>11,24,26-33</sup> Cette courte revue introductive se concentrera sur l'utilisation possible des formulations injectables à longue durée d'action comme TPPs. Le but de ce projet est de développer une injection qui fournirait aux femmes à la fois une contraception et une prévention du VIH (point cible 1 en haut de la Figure 1).

### 1.3 Principaux problèmes avec les produits actuels et rationnel pour développer des TPPs à action prolongée

L'intérêt pour le développement des TPPs est fortement lié au développement des produits microbicides (ou prophylaxies pré-exposition, en anglais : *pre-exposure prophylaxis* ou PrEP). En février 2015, des résultats décevants ont été confirmés dans l'étude clinique VOICE (*Vaginal and Oral Interventions to Control the Epidemic* : interventions vaginales et orales pour contrôler l'épidémie). Il s'agissait d'un grand essai de prévention du VIH impliquant 5 029 femmes réparties en Afrique du Sud, au Zimbabwe et en Ouganda. Cette ambitieuse étude a échoué en tentant de démontrer l'efficacité à la fois de la prophylaxie pré-exposition orale et du gel microbicide vaginal contenant du ténofovir. La raison de cet échec était que moins d'un tiers des femmes utilisaient réellement le produit fourni pour l'étude, bien que 88% des participantes affirmaient qu'elles l'utilisaient.<sup>34</sup> Ces résultats mettent l'accent sur l'importance de l'observance et renforcent l'idée que les microbicides TPPs doivent être développés dans le but que les femmes soient ferventes à leur utilisation.<sup>35</sup> Ceci a été démontré par un sondage auprès de 1444 professionnels de santé spécialisés dans le VIH/SIDA et la planification familiale au Zimbabwe et en Afrique du Sud où 85% de ces personnes ont identifié un besoin pour des nouvelles TPPs initiées par les femmes elles-mêmes.<sup>36</sup>

Un profil de produit cible a été dressé depuis 2011 par l'organisation IMPT (*Initiative for Multipurpose Prevention Technologies* ou Initiative pour les TPPs) dans le but de définir un produit TPP idéal.<sup>37</sup> Les principales caractéristiques identifiées incluaient : une bonne observance, une facilité d'utilisation, une libération à longue durée plutôt qu'une utilisation quotidienne, une discrétion, une simplicité de fabrication et un faible coût. Une TPP à libération contrôlée ou à longue durée d'action est en effet plus pratique puisqu'il n'y a pas besoin de se rappeler de faire quelque chose tous les jours ou avant d'avoir un rapport sexuel.<sup>38</sup> Une technologie privée et discrète implique que les femmes peuvent l'utiliser sans que personne ne le sache, notamment si leur partenaire ou la famille sont contre la contraception.<sup>39</sup> Il a également été reconnu que combiner des approches offre une occasion unique de réduire les coûts, de potentiellement améliorer l'observance des utilisateurs et en fin de compte d'améliorer la santé sexuelle et reproductive des femmes en général.<sup>40,41</sup>

Des formulations injectables sont commercialisées ou en cours de développement pour les trois indications : prévention du VIH, contraception et prévention des autres ISTs (Figure 1).

Il existe plusieurs contraceptifs injectables (voir 2.1) et un vaccin pour prévenir l'infection par le VPH sur le marché, alors que quelques formulations injectables sont développées pour traiter ou prévenir l'infection par le VIH (voir 2.2).

## 2 Formulations injectables à action prolongée

La section qui suit donne un aperçu des contraceptifs injectables à longue durée d'action sur le marché et des injections à action prolongée en développement pour le traitement et/ou la prévention du VIH.

### 2.1 Contraceptifs injectables à longue durée d'action existants

Les produits contraceptifs injectables à longue durée d'action comprennent les progestatifs seuls et les agents combinés œstrogène et progestatif. Un résumé des contraceptifs injectables commercialisés avec leurs noms commerciaux les plus courants est rapporté dans le Tableau 1 avec leur formulation et leur programme d'injection.

Depo-Provera<sup>®</sup> (dépôt d'acétate de médroxy-progestérone, aussi connu sous le nom anglais : *depot medroxyprogesterone acetate* et ses acronymes DMPA ou DMPA-IM) est le stéroïde injectable le plus connu et utilisé dans le monde. Synthétisé pour la première fois en 1958<sup>42</sup>, sa molécule a été utilisée chez l'homme depuis les années 1960<sup>43</sup> et est approuvée dans plus de 80 pays depuis le début des années 1980<sup>44</sup>. À ce jour, le DMPA est autorisé à la vente dans 179 pays.<sup>45,46</sup> Néanmoins, cette injection intramusculaire (IM) d'une durée d'action de trois mois a suscité quelques controverses. La FDA (*Food and Drug Administration* ou « agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux ») n'a approuvé son utilisation qu'en 1992<sup>47</sup> après de multiples demandes d'autorisation de mise sur le marché et révisions de la part de la *Upjohn Company* (désormais détenue par Pfizer). Il est maintenant estimé que plus de quatre-vingt-dix millions de femmes utilisent Depo-Provera<sup>®</sup> à travers le monde.<sup>48</sup>

En dépit de son utilisation extensive, Depo-Provera<sup>®</sup> soulève encore des inquiétudes sur ses présumés risques accrus d'acquisition du VIH. Ceci a été largement débattu dans la littérature au cours des dernières années.<sup>49</sup> Rees et le Consortium ECHO pensent qu'un « vrai » essai contrôlé randomisé (un essai clinique où le médicament étudié est comparé à un médicament de référence ; et lorsque les malades sont répartis dans différents groupes recevant des traitements différents, la répartition entre les groupes étant réalisée par tirage au sort, appelé

aussi randomisation) est nécessaire pour mettre fin à ce débat<sup>50</sup> tandis que d'autres ne le préconisent pas.<sup>51</sup> Une méta-analyse et des revues systématiques ont tiré quelques conclusions à ce sujet sans pour autant se mettre d'accord sur un consensus.<sup>52-55</sup> En attendant, des chercheurs de *l'Imperial College* de Londres ont modélisé les risques concurrents mondiaux d'une interaction potentielle entre les contraceptifs hormonaux injectables et le risque d'acquisition du VIH.<sup>56</sup> L'impact de DMPA sur l'immunité a également été largement étudié<sup>57-62</sup> dans le but de trouver des explications sur son potentiel risque accru d'acquisition du VIH. Plus récemment, Irvin & Herold (2015) ont identifié certains mécanismes moléculaires associant la médroxy-progestérone à haute dose avec l'augmentation du risque accru de VIH, mais ces résultats doivent être corrélés cliniquement.<sup>63</sup> C'est pourquoi certains chercheurs appellent à élargir le débat.<sup>64</sup> Néanmoins, une nouvelle étude impliquant près de 1400 couples sérodiscordants (lorsque l'un des partenaires est séropositif au VIH et l'autre est séronégatif), en Zambie, a constaté que ni l'injection, ni la pilule contraceptive ou l'utilisation de l'implant avaient été significativement associées à l'acquisition du VIH comparé à la contraception non-hormonale.<sup>65</sup> Le débat est donc encore ouvert jusqu'à ce que de nouvelles études soient publiées. L'OMS a examiné cette question en 2014 et a conclu dans sa déclaration d'orientation que les preuves liées à cette association possible étaient faibles en raison des importantes limites méthodologiques dans ces études qui entravent leur interprétation.<sup>66</sup> L'OMS ne discrimine donc pas l'utilisation de DMPA ni des autres progestatifs injectables comme méthode de contraception, même pour les femmes exposées à un risque élevé du VIH. Elle recommande également l'utilisation correcte et régulière des préservatifs (masculins ou féminins) en plus de ces contraceptifs.<sup>67</sup>

Depo-subQ Provera 104™ (DMPA-SC) est une injection sous-cutanée (SC) de MPA qui a d'abord été approuvée aux Etats-Unis courant 2004.<sup>68</sup> Sa composition est similaire à celle de Depo-Provera® (DMPA-IM) à l'exception de l'addition de produits de solvation du phosphate de sodium (du phosphate mono-sodique, H<sub>2</sub>O et du phosphate de sodium dibasique, 12 H<sub>2</sub>O), de la méthionine et de la povidone.<sup>69</sup> Une étude clinique a montré que le DMPA-SC offre une innocuité et une efficacité comparable au DMPA-IM.<sup>70,71</sup>

Sayana Press® est une nouvelle formulation de l'injection DMPA-SC utilisant la technologie Unijet™, un blister pré-rempli, auto-injectable et à usage unique. Il est actuellement en cours d'introduction dans cinq pays pilotes en Afrique et en Asie du Sud suite à un partenariat privé-public mondial.<sup>72</sup> Cette technologie permet aux professionnels de santé moins qualifiés (offrant des soins dans des cliniques et communautés reculées) d'injecter en toute sécurité le

DMPA-SC aux femmes.<sup>72</sup> Une récente étude a déjà montré l'intérêt accru pour ce produit par rapport à l'injection IM Depo-Provera<sup>®</sup><sup>73</sup> et l'intérêt n'a cessé de croître pour le développer comme une auto-injection.<sup>74-78</sup>

Noristerat<sup>®</sup> (NET-EN) est un autre progestatif seul couramment utilisé comme contraceptif. C'est une injection IM d'énanthate de noréthistérone (200 mg) à réaliser tous les deux mois et qui est autorisée sur le marché dans plus de 90 pays.<sup>79</sup> Il est le premier contraceptif injectable à avoir été développé, en 1957.<sup>80</sup>

Cyclofem<sup>®</sup> (MPA/E2C) est une contraception injectable plus récente combinant un œstrogène et un agent progestatif, le cypionate d'estradiol E2C et le MPA respectivement. C'est le premier contraceptif combiné à avoir été testé chez la femme (en 1968), le second étant Mesigyna<sup>®</sup> (NET-EN/E2V) à partir de 1974.<sup>80</sup> En raison de leur fréquence d'injection, ces injectables combinés sont également appelés « injectables mensuels ».<sup>79</sup>

Face à ce large éventail de contraceptifs injectables possibles, la plupart des femmes remplissant la plupart des conditions médicales peuvent utiliser les contraceptifs injectables en toute circonstance (critère de recevabilité pour l'adoption et l'utilisation continue de méthodes contraceptives de l'OMS, catégorie 1).<sup>81</sup> C'est sans surprise que les injectables sont la méthode contraceptive la plus populaire dans de nombreux pays en développement, notamment en Afrique orientale et australe.<sup>82,83</sup>

**Tableau 1 : Contraceptifs injectables commercialisés – Formulations et programme d'injection.**

Source : IPPF (2013).<sup>46</sup>

Noms commerciaux les plus courants	Formulation	Type et programme d'injection
<i>Injectables progestatifs seuls</i>		
Depo-Provera <sup>®</sup> , Megestron <sup>®</sup> , Contracep <sup>®</sup> , Depo-Prodason <sup>®</sup> , Petogen <sup>®</sup>	Dépôt d'acétate de médroxy-progestérone (DMPA) 150 mg in 1 mL	Une injection intramusculaire (IM) tous les trois mois
Depo-subQ Provera 104 <sup>TM</sup> (DMPA SC)	DMPA 104 mg in 0.65 mL	Une injection sous-cutanée (SC) tous les trois mois
Noristerat <sup>®</sup> , Norigest <sup>®</sup> , Doryxas <sup>®</sup>	énanthate de noréthistérone (NET-EN) 200 mg	Une injection intramusculaire (IM) bimestrielle
<i>Injectables combinés (œstrogène et progestatif), aussi appelés injectables mensuels</i>		
Cyclofem <sup>®</sup> , Ciclofeminina <sup>®</sup> , Lunelle <sup>®</sup>	acétate de médroxy-progestérone MPA 25 mg + cypionate d'estradiol 5 mg (MPA/E2C)	Une injection IM chaque mois

<b>Mesigyna<sup>®</sup>, Norigynon<sup>®</sup></b>	NET-EN 50 mg + valérate d'estradiol 5 mg (NET-EN/E2V)	Une injection IM chaque mois
<b>Deladroxate<sup>®</sup>, Perlutal<sup>®</sup>, Topasel<sup>®</sup>, Patectro<sup>®</sup>, Deproxone<sup>®</sup>, Nomagest<sup>®</sup></b>	acétophénide de dihydroxyprogestérone 150 mg + énanthate d'estradiol 10 mg	Une injection IM chaque mois
<b>Anafertin<sup>®</sup>, Yectames<sup>®</sup></b>	acétophénide de dihydroxyprogestérone 75 mg + énanthate d'estradiol 5 mg	Une injection IM chaque mois
<b>Chinese Injectable No. 1<sup>®</sup></b>	caproate de la 17 $\alpha$ -hydroxyprogestérone 250 mg + valérate d'estradiol 5 mg	Une injection IM chaque mois, à l'exception de deux injections le premier mois

## 2.2 Injections à action prolongée pour le traitement et/ou la prévention du VIH

Plusieurs injectables à longue durée d'action sont actuellement en développement dans le but de traiter et/ou de prévenir le VIH.

Ces thérapies ou prophylaxies pré-exposition (PrEP) injectables suivent l'introduction de la PrEP orale Truvada<sup>®</sup> (mono-dose ténofovir/emtricitabine, TDF/FTC) qui a obtenu l'autorisation de mise sur le marché aux États-Unis en Juillet 2012.<sup>84</sup> Les recherches en cours sur les injections à action prolongée comprennent l'inhibiteur non-nucléosidique de la transcriptase inverse INNTI rilpivirine (RPV, de *Janssen*) et l'inhibiteur d'intégrase cabotégravir (CAB, de *ViiV Healthcare*). Ces deux médicaments sont actuellement en essais cliniques de phase II pour évaluer leur innocuité et tolérance chez les hommes et les femmes séronégatifs. Des formulations orales de rilpivirine ont été autorisées à la mise sur le marché depuis 2011 telles que : Edurant<sup>®</sup> (25 mg de rilpivirine dans un comprimé pelliculé) et Eviplera<sup>®</sup> (un comprimé pelliculé contenant une trithérapie à base de 200 mg d'emtricitabine, 25 mg de rilpivirine et 245 mg de ténofovir disoproxil) en France.<sup>85,86</sup> Dans le contexte des injectables à longue durée d'action, il est développé sous forme d'une nanosuspension bimestrielle pour à la fois le traitement et la prévention du VIH-1.<sup>87,88</sup> Cabotégravir (CAB ou GSK744) est un analogue du dolutégravir<sup>89,90</sup> mis au point simultanément pour le traitement et la prévention du VIH dans des formes injectables à action prolongée et des formes orales. Grâce à sa longue demi-vie plasmatique, son injection est administrée tous les trois mois sous forme d'une nanosuspension.<sup>91</sup> Les injections à longue durée d'action de CAB et de RPV sont également étudiées comme bithérapie. Une étude clinique de phase I chez des sujets sains a montré des résultats prometteurs à l'appui de l'utilisation potentielle de ces deux injectables pour traiter l'infection au VIH.<sup>92</sup>

Albuvirtide (ABT), développé par la société chinoise *Nanjing Frontier Biotechnologies Co.*, est un nouveau peptide inhibiteur de fusion conçu comme une injection hebdomadaire.<sup>93-95</sup> Après des résultats décevants en phase IIb, il va maintenant être évalué comme une thérapie de deuxième ligne avec la pilule orale Kaletra® (lopinavir / ritonavir, LPV/r) dans une étude de phase III, qui a commencé à recruter des patients séropositifs en janvier 2014 et devrait se terminer en décembre 2016.<sup>96</sup> En parallèle, une étude randomisée ouverte sur 21 patients séropositifs a publié ses résultats en février 2016 démontrant une efficacité dose-dépendante de l'injection hebdomadaire d'ABT en trithérapie avec une dose orale de LPV/r deux fois par jour.<sup>97</sup>

L'entreprise *Merck & Co.* développe, quant à elle, un inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse (INTI) à action prolongée pour les voies orale et injectable : MK-8591, aussi connu sous l'acronyme EFdA pour 4'-éthynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine.<sup>98</sup> Un comprimé hebdomadaire de 10 mg a généré une libération à des taux plasmatiques comparables à ceux du singe chez des volontaires sains tandis qu'une injection a permis de libérer le médicament pendant plus de 6 mois chez des rongeurs, tout en maintenant des concentrations médicamenteuses plasmatiques comparables à celles obtenues chez le singe et chez l'homme.<sup>99</sup>

Les deux inhibiteurs de protéase (IP) atazanavir (ATZ) et ritonavir (RTV) ont été testés sous forme d'une nanosuspension hebdomadaire injectable à action prolongée dans plusieurs études précliniques montrant des résultats encourageants.<sup>100-103</sup>

Enfin, une nouvelle formulation injectable à action prolongée de l'inhibiteur d'intégrase raltégravir (RAL) est actuellement en développement. Les premiers essais précliniques ont permis de protéger des souris humanisées BLT (*bone marrow-liver-thymus* : moelle osseuse-foie-thymus) face à des contacts répétés aux doses vaginales élevées de VIH.<sup>104</sup>

### 3 Conclusions

Après avoir présenté le contexte général des TPPs et le rationnel au développement de nouvelles injections à action prolongée TPPs, les contraceptifs injectables à longue durée d'action ont été examinés ainsi que les antirétroviraux injectables à action prolongée pour le traitement et/ou la prévention du VIH. L'un des principaux défis de ce projet sera de formuler une TPP injectable à action prolongée qui offre aux femmes une contraception et une

protection contre le VIH pour une même durée d'action.<sup>27</sup> Les contraceptifs injectables à base de MPA ont actuellement une durée d'action minimale de trois mois alors que les antirétroviraux RPV et CAB sont développés pour des injections d'une durée de deux mois dans leurs essais cliniques.

Dans cette thèse expérimentale seront présentées des études préliminaires au développement de formulations injectables à action prolongée combinant une contraception et une prévention du VIH.

La partie 2 comporte des études de caractérisation des propriétés physico-chimiques de deux principes actifs (PAs) : l'hormone contraceptive acétate de médroxy-progestérone (*medroxyprogesterone acetate* ou MPA en anglais) et l'inhibiteur non-nucléotidique de la transcriptase inverse MC1220.

La partie 3 traite de la caractérisation du produit injectable Depo-Provera<sup>®</sup>, un contraceptif hormonal trimestriel. C'est sur cette injection que pourra se baser le développement de futures technologies de prévention polyvalentes (TPPs) sous forme d'injections à action prolongée fournissant simultanément une contraception hormonale et une protection contre l'infection au VIH.

Enfin, la partie 4 rapporte l'identification de la composition eutectique d'un mélange des deux médicaments MPA et MC1220, étude préliminaire au développement d'une TPP injectable.

# 2

---

## Caractérisation de principes actifs (PAs)

---

# 1 Introduction

Un aspect important du développement de formulations injectables comme système de délivrance contrôlé de médicaments est la caractérisation des propriétés physico-chimiques des principes actifs. Puisque des poudres médicamenteuses vont être utilisées dans ce projet pour formuler des suspensions injectables dépôts, des études de pré-formulation pour les caractériser sont essentielles. Des informations sur la taille, structure et forme des particules offriront un aperçu sur leur solubilité, leur vitesse de dissolution et leur capacité à être absorbées. Etudier la cristallinité et le polymorphisme des molécules permet de prédire les transitions polymorphiques et évite les entraves associées à l'utilisation de formes cristallines moins solubles, telles que celles rencontrées pour le développement de l'inhibiteur de protéase ritonavir.<sup>105</sup> Ce médicament pionnier dans la lutte contre le VIH a été temporairement retiré du marché en 1998, moins de trois ans après sa commercialisation et au plus fort de la pandémie du VIH quand beaucoup de personnes avaient besoin d'un traitement. Des études de pré-formulation peuvent aussi inclure l'étude du comportement thermique des principes actifs pour déterminer leur température de fusion, leurs phénomènes de recristallisation, leurs changements de conformation dans l'état amorphe, etc. Pour anticiper l'utilisation des méthodes de chromatographie HPLC-UV pour la quantification des médicaments/molécules, la spectroscopie UV peut aussi être utilisée pour déterminer à quelle longueur d'onde les médicaments absorbent la lumière et la longueur d'onde optimale de détection. Au bout du compte, ces études fourniront la base scientifique à un développement plus poussé des formulations. Cette partie expérimentale inclut des résultats d'études de pré-formulation conduites sur l'hormone contraceptive acétate de médroxy-progestérone MPA et l'inhibiteur non-nucléotidique de la transcriptase inverse MC1220 (Figure 2). Après la présentation de la taille et la forme de leurs particules, leur comportement thermique est présenté avant de conclure sur leur spectre de spectroscopie UV.

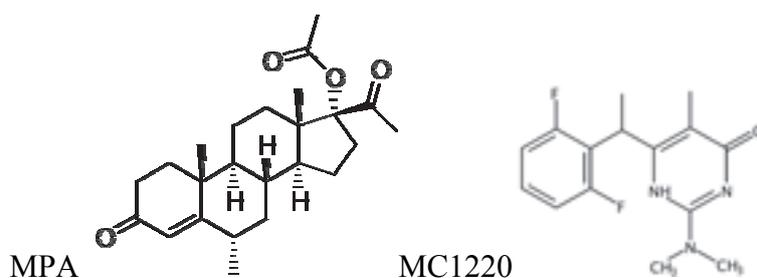


Figure 2 : Structures chimiques de MPA et MC1220

## 2 Matériels et Méthodes

### 2.1 Matériels

MC1220 a été gracieusement fourni par l'Université de Cagliari (Italie) et l'acétate de méthoxy-progestérone MPA acheté chez Sequoia Research Products Ltd. (Pangbourne, Royaume-Uni). L'alcool isopropylique (*isopropyl alcohol* ou IPA en anglais) de grade HPLC a été fourni par Sigma-Aldrich (Gillingham, Royaume-Uni) et l'eau de grade HPLC (aussi appelée H<sub>2</sub>O ou eau dé-ionisée) a été obtenue grâce à un système pour eau ultrapure Millipore<sup>®</sup> DirectQ<sup>®</sup> 3 UV (Merck Millipore Co., Watford, Royaume-Uni).

### 2.2 Observations microscopiques

Les poudres sèches de chaque principe actif (PA) ont été étalées sur des lames de microscope en verre recouvertes de ruban adhésif puis observées avec un microscope digital Keyence<sup>®</sup> VHX-700F équipé d'un zoom grande étendue VH-Z100R/W (Keyence Ltd., Milton Keynes, Royaume-Uni) dans le but d'évaluer les formes, structures et tailles de particules.

Ces mêmes lames ont également été observées sous un microscope polarisant BX50F4 d'Olympus<sup>®</sup> Optical Co. Ltd. (Tokyo, Japon) équipé d'une caméra couleur PixeLINK<sup>®</sup> Megapixel FireWire 1394 (Ottawa, Canada) et de son logiciel associé PixeLINK<sup>®</sup> Capture (version 3.2). Deux lignes polaires, un polariseur et un analyseur, ont été utilisées pour obtenir une lumière polarisée dans un plan. En tournant une ligne polaire par rapport à l'autre, l'apparition de variances de couleurs signifierait la présence de structures biréfringentes.

Les images de microscopie électronique à balayage (MEB) ont été obtenues avec un Hitachi TM3030 *Tabletop Microscope* (Hitachi High-Technologies Corporation, Tokyo, Japon) après avoir placé un échantillon de poudre sur le porte-échantillon et en opérant avec le spectromètre à rayons X à dispersion d'énergie EDX (*Energy Dispersive X-ray Spectrometer*) sous une tension d'accélération de 15 kV.

### 2.3 Diffraction Laser

La distribution de la taille des particules (*particle size distribution* ou PSD) des PAs a été étudiée par diffraction de la lumière laser en utilisant un diffractomètre laser Mastersizer<sup>®</sup> 3000 de Malvern Instruments Ltd. (Malvern, Royaume-Uni) équipé d'une unité de dispersion humide interactive Hydro EV (*extended volume*, c'est-à-dire à volume étendu). En utilisant un

modèle optique pour particules non-sphériques basé sur la théorie de Mie, les indices de réfraction, indices d'absorption et densités suivants ont été utilisés pour les PAs (Tableau 2).

Tableau 2 : Paramètres physico-chimiques utilisés pour l'analyse de la PSD des PAs par diffraction laser.  
\* représente des données calculées et ^ des données prédites, u.a. = unité arbitraire.

PA	Indice de réfraction (u.a.)	Indice d'absorption (u.a.)	Densité (g/cm <sup>3</sup> )
MPA	1,54 *	1,0 ^	1,13 *
MC1220	1,56 *	0,1 ^	1,23 *

Les valeurs des indices de réfraction et densités ont été calculées avec les logiciels Accelrys<sup>®</sup> Symyx Draw version 4.0 (Dassault Systèmes, Vélizy-Villacoublay, France) et ACD/Percepta Platform version V11.02 (*Advanced Chemistry Development Inc.* ou ACD/Labs, Toronto, Canada), respectivement.

Les diamètres centiles  $D_{v10}$ ,  $D_{v50}$  et  $D_{v90}$  ont été utilisés pour consigner la PSD. Ils représentent les diamètres équivalents en dessous desquels 10, 50 et 90% de la distribution de taille des particules en volume est plus petite. La vitesse de l'agitateur a été fixée à 1500 min<sup>-1</sup> et les échantillons ont été mesurés en utilisant deux faisceaux lasers : un de lumière bleue (à 470 nm) et un de lumière rouge (à 632.8 nm). Chaque mesure a été répétée six fois (n=6) pour se conformer aux références des pharmacopées française<sup>106</sup> (*Ph. Fr. XI*), européenne<sup>107</sup> (*Ph. Eur.*, méthode 2.9.31) et américaine<sup>108</sup> (*United States Pharmacopeia USP*, standard de référence 29, chapitre général 429), elles-mêmes basées sur les normes ISO 13320(2009)<sup>109</sup> et 9276-1(1998)<sup>110</sup> de l'organisation internationale de normalisation (en anglais : *International Organization for Standardization ISO*). Pour chaque échantillon analysé, trois séries de mesures (n=3) ont été effectuées.

## 2.4 Analyse thermogravimétrique (TGA)

Une analyse thermogravimétrique (TGA) a été réalisée sur des échantillons de poudres sèches fournis (MPA et MC1220) en utilisant un thermo-gravimètre calibré TGA Q500<sup>TM</sup> (TA Instruments, New Castle, DE, Etats-Unis) et des coupelles en aluminium « standard » ouvertes. Un mode de chauffe standard en rampe de température a été réalisé de la température ambiante à 350°C à une vitesse de 10°C/min sous une atmosphère d'azote. Trois échantillons (n=3) ont été analysés pour chaque molécule pour générer des valeurs moyennes

et des écart-types. Pour chaque analyse, la température onset extrapolée (*extrapolated onset temperature*)  $T_o$  (°C) et le point d'inflexion  $P_i$  (°C) ont été consignés.

L'union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA, en anglais *International Union of Pure and Applied Chemistry*, IUPAC) définit l'onset extrapolé (*extrapolated onset*) comme "le point d'intersection de la tangente au point de la plus grande pente du côté penchant du pic avec la ligne de base extrapolée".<sup>111</sup> La température onset extrapolée (*extrapolated onset temperature*)  $T_o$  est ici la température à laquelle la perte de poids commence, c'est-à-dire à laquelle le matériel commence à se dégrader et est notamment indiquée à être utilisée par l'organisme de normalisation *American Society for Testing and Materials* (ASTM<sup>®</sup>) dans sa référence ASTM E2160 et par l'organisation internationale de normalisation (en anglais : *International Organization for Standardization*, ISO).<sup>112,113</sup> Le point d'inflexion est la température à laquelle la vitesse de changement est la plus grande sur la courbe de perte de masse.

## 2.5 Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Une analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC) a été réalisée sur des échantillons de poudres en utilisant un calorimètre différentiel à balayage DSC Q<sub>100</sub><sup>TM</sup> préalablement calibré (TA Instruments, New Castle, DE, Etats-Unis). La calibration a été effectuée selon les références ASTM E967 (température) et E968 (flux thermique différentiel) en utilisant de l'indium comme référence.<sup>114,115</sup>

Approximativement 3 mg de chaque échantillon de poudre médicamenteuse ont été précisément pesés dans une coupelle en aluminium dite « standard » (TA instruments, parties numéro 900786.901) fermée par un couvercle (parties numéro 900779.901). Ils ont ensuite été soumis à un cycle de chauffage-refroidissement-chauffage entre 20°C et 220°C à une vitesse de 10°C/min sous une atmosphère d'azote, en même temps qu'une coupelle « standard » vide, de référence. Un échantillon d'eau dé-ionisée (5 µL) dans une coupelle hermétique en aluminium perforée a également été soumis à un mode standard en rampe de température de 20°C à 150°C, comme témoin. Pour chaque matériel, l'expérimentation a été répétée au minimum trois fois (n=3) et les thermogrammes qui en résultent ont été analysés grâce au logiciel TA Universal Analysis 2000 (version 4.5A). En fonction des échantillons, plusieurs paramètres ont été consignés : le point de fusion  $T_m$  (température de début de pic, °C), l'enthalpie de fusion  $\Delta H$  (J/g) et la température de transition vitreuse  $T_g$  (°C).

Selon IUPAC, la température onset extrapolée de début de pic (ou *extrapolated peak onset temperature*) est « la température où la tangente de l'inflexion à travers la pente du pic descendant coupe la ligne de base extrapolée ». <sup>116</sup>

## 2.6 Spectroscopie ultraviolet-visible

La spectroscopie ultraviolet-visible a été réalisée sur des solutions étalons de MPA et MC1220 faites dans un mélange IPA/H<sub>2</sub>O aux proportions 50/50 en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible Varian Cary<sup>®</sup> 50 (Varian, Royaume-Uni) pour déterminer les caractéristiques d'absorption des médicaments. Après avoir réalisé un étalonnage sur le solvant (IPA/H<sub>2</sub>O à 50/50) de 200 à 400 nm, des échantillons ont été lus sur cette même gamme de longueurs d'onde en utilisant des cuvettes quartz 6Q de Starna Scientific Ltd. (Ilford, Royaume-Uni). Chaque lecture a été répétée six fois (n=6), la cuvette étant soigneusement rincée et nettoyée entre chaque échantillon avec de l'eau dé-ionisée. Quand les solutions étalons donnent une absorbance au dessus d'une unité de densité optique, de plus faibles concentrations sont analysées et des dilutions sont effectuées, si nécessaire, pour produire des valeurs d'absorbance utilisables.

## 2.7 Analyses statistiques

Les moyennes des températures de fusion de début de pic ( $T_m$ ) de MPA pendant le premier et le second chauffage ont été comparées en utilisant un test t de Student apparié, où  $p < 0,05$  est utilisé pour dénoter une différence statistiquement significative. Ceci a été réalisé à l'aide du logiciel GraphPad Prism<sup>®</sup> version 7.0 pour Mac OS X (GraphPad Software, La Jolla, Californie, Etats-Unis, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)).

# 3 Résultats et Discussion

## 3.1 Taille et forme des particules

Pour évaluer la taille et forme des particules des principes actifs (PAs), les poudres de PA ont été observées sous microscope digital (Figure 3), microscope électronique à balayage (MEB, Figure 4) et microscope à lumière polarisante (Figure 5).

Ces observations microscopiques montrent que ces médicaments sont tous deux des poudres micronisées. La poudre de MPA semble être constituée de petites particules inférieures à 20  $\mu\text{m}$  qui forment des agglomérats (Figure 3A et 2A). MC1220 semble être une poudre plus cristalline composée de cristaux de taille variable, mais principalement de forme cuboïde, avec une taille évaluée allant de 10 à 160  $\mu\text{m}$  (Figure 3B et 2B).

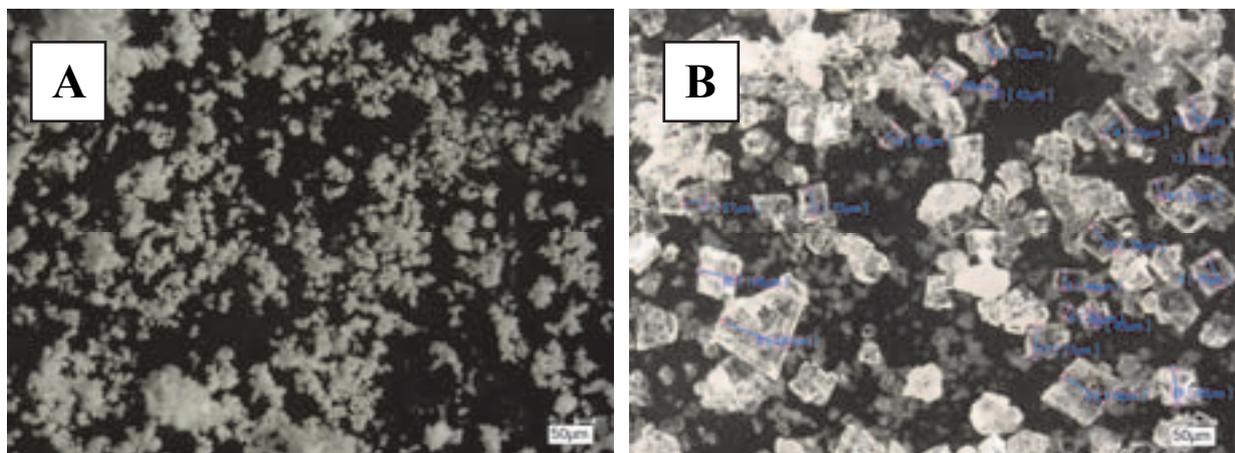


Figure 3 : Images de microscopie digitale de MPA (A) et MC1220 avec 20 mesures de taille (B) tous deux observés au zoom 200x.

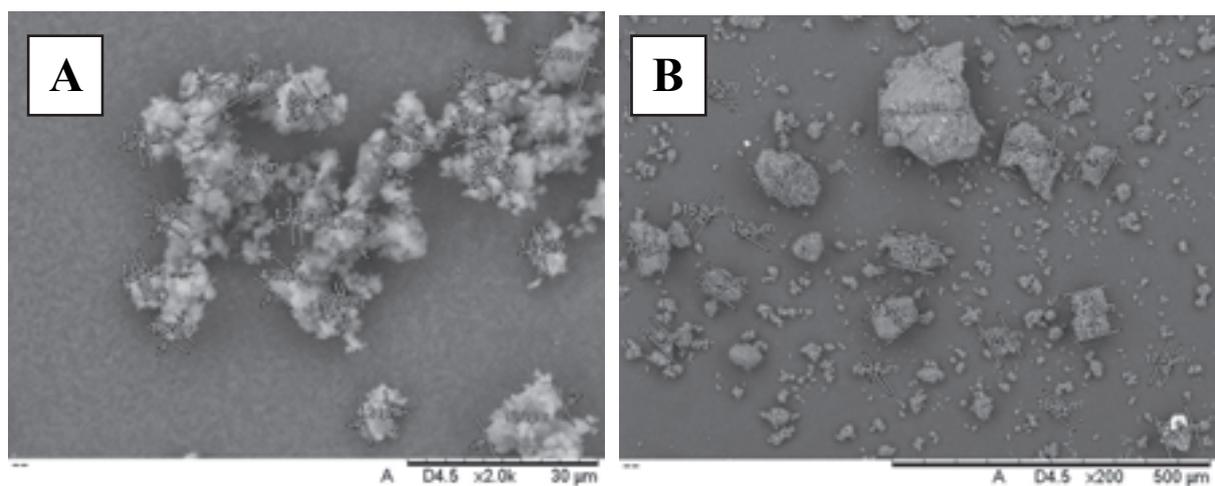
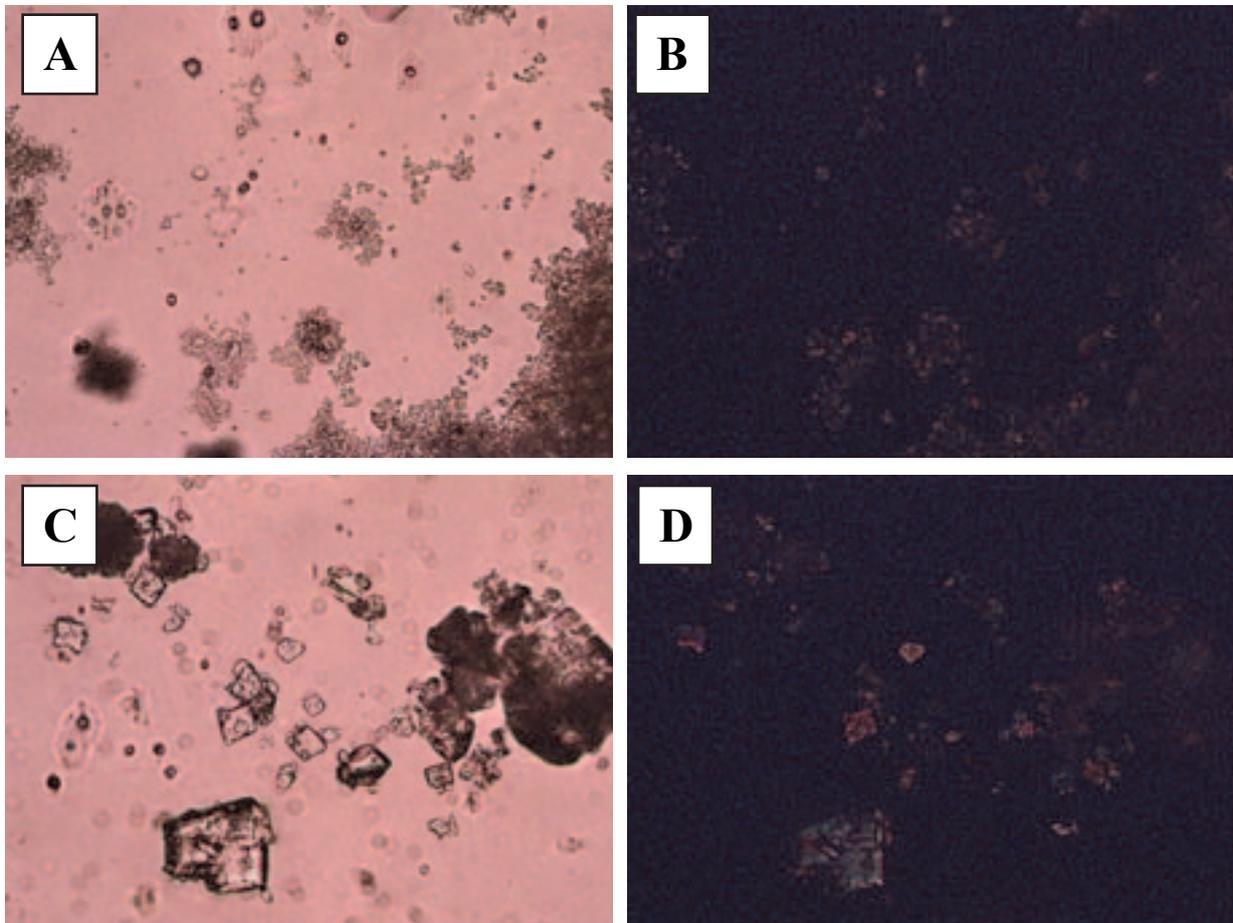


Figure 4 : Images de microscopie à balayage de MPA (A) et MC1220 (B) au zoom 2 000x et 200x, respectivement. La poudre MPA réfléchit la lumière polarisée à certains endroits du champ d'exploration (Figure 5B) suggérant qu'elle contient des domaines cristallins. Les Figure 5C and D

montrent que MC1220 est une poudre cristalline composée de cristaux de différentes tailles et formes. Ces cristaux réfléchissent la lumière polarisée sous différents angles donnant plusieurs couleurs.



**Figure 5 : Images microscopiques de MPA (A,B) et MC1220 (C,D) au zoom 20x observés avec avec une ligne polaire (A,C) et deux lignes polaires croisées, c'est-à-dire sous lumière polarisée (B,D).**

La mesure de la distribution de la taille des particules PSD par diffraction laser a été réalisée sur les poudres de médicaments en utilisant la méthode détaillée en 2.3. Ceci confirme l'évaluation de taille effectuée par observation microscopique. Les PSD en densité de volume de particules (lignes continues) pour les poudres de MPA et MC1220 sont présentées en Figure 6 et Figure 7.

Ces PSD peuvent aussi être représentées sous forme de distribution cumulée en volumes (lignes pointillées) montrant le volume croissant des particules le long des classes de taille. C'est depuis ce type de courbe que les diamètres centiles  $D_{v,10}$ ,  $D_{v,50}$  et  $D_{v,90}$  peuvent être calculés.

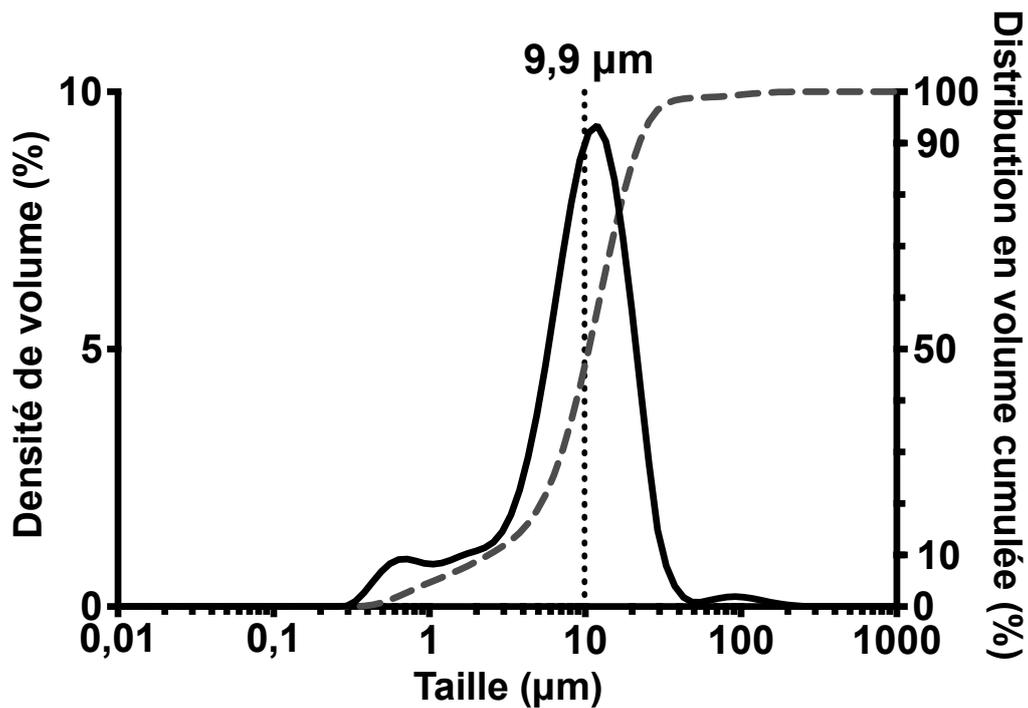


Figure 6 : La PSD représentative de la poudre de MPA avec sa taille en densité de volume (ligne continue) et sa distribution de tailles en volume cumulée (ligne pointillée) contre la taille des particules ( $\mu\text{m}$ ).

La distribution de la taille des particules PSD de MPA (Figure 6) peut être décrite comme relativement monodisperse avec un pic principal de particules vers  $10 \mu\text{m}$ . De même, la courbe en cloche de la PSD de MC1220 (Figure 7) illustre la monodispersité des particules de cette poudre autour d'une taille d'environ  $66 \mu\text{m}$ . La forme régulière en escalier des distributions de taille en volume cumulée (lignes pointillées) confirme que les tailles des particules sont distribuées autour d'une valeur unique et que leur distribution est unimodale.

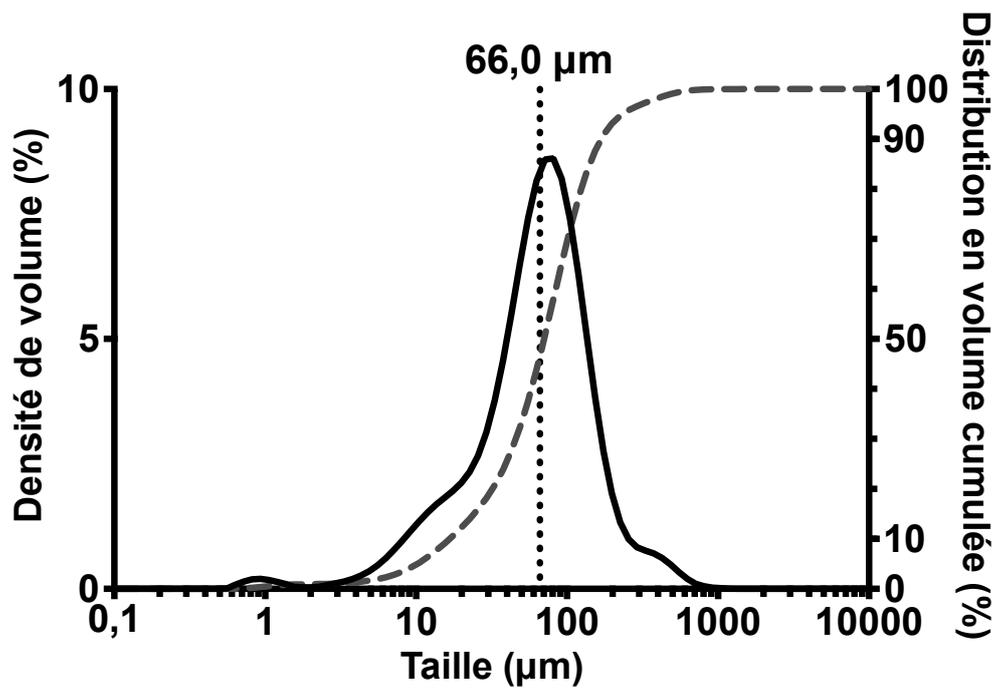


Figure 7 : La PSD représentative de la poudre de MC1220 avec sa taille en densité de volume (ligne continue) et sa distribution de tailles en volume cumulée (ligne pointillée) contre la taille des particules (µm).

La PSD des poudres de PA est résumée dans le Tableau 3. Ces résultats confirment les évaluations de tailles faites par observation microscopique. 50 et 90% des particules de MPA ont une taille inférieure à  $9,9 \pm 0,1$  et  $20,8 \pm 1,9$  µm, respectivement, alors que 50 et 90% des particules de MC1220 ont une taille inférieure à  $66,0 \pm 1,5$  et  $158,0 \pm 3,0$  µm, respectivement. MC1220 a donc une PSD beaucoup plus large avec un  $D_{v,10}$  de  $15,7 \pm 1,9$  µm et un  $D_{v,90}$  de  $158,0 \pm 3,0$  µm.

Tableau 3 : Résumé des résultats de la distribution de la taille des particules (*particle size distribution* ou PSD) pour les deux PAs MPA et MC1220.

PA	Taille (µm) : moyenne ± écart-type (n=3)		
	$D_{v,10}$	$D_{v,50}$	$D_{v,90}$
MPA	$2,2 \pm 0,2$	$9,9 \pm 0,1$	$20,8 \pm 1,9$
MC1220	$15,7 \pm 1,9$	$66,0 \pm 1,5$	$158,0 \pm 3,0$

## 3.2 Comportement thermique

L'analyse thermogravimétrique (TGA) a été réalisée sur les poudres de médicaments pour évaluer leur comportement thermique. Il a été possible de trouver la température à laquelle la perte de poids commence également appelée la température onset extrapolée (*extrapolated onset temperature*)  $T_o$  (°C) et la température à laquelle la vitesse de changement est la plus grande sur la courbe de perte de masse aussi appelée point d'inflexion  $P_i$  (°C).

Un tracé représentatif de l'analyse thermogravimétrique (TGA) de MC1220 montrant comment ces températures sont identifiées figure en Figure 8.

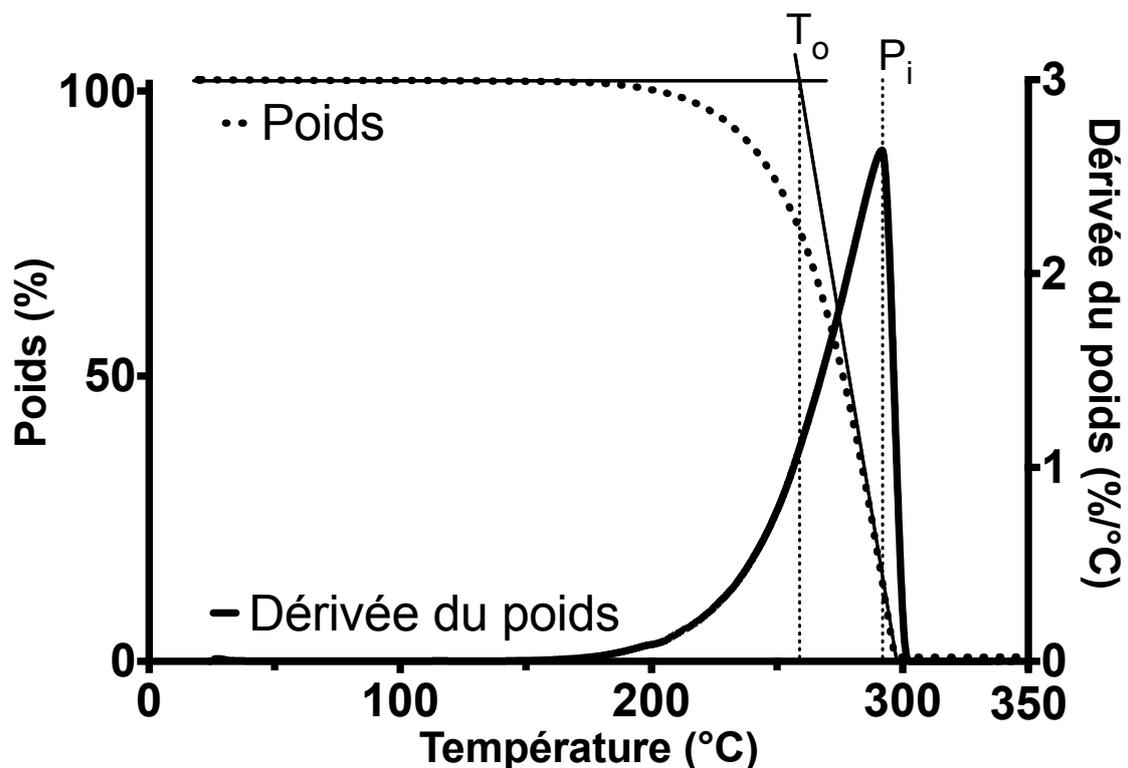


Figure 8 : Tracé représentatif of MC1220 fourni montrant comment sont identifiés la température onset extrapolée ( $T_o$ ) et le point d'inflexion ( $P_i$ ).

MC1220 et MPA ont commencé leur perte de poids aux températures d'environ 259 et 289°C, respectivement (Tableau 4).

**Tableau 4 : Résumé des résultats TGA présentés comme moyenne  $\pm$  écart-type (n=3).**

PA	Temp. onset extrapolée	Point d'inflexion
	T <sub>o</sub> (°C)	P <sub>1</sub> (°C)
<b>MPA</b>	288,6 $\pm$ 0,3	316,7 $\pm$ 1,9
<b>MC1220</b>	258,9 $\pm$ 2,2	292,2 $\pm$ 2,3

Le comportement thermique de MPA et MC1220 a été étudié d'avantage par analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC). Cette technique est utilisée pour identifier des transitions de phase comme des fusions, cristallisations ou transitions vitreuses. Après avoir soumis à un cycle de chauffage-refroidissement-chauffage entre 20°C et 220°C, MPA a montré trois différents types de comportement (Figure 9). Selon les certificats d'analyse, MPA fond entre 200 et 210°C.<sup>117</sup> Toutes les mesures ont montré un point de fusion dans cette gamme de température de fusion (T<sub>m</sub>) pendant le premier chauffage. Pour la plupart des échantillons (comme l'échantillon 3/6 en bas de la figure), une petite transition vitreuse (T<sub>g</sub>) a été observée pendant la seconde étape de chauffage aux alentours des 65°C (Tableau 5) et aucun autre pic de fusion n'a été observé par la suite. Cependant, un échantillon MPA (échantillon 2/6) a recristallisé pendant l'étape de refroidissement, aucune transition vitreuse n'a donc été observée pendant le second chauffage mais un nouveau pic de fusion a été observé vers 206°C. Un autre échantillon (échantillon 6/6) a recristallisé pendant la seconde étape de chauffage, après la transition vitreuse, avant un nouveau pic de fusion observé légèrement en dessous de 207°C.

Il est à noter que pour les échantillons qui recristallisent (2/6 et 6/6), la température de fusion de début de pic (T<sub>m</sub>) pendant le second chauffage (205,35  $\pm$  0,11) est plus faible que celle durant le premier chauffage (206,97  $\pm$  0,03). Cette différence est statistiquement significative (p < 0,05). Les pics de recristallisation exothermiques pour MPA ont été observés entre 135 et 165°C.

**Tableau 5 : Résumé des résultats des analyses DSC pour MPA.**

	Conditions	T <sub>m</sub> (°C)	Enthalpie de	T <sub>g</sub> (°C)
			fusion $\Delta H_g$ (J/g)	
<b>MPA</b>	Sans le 2 <sup>nd</sup> chauffage (n=4)	207,0 $\pm$ 0,1	85,7 $\pm$ 2,1	64,7 $\pm$ 0,2
	Avec le 2 <sup>nd</sup> chauffage (n=6)	206,6 $\pm$ 0,9	84,8 $\pm$ 2,4	64,7 $\pm$ 0,2

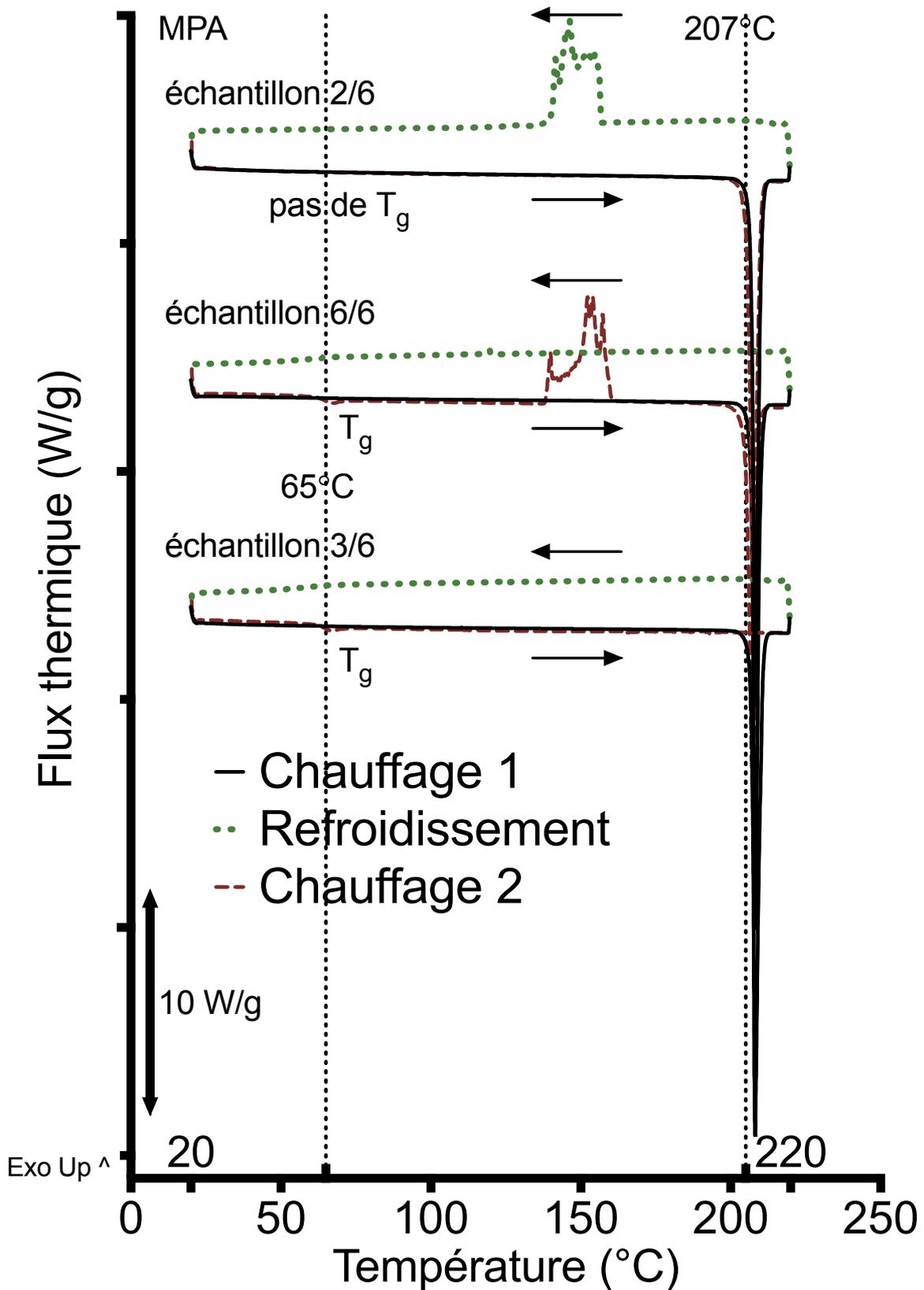


Figure 9 : Trois tracés DSC représentatifs de MPA soumis à un cycle de chauffage-refroidissement-chauffage.

Concernant le cycle de chauffage-refroidissement-chauffage de MC1220 (Figure 10), un pic de fusion est observé autour de 196,5°C pendant la première étape de chauffage, cette température de fusion de début de pic  $T_m$  est proche de la gamme de températures attendue

pour MC1220 : 194 – 196°C (comme reporté dans la fiche de données sécurité ou *Material Safety Data Sheet*)<sup>118</sup>. Le petit pic endothermique qui apparaît juste avant (à  $180,2 \pm 0,3^\circ\text{C}$ ) correspondrait à un solvate de ce PA. La formation de solvates peut en effet avoir lieu quand les médicaments sont recristallisés en utilisant différents solvants. Pendant l'étape de refroidissement (pointillés verts), aucune recristallisation n'a lieu. Une recristallisation exothermique est observée pendant le second chauffage (ligne rouge discontinue) à  $103,6 \pm 2,9^\circ\text{C}$ . Suite à cette recristallisation, deux endothermes de fusion ont été observés aux températures de début de pic de 164 et  $195^\circ\text{C}$ . Le premier endotherme de fusion cristallin qui apparaît à une plus faible température semble marquer l'apparition d'un nouveau polymorphe du médicament. Puisque MC1220 est un PA expérimental, son premier polymorphe caractéristique (qui fond à la température  $T_m$  de près de  $197^\circ\text{C}$ ) n'est vraisemblablement pas maintenu pendant tout le procédé de synthèse. La formation possible d'un second polymorphe a donc besoin d'être confirmée. Le résumé des données des températures de fusion de début de pic ( $T_m$ ) de MC1220 est présenté dans le Tableau 6 qui suit.

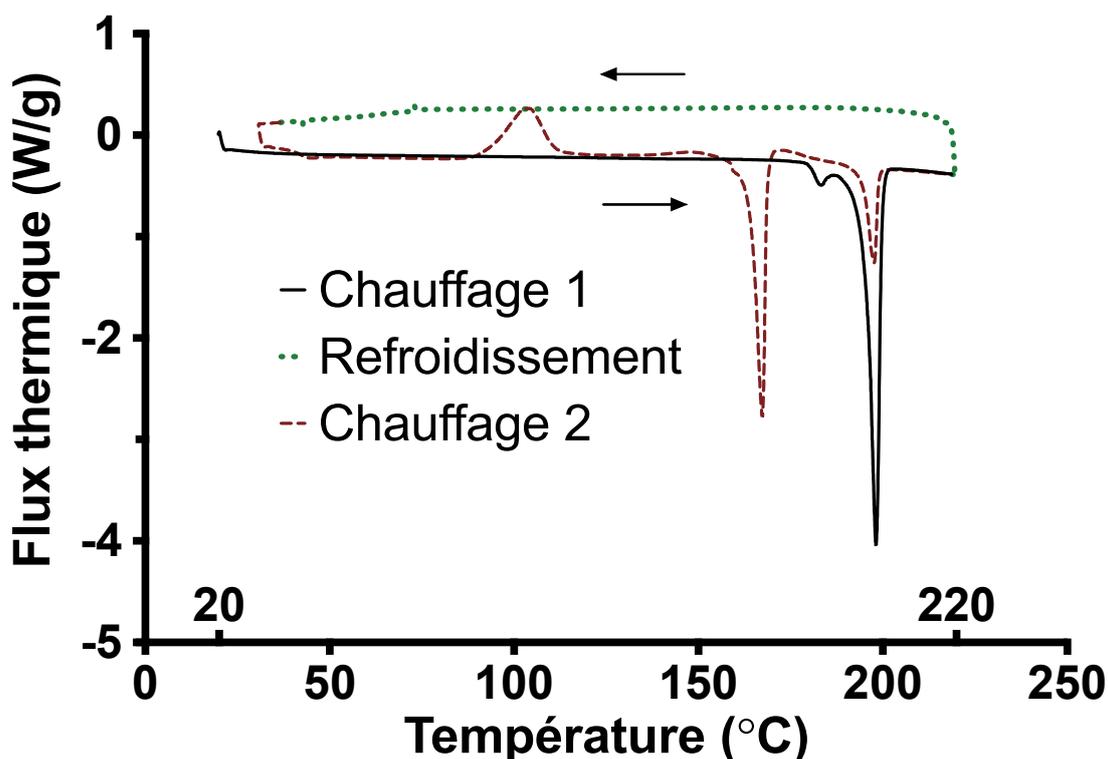


Figure 10 : Thermogramme DSC représentatif pour un cycle de chauffage-refroidissement-chauffage de MC1220.

Le premier chauffage est représenté par une ligne continue, l'étape de refroidissement par une ligne verte en pointillés et le second chauffage par une ligne rouge discontinue.

Tableau 6 : Résumé des résultats des analyses DSC pour MC1220 (n=3).

	Etape de chauffage	Première T <sub>m</sub> (°C)	Enthalpie de fusion ΔH <sub>g</sub> (J/g)	Seconde T <sub>m</sub> (°C)	Enthalpie de fusion ΔH <sub>g</sub> (J/g)
<b>MC1220</b>	Première	196,5 ± 2,5	97,7 ± 4,7		
	Seconde	194,8 ± 1,4	19,3 ± 2,0	164,1 ± 0,5	63,9 ± 6,7

### 3.3 Absorption ultraviolet

Les méthodes HPLC-UV pour la quantification des médicaments nécessitent la connaissance de leurs longueurs d'onde d'absorption caractéristiques. Des scans ultraviolet des deux PAs MPA et MC1220 ont été réalisés en utilisant différents solutions étalons des médicaments préparés dans un mélange IPA/H<sub>2</sub>O aux proportions 50/50. L'absorption est dépendante de la concentration selon la loi de Beer-Lambert :

$$A = \epsilon l c \quad \text{Equation 1}$$

avec A : absorbance (unité arbitraire, u.a.),  $\epsilon$  : coefficient d'extinction (L/mmol/cm),

l : épaisseur de couche de la cuvette (cm) et c : concentration (mmol/L).

Aucun coefficient d'extinction n'est connu pour le médicament expérimental MC1220. La concentration qui donne une absorbance inférieure à 1 unité arbitraire tout au long du spectre a donc été trouvée par tâtonnement (Figure 11). Puisque la première solution étalon à 25 µg/mL absorbe au dessus d'1 unité de densité optique dans certaines régions de longueur d'onde du spectre et que la solution à 2 µg/mL absorbe la lumière UV faiblement, la solution à 25 µg/mL a été diluée par deux pour obtenir une solution ayant une absorbance acceptable. La longueur d'onde maximale ( $\lambda_{\text{max}}$ ) se situe à 235 nm. Cette longueur d'onde est non spécifique et beaucoup de solvants y absorbent (comme ici le mélange IPA/H<sub>2</sub>O). Une longueur d'onde plus adaptée pour développer une méthode HPLC-UV pour la détection de MC1220 serait donc autour de 310 nm.

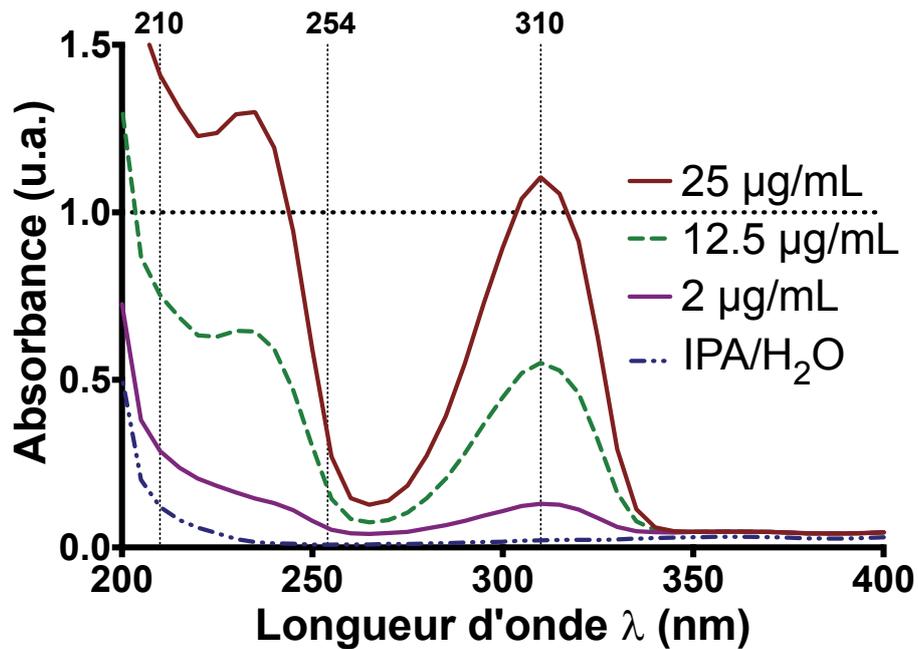


Figure 11 : Balayage UV de MC1220.

La longueur d'onde de référence du MPA (comme reportée dans les pharmacopées internationale, américaine [USP], japonaise, européenne et française) est connue comme étant 254 nm. Le spectre UV de MPA (Figure 12) montre que la longueur d'onde maximale de MPA ( $\lambda_{\text{max}}$ ) est autour de 240 nm, où le solvant absorbe aussi. A 254 nm, le MPA a une absorption UV élevée et le solvant IPA/H<sub>2</sub>O n'absorbe presque pas à cette longueur d'onde. Ceci confirme le choix de travailler à la longueur d'onde de référence de 254 nm pour développer une méthode HPLC-UV pour détecter et doser MPA.

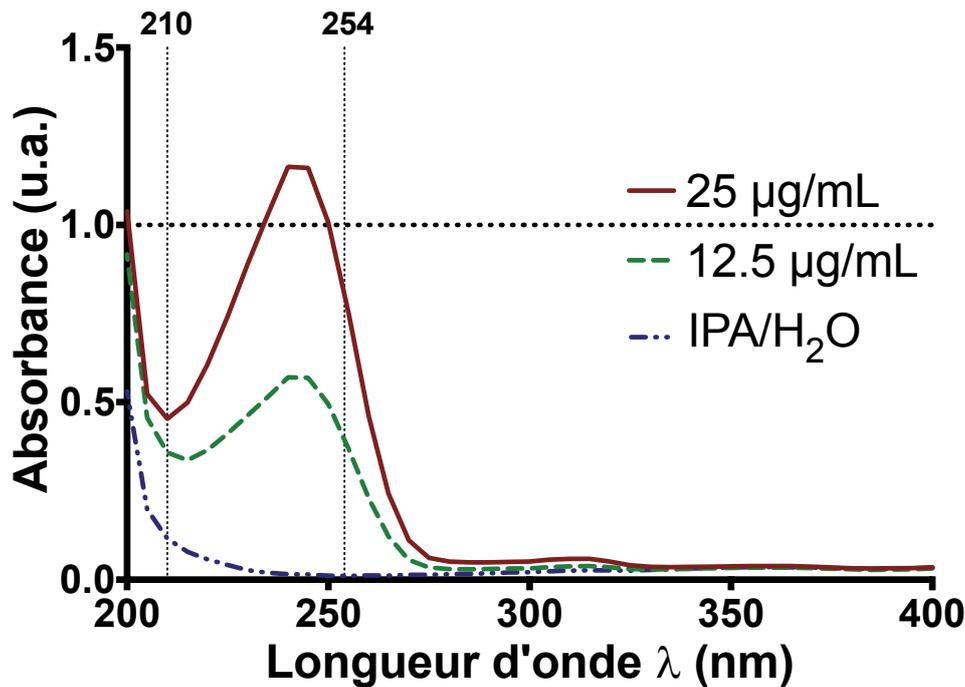


Figure 12 : Balayage UV de l'acétate de médroxy-progestérone (MPA).

## 4 Conclusions et Perspectives

Ces données préliminaires de caractérisation donnent un aperçu pour le développement de formulations injectables de type technologies de prévention polyvalentes TPPs, sous forme d'une injection à libération prolongée, en utilisant l'hormone contraceptive acétate de médroxy-progestérone (MPA) et l'inhibiteur non-nucléotidique de la transcriptase inverse MC1220. La diffraction laser a confirmé la taille des particules évaluée par observations microscopiques. Les poudres de MPA et MC1220 étant toutes deux micronisées, ceci suggère la possibilité de développer des études de libération *in vitro* évaluant la combinaison de ces deux médicaments. Les analyses thermiques TGA et DSC ont permis de mieux comprendre le comportement de ces médicaments sous l'influence de changements de températures avec la possibilité de formation de deux polymorphes de MC1220 pendant le second chauffage de son cycle DSC de chauffage-refroidissement-chauffage. Enfin, les scans de spectroscopie UV de MPA et MC1220 nous ont donné des indications pour le futur développement de méthodes de détection HPLC-UV de ces médicaments. Les longueurs d'onde de détection de MPA et MC1220 étant assez éloignées, ceci pourra être mis à profit pour permettre leur détection simultanée lors du développement de leur combinaison dans une TPP.

En plus des données générées à ce jour, des études plus poussées sont requises pour étudier pleinement les caractéristiques physico-chimiques de ces PAs. La diffractométrie de rayons X (DRX), la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) et la spectroscopie Raman pourraient être utilisées pour caractériser les cristaux présents dans ces poudres de médicaments et peut-être différencier les deux polymorphes possibles de MC1220 observés par analyse DSC.

Dans la partie 3 qui suit, certaines caractéristiques du contraceptif injectable Depo-Provera<sup>®</sup> sont présentées. C'est en effet depuis ce produit que se basera le développement des formulations des futures technologies de prévention polyvalentes (TPPs) sous forme d'injections à action prolongée fournissant simultanément une contraception hormonale et une protection contre l'infection au VIH.

# 3

---

Caractérisation du contraceptif hormonal  
Depo-Provera<sup>®</sup>

---

# 1 Introduction

Dans le but de développer de nouvelles technologies de prévention polyvalentes en se basant sur le produit Depo-Provera<sup>®</sup>, présenté dans la Partie 1 – Introduction – Section 2.1, il est nécessaire de caractériser tout d’abord cette forme posologique injectable qui est déjà commercialisée.

Étonnamment, peu d’informations sont disponibles dans la littérature sur Depo-Provera<sup>®</sup>. La « seringabilité », ou capacité à être injecté au moyen d’une seringue, est un paramètre très important pour considérer si une forme posologique peut être administrée avec une aiguille et une seringue, notamment si le diamètre interne de l’aiguille est faible (c’est-à-dire si son numéro de Gauge est élevé) comme cela serait le cas pour des études *in vivo*. Si la force nécessaire pour administrer le volume requis de médicament depuis une seringue est excessive, cela risque d’entraîner une administration difficile pour le chercheur et un inconfort pour l’animal. C’est notamment le cas pour les injections qui pourraient potentiellement induire des complications.<sup>119</sup> Différentes viscosités de produits nécessiteront des aiguilles de tailles variées. De manière générale, plus la viscosité est élevée, plus l’aiguille requise devra être grosse. L’objectif de cette étude est de caractériser le produit Depo-Provera<sup>®</sup> en se focalisant sur la taille et la forme de ses particules, son comportement thermique et sa « seringabilité ». Des résultats préliminaires du développement d’une méthode de libération *in vitro* de l’acétate de médroxy-progestérone MPA depuis Depo-Provera<sup>®</sup> sont également présentés.

## 2 Matériels et Méthodes

### 2.1 Matériels

La suspension stérile pour injection Depo-Provera<sup>®</sup> (dépôt d’acétate de médroxy-progesterone, *depot medroxyprogesterone acetate* ou DMPA en anglais) à 150 mg/mL a été achetée chez Pfizer Ltd. (Sandwich, Royaume-Uni). Les dispositifs Spectra/Por<sup>®</sup> Float-A-Lyzer<sup>®</sup> G2 ont été achetés chez Spectrum laboratories Inc. (Rancho Dominguez, CA, Etats-Unis). Ils ont un volume de 1 mL et seuil de coupure en poids moléculaire de 0,5 à 1,0 kDa. L’acétonitrile de grade HPLC, l’alcool isopropylique (*isopropyl alcohol* ou API) de grade HPLC, le (15)-hydroxy-stéarate de polyéthylène glycol (Kolliphor<sup>®</sup> HS 15), l’acide acétique, l’acétate de sodium et l’acide trifluoro-acétique (*trifluoroacetic acid* ou TFA) ont tous été

fournis par Sigma-Aldrich (Gillingham, Royaume-Uni). L'éthanol absolu a été obtenu chez VWR International Ltd (Poole, Royaume-Uni) et l'eau de grade HPLC (aussi appelée H<sub>2</sub>O ou eau dé-ionisée) a été obtenue grâce à un système pour eau ultrapure Millipore<sup>®</sup> DirectQ<sup>®</sup> 3 UV (Merck Millipore Co., Watford, Royaume-Uni). Les aiguilles K-Pack II 22G × 1 ½" (0.7 × 40 mm) Rx only et Neolus 25G × 5/8" (0.5 × 16mm) ont été obtenues chez Terumo Europe N.V. (Leuven, Belgique), les aiguilles Fine-Ject<sup>®</sup> 27G × ½" (0.4 × 12mm) chez Henke Sass Wolf (Tuttlingen, Allemagne) et les seringues BD Plastipak<sup>™</sup> de 5 mL chez Beckton Dickinson S.A. (Madrid, Espagne).

## 2.2 Observations microscopiques

Une goutte de la suspension Depo-Provera<sup>®</sup> a été déposée entre lame et lamelle et observée avec un microscope digital Keyence<sup>®</sup> VHX-700F équipé d'un zoom grande étendue VH-Z100R/W (Keyence Ltd., Milton Keynes, Royaume-Uni) dans le but d'évaluer la taille et forme des particules suspendues de MPA. Ces mêmes lames ont été observées sous un microscope polarisant BX50F4 d'Olympus<sup>®</sup> Optical Co. Ltd. (Tokyo, Japon) équipé d'une caméra couleur PixelINK<sup>®</sup> Megapixel FireWire 1394 (Ottawa, Canada) et de son logiciel associé PixelINK<sup>®</sup> Capture (version 3.2).

## 2.3 Diffraction laser

La distribution de la taille des particules (*particle size distribution* ou PSD) de Depo-Provera<sup>®</sup> a été étudiée par diffraction de la lumière laser en utilisant un diffractomètre laser Mastersizer<sup>®</sup> 3000 de Malvern Instruments Ltd. (Malvern, Royaume-Uni) équipé d'une unité de dispersion humide interactive Hydro EV (*extended volume*, c'est-à-dire à volume étendu). En utilisant un modèle optique pour particules non-sphériques basé sur la théorie de Mie, les paramètres suivants ont été utilisés pour l'indice de réfraction : 1,525, l'indice d'absorption : 1, la densité : 1,055 g/cm<sup>3</sup> et l'expérience a été répétée trois fois (n=3). La PSD a été analysée en utilisant la même méthode que celle détaillée dans la Partie 2, Section 2.3.

## 2.4 Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Une analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC) a été réalisée sur la suspension Depo-Provera<sup>®</sup> en utilisant un calorimètre différentiel à balayage DSC Q<sub>100</sub><sup>™</sup> préalablement calibré (TA Instruments, New Castle, DE, Etats-Unis). 5 µL de suspension de Depo-Provera<sup>®</sup> ont été précisément pesés dans une coupelle hermétique en aluminium perforée (TA instruments, parties numéro 900793.901) fermée et scellée par un couvercle (parties numéro 900794.901). Ils ont ensuite été soumis à un cycle de chauffage-refroidissement-chauffage entre 20°C et 220°C à une vitesse de 10°C/min sous une atmosphère d'azote, en même temps qu'une coupelle vide de référence. Un échantillon d'eau dé-ionisée (5 µL) dans une coupelle hermétique en aluminium perforée a également été soumis à un mode standard en rampe de température de 20°C à 150°C, comme échantillon témoin. Ces coupelles hermétiques perforées ont été obtenues en perforant leur couvercle à l'aide d'une aiguille 25G pour permettre l'évaporation de l'eau. Cette expérimentation a été réalisée à trois reprises (n=3) et les thermogrammes qui en résultent ont été analysés grâce au logiciel TA Universal Analysis 2000 (version 4.5A). Pour chaque échantillon, le point de fusion  $T_m$  (température de début de pic, °C), l'enthalpie de fusion  $\Delta H$  (J/g) et la température de transition vitreuse  $T_g$  (°C) ont été consignés.

## 2.5 Travail de « seringabilité » (TdS)

Le travail de seringabilité (TdS), aussi appelé moment de force et exprimé en N.mm, a été étudié pour déterminer l'effort requis pour expulser Depo-Provera<sup>®</sup> à travers des aiguilles de différents diamètres internes (22G, 25G and 27G). Un haut degré d'effort nécessaire pour expulser les formulations des seringues identifierait des difficultés potentielles à l'administration intra-musculaire. Des seringues jetables BD Plastipak<sup>™</sup> de 5 mL ont été remplies avec la suspension Depo-Provera<sup>®</sup> à une hauteur constante correspondante à 1 mL. En utilisant un analyseur de texture TA.XT plus (Stable Micro Systems, Godalming, Royaume-Uni), le contenu de la seringue a été expulsé à une vitesse de 1 mm/seconde. L'aire sous la courbe du graphique force-distance qui en résulte a été utilisée pour déterminer le TdS en utilisant le logiciel Exponent TA.XT (version 6.1.4.0, également de Stable Micro Systems). Le TdS correspondant à l'expulsion de l'équivalent d'1 mL d'air et 1 mL d'eau dé-ionisée ont été utilisés comme témoin. Une augmentation en TdS se traduit par une augmentation de l'aire sous la courbe. Toutes les mesures ont été répétées trois fois (n=3).

## 2.6 Analyses statistiques

L'impact du diamètre interne de l'aiguille (numéro de Gauge) sur le TdS de Depo-Provera<sup>®</sup> a été étudié avec le logiciel GraphPad Prism<sup>®</sup> version 7.0 pour Mac OS X (GraphPad Software, La Jolla, Californie, Etats-Unis, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)) par analyse de variance à deux facteurs, où  $p < 0,05$  est utilisé pour dénoter une différence statistiquement significative. Un test de Tukey a ensuite été utilisé pour les différences statistiquement significatives.

## 2.7 Libération *in vitro* accélérée

La libération *in vitro* de Depo-Provera<sup>®</sup> depuis les dispositifs Float-A-Lyzer<sup>™</sup> dans les milieux éthanol/H<sub>2</sub>O 20/80 (v/v) et une solution tampon d'acétate de sodium (solution tampon acétate contenant 98% de tampon acétate de sodium et 2% de Kolliphor<sup>®</sup> HS 15) a été évaluée de manière continue sur une période de 3 jours. Les échantillons répétés ont été produits en injectant le contenu d'une seringue pré-remplie de Depo-Provera<sup>®</sup> (1 mL) dans un dispositif Float-A-Lyzer<sup>™</sup>. Ces dispositifs remplis ont ensuite été individuellement placés dans des flacons à bouchon à vis de 250 mL contenant chacun 200 mL de milieu de libération. Les flacons ont été placés dans un incubateur orbital rotatif Infors HT Unitron<sup>®</sup> (Infors AG, Bottmingen, Suisse) à 37°C et 60 min<sup>-1</sup>. 1 mL de milieu de libération a été prélevé à chaque point et remplacé par du milieu natif aux temps suivants : 0, 30', 1, 3, 6, 12, 24, 48 et 72 h. L'étude de libération a été répétée trois fois (n=3) pour chaque milieu. La quantité de MPA libérée des dispositifs Float-A-Lyzer<sup>™</sup> a été dosée par chromatographie liquide haute performance (HPLC) à détection UV comme décrit dans le paragraphe suivant.

## 2.8 Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

Une méthode HPLC à phase inverse a été développée pour le MPA en utilisant un système Waters Alliance avec un module de séparation e2695 (Waters Corporation, Milford, Royaume-Uni) et une détection UV aux longueurs d'onde 210 nm et 254 nm (avec le détecteur d'absorbance à double  $\lambda$  2489). 20  $\mu$ L ont été injectés pour chaque échantillon dans une colonne Phenomenex<sup>™</sup> Luna 5  $\mu$ m C18(2) 100 Å (150×4.6 mm; Phenomenex Ltd., Cheshire, Royaume-Uni) maintenue à 30 ± 5°C. Ces échantillons ont ensuite été soumis à une élution isocratique de 10 minutes à un débit de 1 mL/min en utilisant pour phase mobile un mélange 0.1% TFA dans de l'eau / acétonitrile aux proportions 40/60 (v/v). Après injection, le MPA est élué vers 8,3 minutes. Une gamme d'étalonnage de MPA de 0.5 à 100  $\mu$ g/mL a été préparée dans un mélange IPA/H<sub>2</sub>O aux proportions 50/50 (v/v). La courbe d'étalonnage a

été tracée après mesure de l'aire des pics des différents points de la gamme pour chaque longueur d'onde. Le recueil et l'analyse des données sont accomplis avec le logiciel Empower<sup>®</sup> 2.

### 3 Résultats et Discussion

#### 3.1 Distribution de la taille des particules (*particle size distribution* ou PSD)

La microscopie digitale a permis l'évaluation de la taille des particules de Depo-Provera<sup>®</sup> qui s'étendait de 1 à 20  $\mu\text{m}$  (Figure 13). Sous lumière polarisée, la suspension a réfléchi la lumière sur la majeure partie de l'échantillon en donnant différentes couleurs. Ceci indique que la suspension est composée d'une poudre micronisée composée de fines particules cristallines (Figure 14).

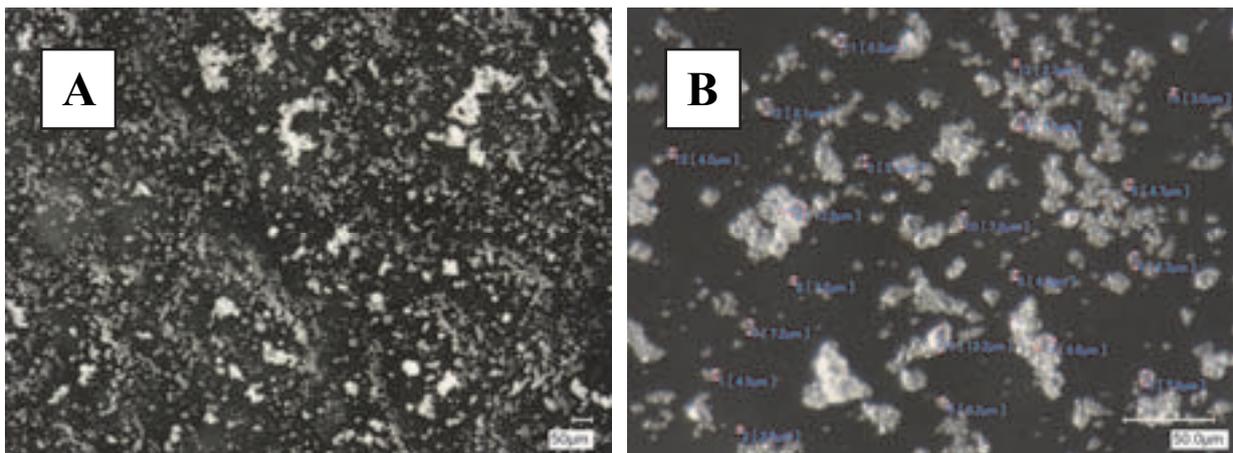


Figure 13 : Images de microscopie digitale de la suspension Depo-Provera<sup>®</sup> aux zooms 200x (A) et 1000x (B) avec 20 mesures de taille.

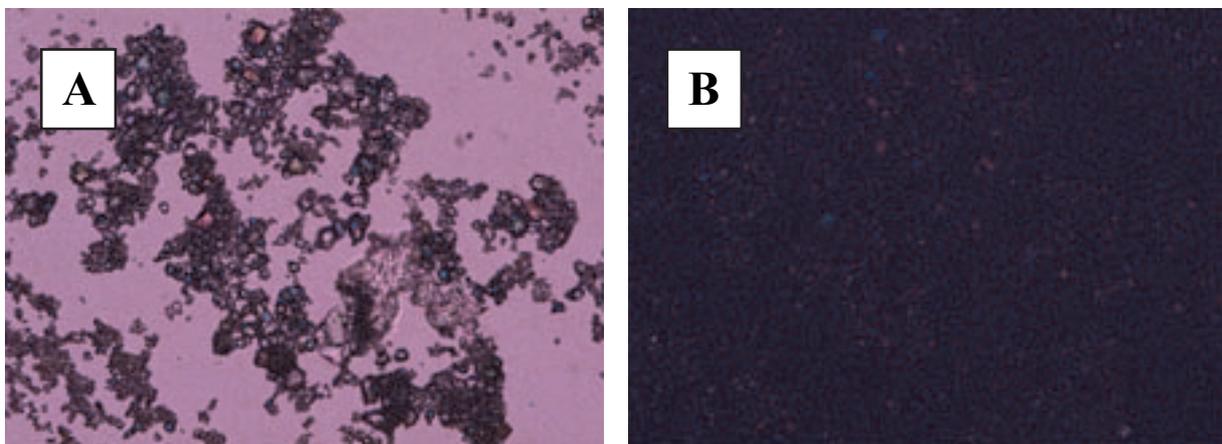


Figure 14 : Images de microscopie de Depo-Provera<sup>®</sup> au zoom 20x observé avec une ligne polaire (A) et deux lignes polaires croisées (B), c'est-à-dire sous lumière polarisée.

La PSD mesurée par diffraction laser a montré une distribution globalement monomodale de la taille des particules avec une courbe en forme de cloche désaxée vers les plus petites tailles de particules (Figure 15). La plupart de la densité de volume se trouve entre 1 et 20  $\mu\text{m}$ . Ceci confirme la gamme de tailles évaluée par observation en microscopie digitale. La courbe de distribution de taille en volume cumulée (ligne en pointillée) montrant une forme à un seul étage, la monodispersité générale de la PSD est confirmée. La PSD consignée dans le Tableau 7 est déduite de cette dernière courbe. Comme attendu, 90% des particules ont une taille inférieure à  $17,5 \pm 1,6 \mu\text{m}$  ( $D_{v90}$ ); 50% inférieure à  $8,6 \pm 1,8 \mu\text{m}$  ( $D_{v50}$ ) et 10% inférieure à  $1,85 \pm 0,55 \mu\text{m}$  ( $D_{v10}$ ).

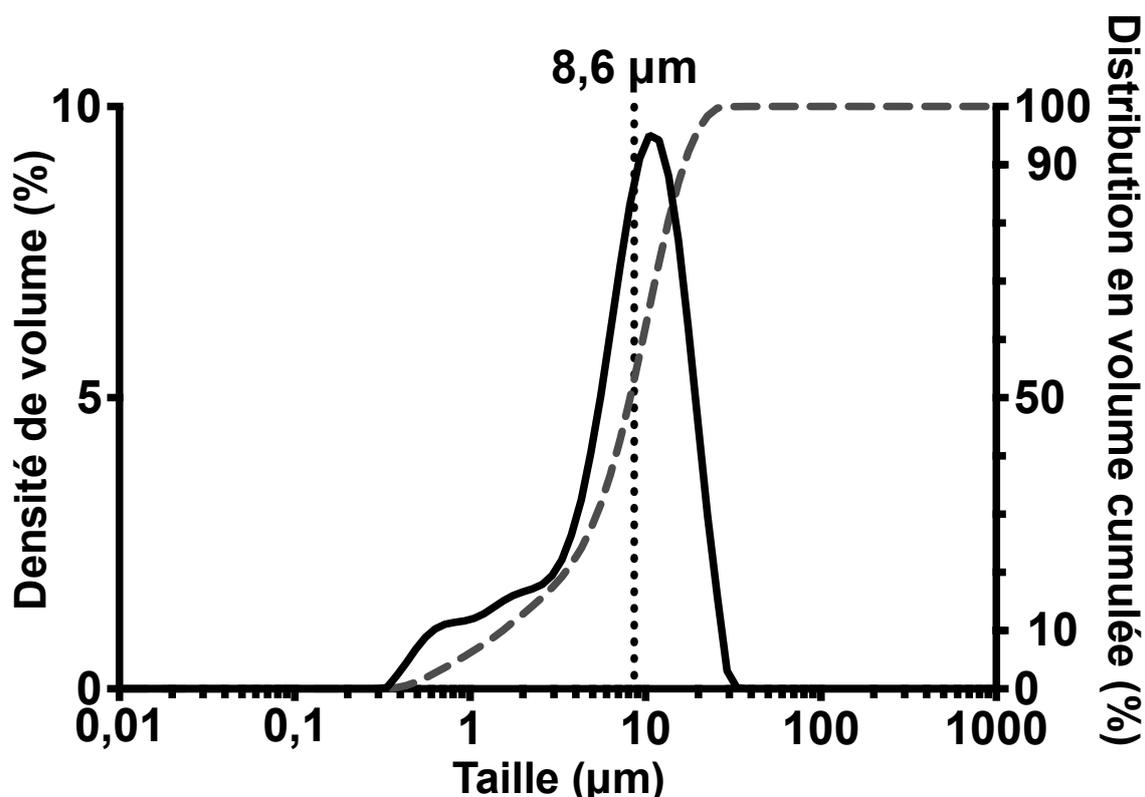


Figure 15 : La PSD représentative de la suspension Depo-Provera<sup>®</sup> avec sa taille en densité de volume (ligne continue) et sa distribution de taille en volume cumulée (ligne pointillée) contre la taille des particules ( $\mu\text{m}$ ).

Tableau 7 : Distribution de la taille des particules (*particle size distribution* ou PSD) de la suspension Depo-Provera<sup>®</sup>.

Taille ( $\mu\text{m}$ ) : moyenne $\pm$ écart-type (n=3)			
Depo-Provera <sup>®</sup>	$D_{v10}$	$D_{v50}$	$D_{v90}$
	$1,85 \pm 0,55$	$8,6 \pm 1,8$	$17,5 \pm 1,6$

## 3.2 Comportement thermique

L'analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC) a été réalisée sur Depo-Provera<sup>®</sup> pour étudier son comportement thermique. De l'eau dé-ionisée a été utilisée comme témoin. Les thermogrammes représentatifs sont présentés en Figure 16. Pendant la première étape de chauffage, un pic endothermique large et épais est observé à 100°C, attribué très probablement à l'eau présente dans la formulation étant donné la similarité avec le thermogramme du témoin. Une seconde transition endothermique est observée vers 202°C, dans la partie basse de la gamme de températures de fusion attendues pour le médicament MPA pur. Une recristallisation semble avoir lieu pendant l'étape de refroidissement entre 160 et 170°C. Enfin, pendant la seconde et dernière étape de chauffage, il y a une légère dépression à environ 46°C et un second pic de fusion autour de 199°C. Ce dernier pic est le second  $T_m$  caractéristique de MPA qui est juste en dessous de sa gamme de température de fusion attendue (entre 200 et 210°C). Les résultats donnés dans le Tableau 8 sont les moyennes et écart-types de mesures répétées trois fois (n=3).

Au dessus de 120°C, le profil des thermogrammes DSC est similaire à celui de l'échantillon 2/6 du médicament MPA pur, où la recristallisation a lieu pendant l'étape de refroidissement (voir Figure 9 de la Partie 2, Section 3.2). Cette recristallisation a lieu entre 160 et 170°C et non entre 140 et 155°C. Pendant le second chauffage, la légère dépression autour de 46°C semblerait correspondre à une petite transition vitreuse (*glass transition* ou  $T_g$  en anglais) ou à une petite fusion ( $T_m$ ). Contrairement au médicament fourni en l'état (Figure 9 de la Partie 2, Section 3.2), aucune dépression correspondant à une transition vitreuse n'est observée à 64 – 65°C. Finalement, pour la seconde étape de chauffage, le pic de fusion caractéristique du médicament MPA pur est apparu à une température légèrement plus faible que la gamme de températures de fusion  $T_m$  pour MPA. Toutes les différences observées sur les thermogrammes DSC pourraient être dues à des interactions du médicament avec les excipients.

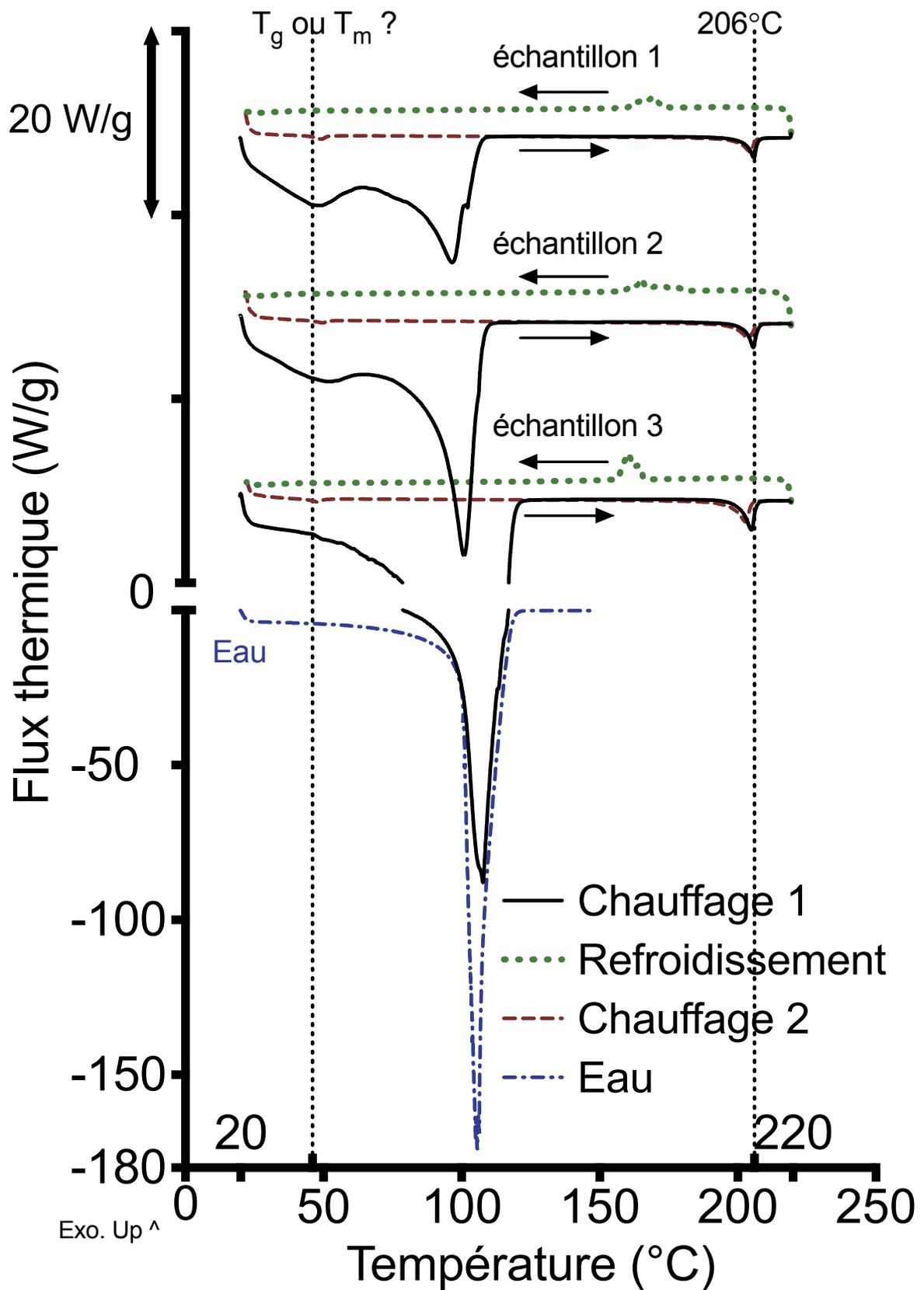


Figure 16 : Thermogrammes DSC de trois échantillons Depo-Provera® et de l'eau dé-ionisée.

Tableau 8 : Résultats d'analyse DSC obtenus pour la suspension Depo-Provera®.

\*Gamme de  $T_m$  attendue rapportée dans la littérature.<sup>120</sup>

(n=3)	$T_m$ attendue pour MPA (°C)	Etape de chauffage	$T_m$ pour MPA (°C)	Enthalpie de fusion $\Delta H_g$ (J/g)
Depo-Provera®	200 – 210*	1	202,2 ± 0,9	13,1 ± 0,4
		2	199,1 ± 0,8	10,6 ± 0,9

(n=3)	Etape de chauffage	$T_g$ (°C)	ou 2 <sup>ème</sup> $T_m$ (°C)	et 2 <sup>ème</sup> enthalpie de fusion (J/g)
Depo-Provera®	2	47,0 ± 0,6	45,0 ± 0,5	1,4 ± 0,7

### 3.3 Caractérisation mécanique

Depo-Provera® a été administré au moyen d'une seringue à travers trois différentes aiguilles (22G, 25G and 27G) pour évaluer la facilité à laquelle la suspension pouvait être expulsée à de faibles diamètres internes d'aiguille et comparé aux témoins choisis, l'air et l'eau. Les résultats du travail de seringabilité (TdS) sont présentés en Figure 17.

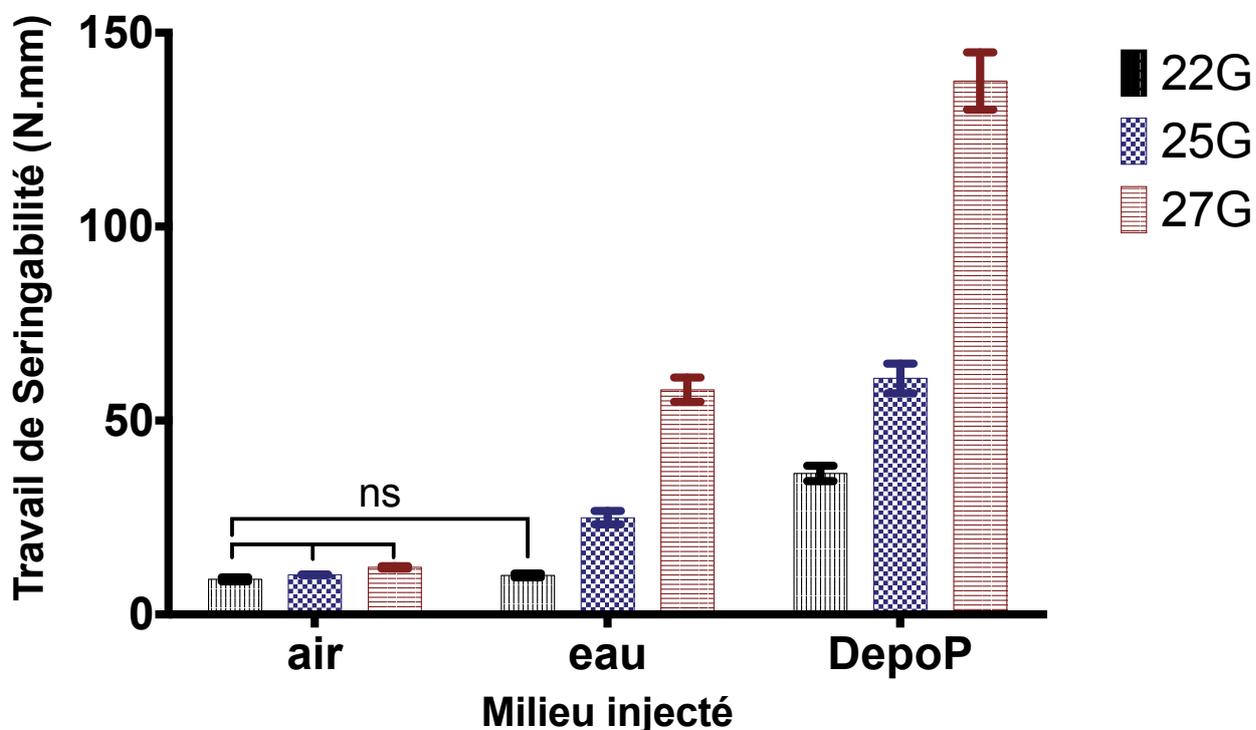


Figure 17 : TdS déterminé à partir des graphiques force-distance pour chaque aiguille (Moyenne ± écart-type, n=3). ns : non significatif ( $p > 0,05$ ) ; toutes les autres comparaisons étant statistiquement significatives avec  $p < 0,0001$ .

Une augmentation du nombre de Gauge de l'aiguille, c'est-à-dire une diminution du diamètre externe<sup>121</sup> de l'aiguille a résulté en une augmentation statistiquement significative du TdS exercé sur la seringue pour expulser le volume donné de suspension ( $p < 0,0001$ ). Le TdS le plus élevé a donc été enregistré pour l'aiguille de 27G ( $137,5 \pm 7,4$  N.mm), avec 22G montrant le plus faible ( $36,3 \pm 2,0$  N.mm), hormis les contrôles respectifs. Les études de seringabilité ont été conduites en utilisant ces trois tailles de Gauge d'aiguille après consultation des recommandations pour l'expérimentation sur animaux de laboratoire. Suckow, Weisbroth, Franklin et Hedrich recommandent d'utiliser, pour des injections intramusculaires, des aiguilles avec diamètre interne maximal de 25G chez le rat et 27G chez la souris.<sup>122,123</sup> Ces aiguilles de faible diamètre interne sont utilisées pour limiter toute douleur éprouvée par l'animal mais aussi pour réduire le risque d'infection et tout effet indésirable lié à cette difficile procédure.

### 3.4 Libération *in vitro*

Suite à la détermination préalable de la longueur d'onde maximale d'absorption de MPA (voir Partie 2, Section 3.3), des solutions étalons de MPA dans un mélange IPA/H<sub>2</sub>O aux proportions 50/50 (de 0,5 à 100 µg/mL) ont été utilisées pour construire des étalonnages linéaires aux longueurs d'onde 210 et 254 nm. Les courbes d'étalonnage qui en résultent ont été tracées en Figure 18 avec leur équation et coefficient de corrélation  $R^2$ .  $R^2$  était  $\geq 0,99$  à chaque longueur d'onde de détection. Les aires sous la courbe des pics chromatographiques de MPA étaient plus élevées à 254 nm, la longueur d'onde décrite dans la pharmacopée européenne<sup>107</sup>, indiquant un pouvoir d'absorption molaire augmenté, et donc une sensibilité accrue à cette longueur d'onde. Ceci confirme le choix de travailler à 254 nm pour développer la méthode HPLC-UV pour MPA. L'analyse HPLC a été réalisée sur des échantillons de libération *in vitro* pour déterminer la présence de MPA dans chaque échantillon et tout autre composé qui pourrait également être présent. Les chromatogrammes qui en résultent sont présentés dans la Figure 19 pour la libération dans les milieux éthanol/H<sub>2</sub>O aux proportions 20/80 (v/v) (Figure 19A) et solution tampon acétate (ABS) avec 2% de Kolliphor<sup>®</sup> HS 15 (Figure 19B). Ces milieux de libération ont été choisis pour permettre d'aider la dissolution du PA à l'aide d'un solvant (éthanol) ou d'un surfactant (Kolliphor<sup>®</sup> HS 15). Des pics correspondant au MPA (vers 8.3 min) ont été observés aux faibles concentrations lors de la libération dans le milieu aqueux (Figure 19A), en dessous du témoin à 10 µg/mL, avec une aire sous la courbe et donc une concentration diminuant au cours du temps. Cependant, aucun pic de MPA n'a été observé dans les échantillons de libération dans le milieu ABS. D'autres

composés sont apparus dans les échantillons analysés se traduisant par la présence d'autres pics. Les excipients méthyl-paraben (MP) et propyl-paraben (PP) ont été identifiés aux temps d'élutions respectifs 2,3 et 3,2 min, en accord avec ce qui a déjà été rapporté dans la littérature.<sup>124</sup> Au cours du temps, l'aire du pic de MPA diminue alors que l'aire du pic de MP augmente signifiant que du MPA est toujours libéré. Les échantillons de libération dans le milieu éthanol/H<sub>2</sub>O ont aussi élué un autre composé autour de 1,9 min. Ceci pourrait être un produit de dégradation de MPA : la médroxy-progesterone formée par hydrolyse ou des impuretés, comme expliqué dans la monographie de l'injection de médroxy-progesterone dans la pharmacopée française, la pharmacopée européenne et la pharmacopée internationale de l'OMS.<sup>106,107,125</sup>

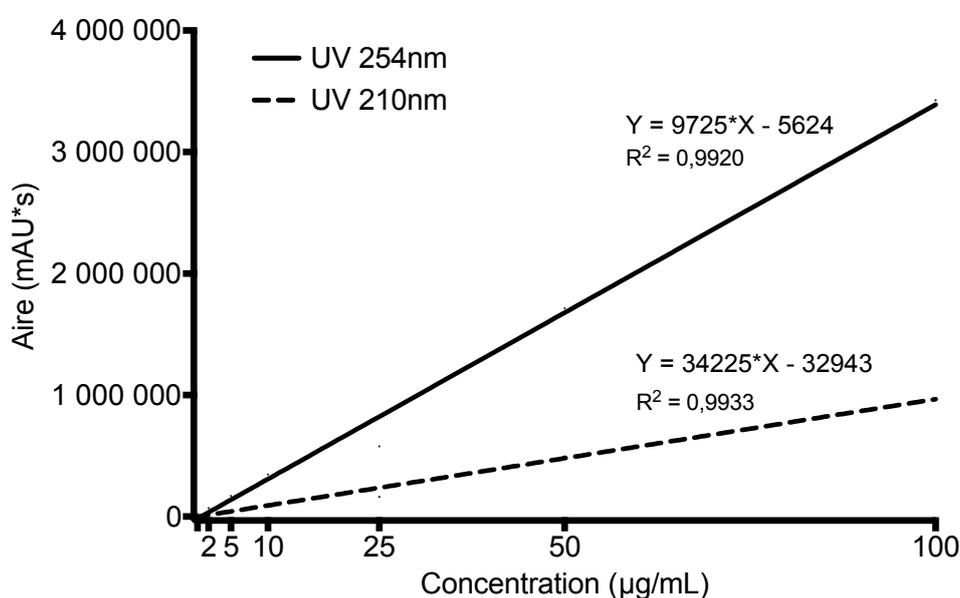


Figure 18 : Courbes d'étalonnage de MPA obtenues à deux différentes longueurs d'onde en HPLC-UV.

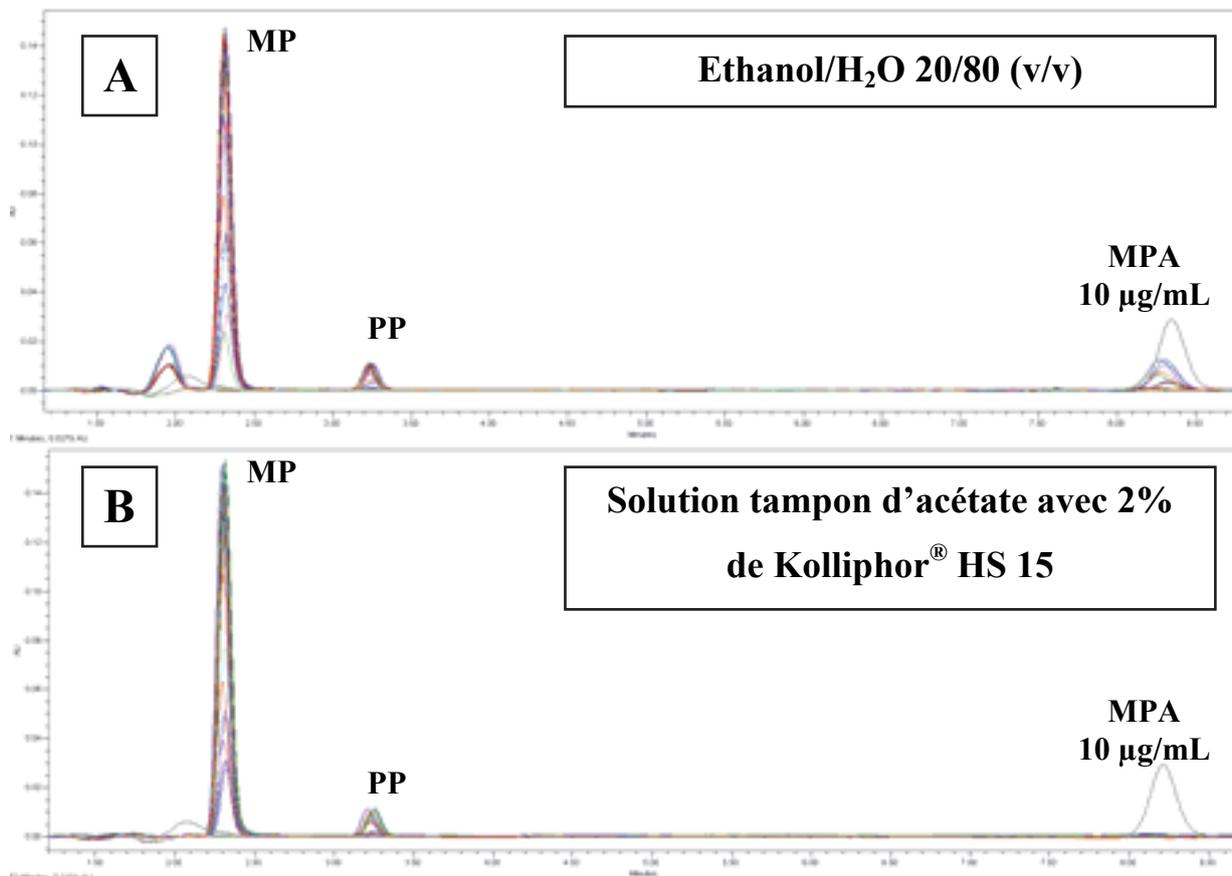


Figure 19 : Chromatogrammes UV illustrant la libération de MPA dans les milieux éthanol/H<sub>2</sub>O aux proportions 20/80 (v/v) (A) et dans la solution tampon d'acétate (ABS) avec 2% de Kolliphor<sup>®</sup> HS 15 (B) à 254 nm.

## 4 Conclusions et Perspectives

Ces données de caractérisation préliminaires sont des prémices de développement de formulations injectables de type dépôt en tant que technologie de prévention polyvalente en se basant sur la formulation Depo-Provera<sup>®</sup>. La diffraction laser a confirmé la taille des particules évaluée par observation microscopique : ses D<sub>v</sub>10, D<sub>v</sub>50 et D<sub>v</sub>90 rapportées étaient, respectivement, 1,85 ± 0,55 µm, 8,6 ± 1,8 µm et 17,5 ± 1,6 µm. Le comportement thermique de Depo-Provera<sup>®</sup> a également été évalué ainsi que sa capacité à être injecté au moyen d'une seringue à travers des aiguilles de différents diamètres. Des résultats préliminaires de sa libération à travers des dispositifs Float-A-Lyzer<sup>™</sup> ont montré que MPA se dégrade dans le milieu de libération.

En plus d'utiliser une taille d'aiguille appropriée, il est important de prévenir toute dégradation accélérée du produit par un pH inapproprié. La méthode HPLC-UV pour doser le MPA nécessite d'être améliorée et validée de telle sorte que la concentration en MPA dans le milieu de libération puisse être établie avec certitude. Des efforts doivent également être

effectués pour mieux contrôler la libération de MPA des Float-A-Lyzer™ en prévenant potentiellement la dégradation de MPA lorsque qu'il diffuse dans le milieu. Des investigations plus poussées pour choisir le milieu de libération idéal doivent également être entreprises.

Dans la partie suivante – partie 4, le mélange des deux médicaments MPA et MC1220 est étudié par analyse thermique dans le but d'identifier leur composition eutectique. Cette étude est une autre étape qui pourra contribuer au développement d'une TPP injectable.

# 4

---

Identification de la composition eutectique  
d'un mélange de deux médicaments :  
MPA et MC1220

---

# 1 Introduction

Les médicaments combinés, *combination drug products* ou CDPs en anglais, sont des formes posologiques uniques comprenant au moins deux principes actifs (PAs) qui peuvent cibler une ou plusieurs maladies (souvent liées). Pour les patients, ces CDPs permettent souvent de mener à une thérapie simplifiée, une efficacité clinique améliorée, une occurrence d'effets indésirables diminuée et une observance accrue.<sup>126-128</sup> Pour les industries pharmaceutiques, les CDPs offrent aussi d'excellentes opportunités pour la gestion du cycle de vie des médicaments déjà sur le marché.

Cependant, les CDPs sont aussi plus complexes à mettre au point que les formes posologiques ne contenant qu'un seul PA ; et il existe un risque accru d'interactions médicamenteuses. Dans de nombreuses situations, ces interactions portent préjudice à la stabilité, à l'efficacité thérapeutique et à la sécurité clinique des CDPs. Occasionnellement, les interactions médicamenteuses peuvent augmenter l'activité d'un CDP. Certains produits pharmaceutiques sur le marché comprennent par exemple deux PAs formulés à une composition spécifique, dite composition eutectique. C'est le cas pour la crème anesthésique locale EMLA<sup>®</sup>, dont l'association de deux PAs offre aux PAs une perméabilité transdermique accrue. Le nom commercial de cette spécialité est par ailleurs une abréviation anglaise : « *Eutectic Mixture of Local Anesthetics* » qui pourrait se traduire par « Mélange Eutectique d'Anesthésiques Locaux » puisqu'elle contient en effet en quantité égale des anesthésiques lidocaïne et prilocaïne.

Dans le but de développer des formulations à action prolongée avec des caractéristiques de libération spécifiques, une connaissance de la diffusion et de la solubilité est requise, notamment lors de la combinaison de deux médicaments au sein d'une même forme posologique. Ces données peuvent être déterminées pendant l'étape de pré-formulation ou par des études de libération *in vitro*. Connaître les proportions auxquelles deux médicaments hydrophobes interagissent le plus favorablement offre un avantage non négligeable. Par exemple, le comportement de phase des molécules stéroïdiennes étonogestrel et éthinyl-estradiol a été étudié par analyse thermique dans le passé<sup>129</sup>, démontrant que ces molécules forment un mélange eutectique. Un eutectique est défini comme un mélange de deux corps en proportions données qui fond à une température constante plus faible que les températures de fusion des corps séparés. Cet abaissement de la température de fusion du système est appelé

fusion eutectique. Il est responsable d'une augmentation en solubilité des PAs et ainsi de l'amélioration de leur perméabilité.

La combinaison de l'hormone stéroïdienne acétate de médroxy-progestérone (MPA) et de l'antirétroviral MC1220 a été étudiée ici pour déterminer leur aptitude à être co-formulés dans une suspension injectable. Le potentiel de formation d'une composition eutectique de ces deux médicaments hydrophobes a été évalué en utilisant une analyse thermique du mélange des poudres à différents ratios. Il est espéré que mélanger ces deux médicaments diminuera leur point de fusion, augmentera leur solubilité, leur vitesse de dissolution et leur libération *in vitro* comparé aux formes posologiques séparées correspondantes. La calorimétrie différentielle à balayage (en anglais, *Differential Scanning Calorimetry* ou DSC) est la technique d'analyse thermique utilisée. Dans une chambre à température contrôlée, une coupelle porte-échantillon (contenant un échantillon de la poudre ou du liquide d'intérêt) et une coupelle de référence (généralement vide) sont chauffées à vitesse constante pour les maintenir à la même température. La différence de chaleur requise pour augmenter la température à la fois de l'échantillon et de la référence est suivie. Quand des transitions de phase ont lieu dans la coupelle porte-échantillon, de la chaleur est soit absorbée soit libérée. Lors d'une fusion (processus endothermique) plus de chaleur est requise et lors d'une cristallisation (processus exothermique) moins de chaleur est requise pour maintenir les deux coupelles à la même température. Sur les courbes de DSC ou thermogrammes tracés en conséquence, des pics de fusion et de cristallisation peuvent être observés. La direction de ces pics dépend de l'orientation de l'axe des ordonnées (axe des y).

## 2 Matériels et Méthodes

### 2.1 Matières premières

MC1220 a été gracieusement fourni par l'Université de Cagliari (Italie) et MPA acheté chez Sequoia Research Products Ltd. (Pangbourne, Royaume-Uni).

## 2.2 Mélange de poudres solides de MPA et MC1220

Des mélanges de poudres solides de MPA et MC1220 (poids total de 0.1g, avec des incréments massiques de 10%) ont été préparés par mélange intime en utilisant un SpeedMixer™ (DAC 150 FVZ-K, Synergy Devices Ltd., High Wycombe, Royaume-Uni) pendant 1 min à 1000 min<sup>-1</sup>.

## 2.3 Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

L'analyse calorimétrique différentielle à balayage (DSC) a été réalisée sur ces mélanges en utilisant un calorimètre différentiel à balayage DSC Q<sub>100</sub>™ calibré (TA Instruments, New Castle, DE, Etats-Unis). Pour chaque mélange, trois échantillons identiques (n=3) d'environ 3 mg ont été précisément pesés dans des coupelles standard en aluminium (TA instruments, parties numéro 900786.901) et fermés par des couvercles (parties numéro 900779.901) mais non scellées pour permettre d'évaporer toute eau résiduelle. Ils ont ensuite été soumis à un mode de chauffe standard en rampe de température de 20°C à 220°C à une vitesse de 10°C/min sous une atmosphère d'azote, en même temps qu'une coupelle vide de référence. Pour chaque échantillon, la température de début de pic (°C), la température au pic (°C) et l'enthalpie de fusion  $\Delta H$  (J/g) ont été suivies.

## 2.4 Prédiction de l'abaissement des températures de fusion

Van Laarhoven et al. (2002) ont adapté une formule de Martin et al. (1983) pour prédire l'abaissement de température de fusion observée pour chacun des deux composés du système comme c'est le cas dans cette étude.<sup>129,130</sup> En utilisant l'Equation 2, il est possible d'obtenir les valeurs théoriques des abaissements de température.

$$T_{(A)} = - \left[ \frac{1}{(\log(1-x_B)(2.303R/\Delta H_{f(A)})) - 1/T_{0(A)}} \right] \quad \text{Equation 2}$$

Où  $T_{(A)}$  est le point de fusion abaissé du composé A (K),  $\Delta H_{f(A)}$  est l'enthalpie de fusion de A (J/mole),  $T_{0(A)}$  est le point de fusion de A (K), R représente la constante universelle des gaz parfaits (8.314 J/mole/K) et  $x_B$  est la fraction molaire du composé B.

Cette équation a été appliquée aux données de DSC obtenues pour les mélanges de MPA et MC1220.

### 3 Résultats et Discussion

Le comportement thermique des poudres de MC1220, MPA et de leurs mélanges massiques par incréments de 10% a été étudié par calorimétrie différentielle à balayage (DSC). MC1220 a montré une température de fusion à  $196,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$  et MPA à  $207,1 \pm 0,2^\circ\text{C}$  (Figure 20 et Tableau 9). Les températures cristallines de fusion des deux composés ont été abaissées suite au mélange et dans une certaine mesure en fonction du pourcentage massique (% poids).

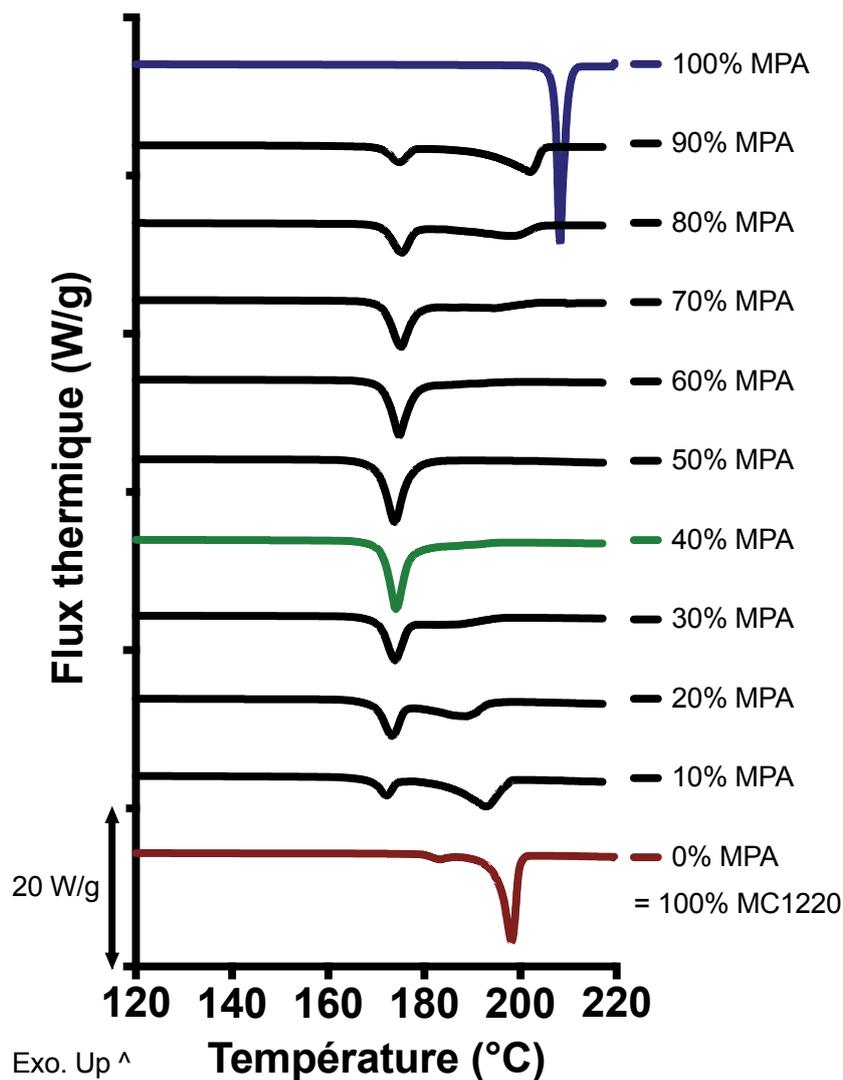


Figure 20 : Tracés DSC représentatifs des mélanges de poudres de MPA et MC1220.

Tableau 9 : Tableau récapitulatif des températures de fusion de début de pic consignées et des enthalpies de fusion  $\Delta H$  correspondantes (n=3).

% MPA	Acétate de médroxyprogestérone MPA		Eutectic		MC1220	
	$T_m$ de début de pic (°C)	$\Delta H$ (J/g)	$T_m$ de début de pic (°C)	$\Delta H$ (J/g)	$T_m$ de début de pic (°C)	$\Delta H$ (J/g)
100	207,1 ± 0,2	85,1 ± 1,3				
90	195,1 ± 4,1	52,0 ± 6,6	171,3 ± 0,1	13,1 ± 3,9		
80	187,7 ± 1,9	23,4 ± 0,5	171,4 ± 0,1	29,6 ± 1,3		
70	187,1 ± 4,1	6,4 ± 0,5	171,6 ± 0,3	40,4 ± 13,4		
60			171,5 ± 0,2	58,4 ± 2,5		
50			171,2 ± 0,8	71,2 ± 8,0		
40			171,5 ± 0,2	80,2 ± 1,1		
30			170,7 ± 0,2	44,0 ± 2,2		
20			169,9 ± 0,1	31,5 ± 0,6	180,8 ± 0,5	21,7 ± 4,2
10			169,0 ± 0,1	15,9 ± 0,3	184,6 ± 0,2	51,8 ± 1,5
0					196,5 ± 2,5	97,7 ± 4,7
	Moyenne ± écart-type		170,9 ± 0,9			

Un mélange eutectique a été observé à  $170.9 \pm 0.9^\circ\text{C}$ . En se basant sur l'extrapolation des courbes *liquidus* de température et sur la valeur de l'enthalpie de fusion  $\Delta H$ , la composition eutectique a été estimée aux proportions 60:40 de MC1220/MPA (Figure 21 et Figure 22).

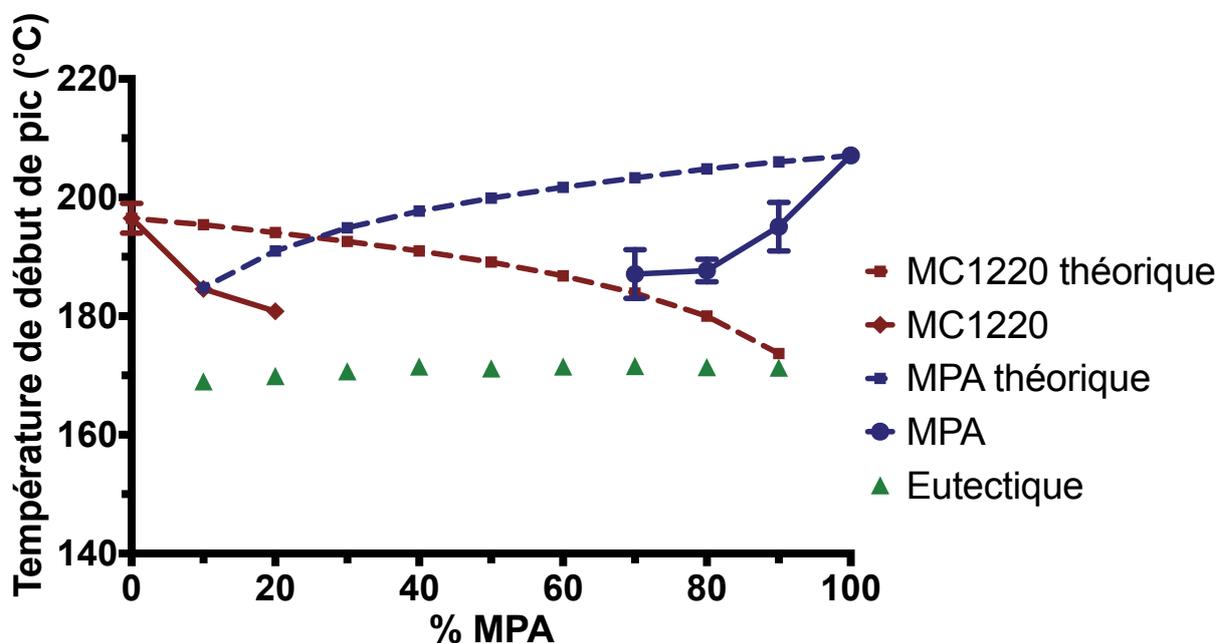


Figure 21 : Diagramme de phase à deux composés pour les mélanges de poudres de MPA et MC1220.

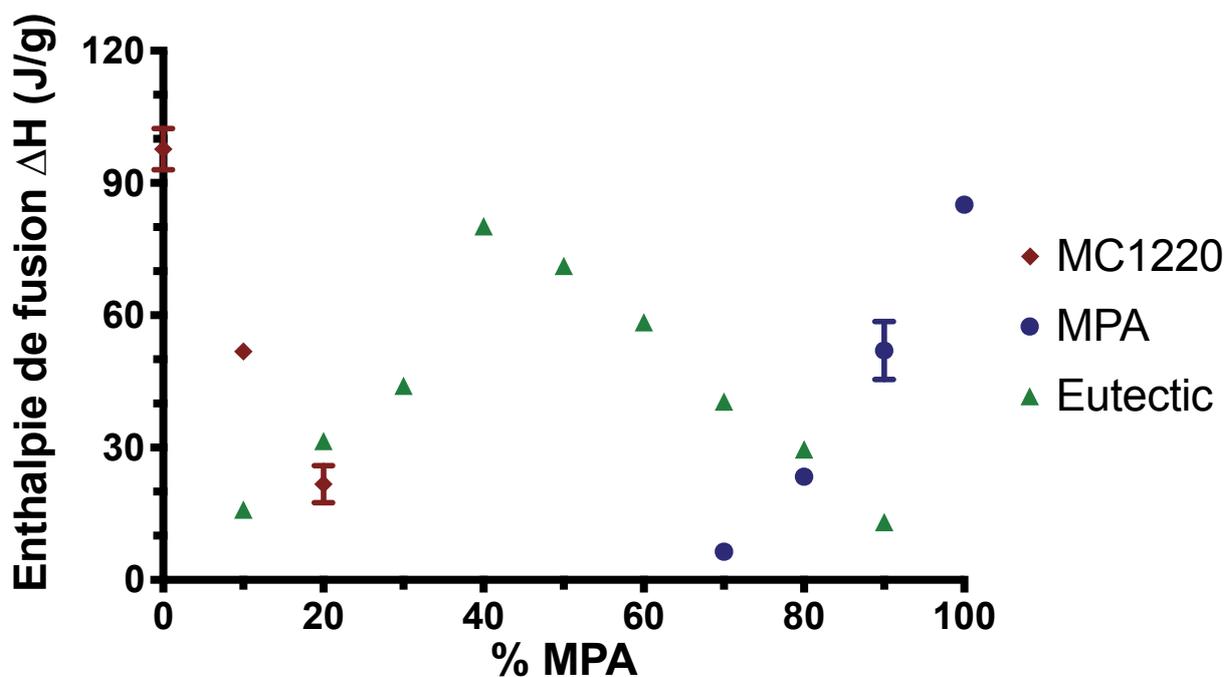


Figure 22 : Influence de la concentration en médicament sur l'enthalpie de fusion ( $\Delta H$ ) de mélanges à deux composés.

Les valeurs expérimentales obtenues pour les abaissements de température (Figure 21) suivent la même tendance que les valeurs théoriques. En se basant sur les données prédites, le mélange eutectique est cependant composé de 25% de MPA et de 75% de MC1220. Les valeurs théoriques ne se superposent pas aux valeurs expérimentales puisque l'équation 2 est destinée à des solutions idéales pour lesquelles les paramètres de solubilité des deux médicaments sont considérés égaux.<sup>129</sup>

## 4 Conclusions et Perspectives

Cette étude confirme que le médicament antirétroviral MC1220 et l'hormone contraceptive MPA forment un mélange eutectique à deux composés à une composition proche de 40% en MPA et 60% en MC1220 en suivant un simple mélange physique des deux poudres. Comme la température de fusion des médicaments influence leur solubilité et que cette solubilité influence elle-même leur vitesse de libération, ce système eutectique à deux composés pourrait être utilisé pour développer des technologies de prévention polyvalentes TPPs sous formes injectables pour fournir simultanément une contraception hormonale et une prévention du VIH.

Il a été fait l'hypothèse qu'une suspension à action prolongée formulée avec MC1220 et MPA à leur composition eutectique pourrait augmenter leur solubilité et donc leur conférer des

avantages en terme de libération. Néanmoins, les besoins posologiques devront aussi être considérés. Ce potentiel de solubilité accrue pourra être évalué par des études de libération *in vitro* utilisant différentes proportions des deux médicaments. La formation de ce mélange eutectique pourra aussi être confirmée en l'étudiant par diffraction des rayons X (DRX). Une méthode alternative appelée la méthode par « dissolution de solvant et évaporation » pourrait également être utilisée pour préparer des mélanges eutectiques de combinaisons de PAs.

# Conclusion générale

L'objet de cette thèse est le développement d'une technologie de prévention polyvalente (TPP) injectable fournissant une prévention contre l'infection au virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et une contraception. Ce projet vise à répondre à certaines des grandes priorités de santé mondiale mises en évidence par les objectifs de développement des Nations Unies : l'amélioration de la santé reproductive maternelle, la lutte contre le VIH / syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), et la prévention des infections sexuellement transmissibles. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a souligné la nécessité de développer de nouvelles TPPs qui répondent simultanément à au moins deux de ces priorités. Bien qu'un nombre important d'articles ont été publiés à ce sujet, il n'y a eu à ce jour qu'un développement limité de nouveaux concepts de TPPs. Une injection qui fournirait aux femmes à la fois une contraception et une prévention du VIH est considérée comme une haute priorité de stratégie de développement de TPP.

Ces études préliminaires servent de base au développement de formulations injectables à action prolongée combinant une contraception et une prévention du VIH. L'objectif final de ce projet est de formuler une TPP injectable avec une fréquence d'administration de 2 mois qui permet de protéger les femmes contre le VIH et toute grossesse non-désirée.

Dans le but de formuler des TPPs injectables avec les principes actifs médroxyprogesterone acétate (MPA) et MC1220, respectivement contraceptif hormonal et antirétroviral, certaines de leurs propriétés physico-chimiques ont été caractérisées. Leurs poudres sont cristallines et micronisées ; ils sont stables thermiquement jusqu'à plus de 250°C et leurs longueurs d'onde optimales de détection sont assez éloignées. Tout ceci suggère la possibilité de développer des études de libération *in vitro* évaluant la combinaison de ces deux médicaments et leur détection simultanée par HPLC-UV.

Le contraceptif injectable trimestriel Depo-Provera<sup>®</sup>, qui sert de base au développement de ces TPPs, a également été caractérisé. Certaines de ses propriétés physico-chimiques, son comportement thermique et sa « seringabilité » (capacité à être injecté au moyen d'une seringue) ont été évalués. Cette suspension injectable est une poudre cristalline composée de particules ayant une taille inférieure à 20 µm. Des résultats préliminaires de sa libération à

travers des dispositifs Float-A-Lyzer™ ont montré que MPA se dégrade dans le milieu de libération.

La composition eutectique d'un mélange de ces deux médicaments a enfin été identifiée à une composition proche de 40% en MPA et 60% en MC1220 en suivant un simple mélange physique des deux poudres et en utilisant une analyse thermique.

Ces résultats sont des prémices d'études plus approfondies pour une caractérisation fine des propriétés physico-chimiques des médicaments rentrant dans la composition de cette potentielle TPP. Au vu des résultats actuels, encourageants, aucun obstacle n'a pu être mis en évidence à la continuité du projet.

# Liste des Figures

Figure 1 : Aperçu général de la gamme des produits sur le marché et en développement pour prévenir/traiter le VIH, d'autres ISTs et la grossesse.....	19
Figure 2 : Structures chimiques de MPA et MC1220 .....	28
Figure 3 : Images de microscopie digitale de MPA (A) et MC1220 avec 20 mesures de taille (B) tous deux observés au zoom 200x. ....	33
Figure 4 : Images de microscopie à balayage de MPA (A) et MC1220 (B) au zoom 2 000x et 20x, respectivement.....	33
Figure 5 : Images microscopiques de MPA (A,B) et MC1220 (C,D) au zoom 20x observés avec avec une ligne polaire (A,C) et deux lignes polaires croisées, c'est-à-dire sous lumière polarisée (B,D). ....	34
Figure 6 : La PSD représentative de la poudre de MPA avec sa taille en densité de volume (ligne continue) et sa distribution de tailles en volume cumulée (ligne pointillée) contre la taille des particules ( $\mu\text{m}$ ). ....	35
Figure 7 : La PSD représentative de la poudre de MC1220 avec sa taille en densité de volume (ligne continue) et sa distribution de tailles en volume cumulée (ligne pointillée) contre la taille des particules ( $\mu\text{m}$ ). ....	36
Figure 8 : Tracé représentatif of MC1220 fourni montrant comment sont identifiés la température onset extrapolée ( $T_o$ ) et le point d'inflexion ( $P_i$ ). ....	37
Figure 9 : Trois tracés DSC représentatifs de MPA soumis à un cycle de chauffage-refroidissement-chauffage. ....	39
Figure 10 : Thermogramme DSC représentatif pour un cycle de chauffage-refroidissement-chauffage de MC1220. ....	40
Figure 11 : Balayage UV de MC1220.....	42
Figure 12 : Balayage UV de l'acétate de médroxy-progestérone (MPA). ....	43
Figure 13 : Images de microscopie digitale de la suspension Depo-Provera <sup>®</sup> aux zooms 200x (A) et 1000x (B) avec 20 mesures de taille. ....	50
Figure 14 : Images de microscopie de Depo-Provera <sup>®</sup> au zoom 20x observé avec une ligne polaire (A) et deux lignes polaires croisées (B), c'est-à-dire sous lumière polarisée. ....	50
Figure 15 : La PSD représentative de la suspension Depo-Provera <sup>®</sup> avec sa taille en densité de volume (ligne continue) et sa distribution de taille en volume cumulée (ligne pointillée) contre la taille des particules ( $\mu\text{m}$ ). ....	51
Figure 16 : Thermogrammes DSC de trois échantillons Depo-Provera <sup>®</sup> et de l'eau dès-ionisée. ....	53

Figure 17 : TdS déterminé à partir des graphiques force-distance pour chaque aiguille (Moyenne $\pm$ écart-type, n=3).....	54
Figure 18 : Courbes d'étalonnage de MPA obtenues à deux différentes longueurs d'onde en HPLC-UV.....	56
Figure 19 : Chromatogrammes UV illustrant la libération de MPA dans les milieux éthanol/H <sub>2</sub> O aux proportions 20/80 (v/v) (A) et dans la solution tampon d'acétate (ABS) avec 2% de Kolliphor <sup>®</sup> HS 15 (B) à 254 nm.....	57
Figure 20 : Tracés DSC représentatifs des mélanges de poudres de MPA et MC1220.....	63
Figure 21 : Diagramme de phase à deux composés pour les mélanges de poudres de MPA et MC1220.....	64
Figure 22 : Influence de la concentration en médicament sur l'enthalpie de fusion ( $\Delta H$ ) de mélanges à deux composés. ....	65

## Liste des Tableaux

Tableau 1 : Contraceptifs injectables commercialisés – Formulations et programme d'injection.....	23
Tableau 2 : Paramètres physico-chimiques utilisés pour l'analyse de la PSD des PAs par diffraction laser. ....	30
Tableau 3 : Résumé des résultats de la distribution de la taille des particules ( <i>particle size distribution</i> ou PSD) pour les deux PAs MPA et MC1220.....	36
Tableau 4 : Résumé des résultats TGA présentés comme moyenne $\pm$ écart-type (n=3).....	38
Tableau 5 : Résumé des résultats des analyses DSC pour MPA.....	38
Tableau 6 : Résumé des résultats des analyses DSC pour MC1220 (n=3). ....	41
Tableau 7 : Distribution de la taille des particules ( <i>particle size distribution</i> ou PSD) de la suspension Depo-Provera <sup>®</sup> .....	51
Tableau 8 : Résultats d'analyse DSC obtenus pour la suspension Depo-Provera <sup>®</sup> . ....	54
Tableau 9 : Tableau récapitulatif des températures de fusion de début de pic consignées et des enthalpies de fusion $\Delta H$ correspondantes (n=3).....	64

# Bibliographie

1. Singh, S. *et al.* *Adding It Up: The Costs and Benefits of Investing in Family. Planning and Maternal and Newborn Health 2014.* (2014).
2. Sedgh, G., Singh, S. & Hussain, R. Intended and Unintended Pregnancies Worldwide in 2012 and Recent Trends. *Stud. Fam. Plann.* **45**, 301–314 (2014).
3. Singh, S., Sedgh, G. & Hussain, R. Unintended Pregnancy: Worldwide Levels, Trends, and Outcomes. *Stud. Fam. Plann.* **41**, 241–250 (2010).
4. Singh, S., Sedgh, G., Hussain, R. & Eilers, M. Incidence of Unintended Pregnancies Worldwide in 2012 and Trends Since 1995. *Stud. Fam. Plan. Vol.* (2012).
5. UNAIDS. Global statistics - Fact Sheet 2015. 1–8 (2015). at <http://www.unaids.org/en/resources/campaigns/HowAIDSchangedeverything/factsheet>
6. UNAIDS. Global statistics - Fact Sheet 2014. 1–6 (2014).
7. UNAIDS. *2014 Progress Report on the Global Plan towards the elimination of new HIV infections among children by 2015 and keeping their mothers alive.* (2014).
8. Singh, S., Darroch, J., Ashford, L. & Vlassoff, M. Adding it up: the costs and benefits of investing in family planning and maternal and newborn health.. *Popline.Org* 44 (2009). doi:978-1-934387-04-7
9. United Nations. United Nations Millennium Development Goals (MDGs) website. (2015). at <http://www.un.org/millenniumgoals/>
10. Nations Unies Assemblée générale 70e session. Résolution 70/1. Transformer notre monde: le Programme de développement durable à l’horizon 2030. 1–38 (2015).
11. Boonstra, H., Barot, S. & Lusti-Narasimhan, M. Making the case for multipurpose prevention technologies: the socio-epidemiological rationale. *BJOG* **121 Suppl** , 23–6 (2014).
12. Knowles, J. *A History of Birth Control Methods.* Planned Parenthood Federation of America reports (2006).
13. UN - Department of Economic and Social Affairs - Population Division. *World Contraceptive Use 2011.* (2015).
14. Warren, M. Condoms: the multipurpose prevention technologies that already exist. *BJOG* **121 Suppl** , 9–11 (2014).
15. Mansour, D., Inki, P. & Gemzell-Danielsson, K. Efficacy of contraceptive methods: a review of the literature. *Eur. J. Contracept. Reprod. Health Care* **15 Suppl 2**, S19–S31 (2010).

16. Polis, C. B. *et al.* *Contraceptive Failure Rates in the Developing World: An Analysis of Demographic and Health Survey Data in 43 Countries.* (2016). doi:10.1016/j.contraception.2016.03.011
17. Cooperstein, P. These 11 Innovative Condoms Just Got Grants From The Bill & Melinda Gates Foundation. *Business Insider* (2013). at <<http://www.businessinsider.com/11-innovative-condoms-awarded-grants-2013-11?IR=T>>
18. CDC. Genital HPV Infection – CDC Fact Sheet. *CDC Fact Sheets* 1–2 (2014).
19. Clark, J. T. *et al.* Engineering a segmented dual-reservoir polyurethane intravaginal ring for simultaneous prevention of HIV transmission and unwanted pregnancy. *PLoS One* **9**, (2014).
20. Major, I. *et al.* A modified SILCS contraceptive diaphragm for long-term controlled release of the HIV microbicide dapivirine. *Contraception* **88**, 58–66 (2013).
21. Frazier, R. G., Walsh, T., Kilbourne-Brook, M. & Coffey, P. S. Couples' acceptability of the SILCS diaphragm for microbicide delivery. *Contraception* **85**, 99–107 (2012).
22. Moss, J. a. *et al.* Simultaneous delivery of tenofovir and acyclovir via an intravaginal ring. *Antimicrob. Agents Chemother.* **56**, 875–882 (2012).
23. CAMI Health. *Multipurpose Prevention Technologies for Reproductive Health: Product Prioritization Stakeholder Meeting.* (2012). at <[www.cami-health.org/documents/2012SAWG-Report-FinalReport.pdf](http://www.cami-health.org/documents/2012SAWG-Report-FinalReport.pdf)>
24. Malcolm, R., Boyd, P., McCoy, C. & Murphy, D. Beyond HIV microbicides: multipurpose prevention technology products. *BJOG* **121 Suppl**, 62–9 (2014).
25. World Health Organization (WHO). Microbicides. *WHO Website* (2008). at <<http://www.who.int/hiv/topics/microbicides/microbicides/en/>>
26. Thurman, A. & Clark, M. Intravaginal rings as delivery systems for microbicides and multipurpose prevention technologies. *Int. J. Women's Heal.* 695–708 (2013).
27. Friend, D. R., Clark, J. T., Kiser, P. F. & Clark, M. R. Multipurpose prevention technologies: products in development. *Antiviral Res.* **100 Suppl**, S39–47 (2013).
28. Woodson, C., Holt, J., Devlin, B. & Rosenberg, Z. Current Status of Multipurpose Prevention Technology (MPT) Development. *Curr. Obstet. Gynecol. Rep.* **4**, 43–52 (2015).
29. Brady, M. & Manning, J. Lessons from reproductive health to inform multipurpose prevention technologies: don't reinvent the wheel. *Antiviral Res.* **100 Suppl**, S25–31 (2013).

30. Tolley, E. E., Morrow, K. M. & Owen, D. H. Designing a multipurpose technology for acceptability and adherence. *Antiviral Res.* **100 Suppl**, S54–9 (2013).
31. Stone, A. Multipurpose prevention technologies for reproductive and sexual health. *Reprod. Health Matters* **22**, 213–7 (2014).
32. Romano, J., Manning, J., Hemmerling, A., McGrory, E. & Holt, B. Y. Prioritizing multipurpose prevention technology development and investments using a target product profile. *Antiviral Res.* **100 Suppl**, S32–8 (2013).
33. Friend, D. R. Drug delivery in multiple indication (multipurpose) prevention technologies: systems to prevent HIV-1 transmission and unintended pregnancies or HSV-2 transmission. *Expert Opin. Drug Deliv.* **9**, 417–27 (2012).
34. Marrazzo, J. M. *et al.* Tenofovir-Based Preexposure Prophylaxis for HIV Infection among African Women. *N Engl J Med* **372**, 509–18 (2015).
35. Rees, H. & Forbes, a. Policy implications for multipurpose prevention technologies service delivery. *BJOG* **121 Suppl**, 19–22 (2014).
36. Holt, K. *et al.* A nationally representative survey of healthcare provider counselling and provision of the female condom in South Africa and Zimbabwe. *BMJ Open* **3**, 1–8 (2013).
37. Manning, J. & Romano, J. Multipurpose Prevention Technologies□: Aligning investments in R&D, and the critical path to introduction. *Paper presented at European Society of Contraception and Reproductive Health First Global Conference on Contraception, Reproduction and Sexual Health; Copenhagen; 22– 25 May 2013.* (2013). at <[http://cami-health.org/documents/ESC2013/ ESC-Manning-Aligning-Investments-MPT.pdf](http://cami-health.org/documents/ESC2013/ESC-Manning-Aligning-Investments-MPT.pdf)>
38. Randrianasolo, B. *et al.* Barriers to the Use of Modern Contraceptives and Implications for Woman - Controlled Prevention of Sexually Transmitted Infections in Madagascar. *J Biosoc Sci.* **40**, 879–893 (2012).
39. Do, M. & Fu, H. Vietnamese women’s empowerment in sex negotiation and condom use within marital relationships. *Proc. Annu. Meet. Popul. Assoc. Am.* **25** (2010).
40. Ross, E. L. *et al.* The Clinical Role and Cost-Effectiveness of Long-Acting Antiretroviral Therapy. *Clin. Infect. Dis.* **60**, 1102–1110 (2015).
41. Callahan, R. *et al.* Pregnancy and Contraceptive Use Among Women Participating in the FEM-PrEP Trial. *JAIDS J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **68**, 196–203 (2015).
42. Babcock, J. *et al.* 6 $\alpha$ -Methyl-17 $\alpha$ -Hydroxyprogesterone 17-Acylates; A New Class Of Potent Progestins. *J Am Chem Soc* **80**, 2904–2905 (1958).
43. Liskin, L. & Quillin, W. Long-Axting Progestins - Promise and Prospects. *Popul.*

- Reports XI*, 17–55 (1983).
44. Potts, M. & Paxman, J. Depo-Provera - ethical issues in its testing and distribution. *J. Med. Ethics* **1**, 9–20 (1984).
  45. Hansman, H. Redesigning Birth Control in the Developing World. *Pacific Standard* (2014). at <<http://www.psmag.com/health-and-behavior/family-planning-africa-depo-provera-redesigning-birth-control-developing-world-89234>>
  46. IPPF. Directory of Hormonal Contraceptives. (2013). at <<http://contraceptive.ippf.org/search>>
  47. Leary, W. E. U.S. approves injectable drug as birth control. *The New York times* A1, A14 (1992). at <<http://www.nytimes.com/1992/10/30/us/us-approves-injectable-drug-as-birth-control.html>>
  48. Bakry, S. *et al.* Depot-medroxyprogesterone acetate: An update. *Arch. Gynecol. Obstet.* **278**, 1–12 (2008).
  49. Westhoff, C. L. & Winikoff, B. DMPA and HIV: do we need a trial? *Contraception* **90**, 353 (2014).
  50. Rees, H. & ECHO Consortium. DMPA and HIV: why we need a trial. *Contraception* **90**, 354–6 (2014).
  51. Jones, H. E. Time to focus on improving the contraceptive method mix in high HIV prevalence settings and let go of unanswerable questions. *Contraception* **90**, 357–9 (2014).
  52. Polis, C. B. & Curtis, K. M. Use of hormonal contraceptives and HIV acquisition in women: a systematic review of the epidemiological evidence. *Lancet. Infect. Dis.* **13**, 797–808 (2013).
  53. Polis, C. B. *et al.* Hormonal contraceptive methods and risk of HIV acquisition in women: a systematic review of epidemiological evidence. *Contraception* **90**, 360–390 (2014).
  54. Ralph, L. J., McCoy, S. I., Shiu, K. & Padian, N. S. Hormonal contraceptive use and women's risk of HIV acquisition: a meta-analysis of observational studies. *Lancet Infect. Dis.* **3099**, 1–9 (2015).
  55. Morrison, C. S. *et al.* Hormonal Contraception and the Risk of HIV Acquisition: An Individual Participant Data Meta-analysis. *PLOS Med.* **12**, e1001778 (2015).
  56. Butler, A. R. *et al.* Modelling the global competing risks of a potential interaction between injectable hormonal contraception and HIV risk. *AIDS* **27**, 105–13 (2013).
  57. Chandra, N. *et al.* Depot medroxyprogesterone acetate increases immune cell numbers and activation markers in human vaginal mucosal tissues. *AIDS Res. Hum.*

- Retroviruses* **29**, 592–601 (2013).
58. Guthrie, B. L. *et al.* Hormonal Contraceptive Use is Associated with Elevated Innate Immune Effector Molecules in Cervicovaginal Secretions of HIV-1-uninfected Women. *Proceedings of the CROI 2014* 1 (2014).
  59. Huijbregts, R. P. H. *et al.* Hormonal contraception and HIV-1 infection: Medroxyprogesterone acetate suppresses innate and adaptive immune mechanisms. *Endocrinology* **154**, 1282–1295 (2013).
  60. Huijbregts, R. P. H., Michel, K. G. & Hel, Z. Effect of progestins on immunity: medroxyprogesterone but not norethisterone or levonorgestrel suppresses the function of T cells and pDCs. *Contraception* **90**, 123–9 (2014).
  61. Mitchell, C. M. *et al.* Long-term effect of depot medroxyprogesterone acetate on vaginal microbiota, epithelial thickness and HIV target cells. *J. Infect. Dis.* **210**, 651–5 (2014).
  62. Sciaranghella, G. *et al.* CCR5 expression levels in HIV-uninfected women receiving hormonal contraception. *J. Infect. Dis. Adv.* 1–19 (2015).
  63. Irvin, S. C. & Herold, B. C. Molecular Mechanisms Linking High Dose Medroxyprogesterone with HIV-1 Risk. *PLoS One* **10**, e0121135 (2015).
  64. Colvin, C. J. & Harrison, A. Broadening the debate over HIV and hormonal contraception. *Lancet Infect. Dis.* **3099**, 9–10 (2015).
  65. Wall, K. M. *et al.* Hormonal contraception does not increase women’s HIV acquisition risk in Zambian discordant couples, 1994–2012. *Contraception* (2015). at <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010782415000712>>
  66. WHO. Hormonal contraceptive methods for women at high risk of HIV and living with HIV - 2014 guidance statement. *WHO Publ.* (2014).
  67. WHO. Annex 1 . Summary of recommendations for hormonal contraceptive use for women at high risk of HIV, living with HIV, and taking antiretroviral therapies. *WHO Publ.* 2–5 (2014).
  68. US Food and Drug Administration. FDA approval letter for depo-subQ provera 104. *Drugs@FDA* at <[http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/appletter/2004/021583ltr.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/appletter/2004/021583ltr.pdf)>
  69. Shelton, J. D. & Halpern, V. Subcutaneous DMPA: a better lower dose approach. *Contraception* **89**, 341–3 (2014).
  70. Jain, J., Jakimiuk, a. J., Bode, F. R., Ross, D. & Kaunitz, a. M. Contraceptive efficacy and safety of DMPA-SC. *Contraception* **70**, 269–275 (2004).
  71. Kaunitz, A. M., Darney, P. D., Ross, D., Wolter, K. D. & Speroff, L. Subcutaneous

- DMPA vs. intramuscular DMPA: a 2-year randomized study of contraceptive efficacy and bone mineral density. *Contraception* **80**, 7–17 (2009).
72. PATH. *Sayana® Press Pilot Introduction Project Summary*. (2014).
  73. Polis, C., Nakigozi, G. & Nakawooya, H. Preference for Sayana® Press versus intramuscular Depo-Provera among HIV-positive women in Rakai, Uganda: a randomized crossover trial. *Contraception* **3396**, (2014).
  74. Prabhakaran, S. & Sweet, A. Self-administration of subcutaneous depot medroxyprogesterone acetate for contraception: Feasibility and acceptability. *Contraception* **85**, 453–457 (2012).
  75. Prabhakaran, S. Self-administration of injectable contraceptives. *Contraception* **77**, 315–317 (2008).
  76. Cameron, S. T., Glasier, A. & Johnstone, A. Pilot study of home self-administration of subcutaneous depo-medroxyprogesterone acetate for contraception. *Contraception* **85**, 458–464 (2012).
  77. Beasley, A., White, K. O. C., Cremers, S. & Westhoff, C. Randomized clinical trial of self versus clinical administration of subcutaneous depot medroxyprogesterone acetate. *Contraception* **89**, 352–356 (2014).
  78. Williams, R. L., Hensel, D. J. & Dennis, J. Self-administration of subcutaneous depot medroxyprogesterone acetate by adolescent women. *Contraception* **88**, 401–407 (2013).
  79. Lande, R. & Richey, C. Expanding services for injectables. *Popul. Reports Series K*, 1–24 (2006).
  80. Roy, S., Nandan, D., Rangari, K. & Shrivastav, T. G. New developments in hormonal injectable and implant contraceptives for women: Programme introduction guidelines. *Heal. Popul. - Perspect. Issues* **31**, 1–30 (2008).
  81. Department of Reproductive Health World Health Organization. Medical eligibility criteria for contraceptive use - 4th ed. *WHO Publ.* 1–130 (2010). at [http://www.who.int/reproductivehealth/publications/family\\_planning/9789241563888/en/](http://www.who.int/reproductivehealth/publications/family_planning/9789241563888/en/)
  82. United Nations. *World Contraceptive Patterns 2013. Publication by the United Nations, New York* (2013). doi:10.1016/S0140
  83. Ross, J., Hardee, K., Mumford, E. & Eid, S. Contraceptive Method Choice in Developing Countries. *Int. Fam. Plan. Perspect.* **28**, 32–40 (2002).
  84. US Food and Drug Administration. Press Release: FDA approves first drug for reducing the risk of sexually acquired HIV infection. (2012). at

- <<http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm312210.htm>>
85. Agence européenne des médicaments. *Résumé des caractéristiques du produit (RCP) - Edurant*. (2011).
  86. Agence européenne des médicaments. *Résumé des caractéristiques du produit (RCP) - Eviplera*. (2011).
  87. Baert, L. *et al.* Development of a long-acting injectable formulation with nanoparticles of rilpivirine (TMC278) for HIV treatment. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **72**, 502–8 (2009).
  88. van't Klooster, G. *et al.* Pharmacokinetics and disposition of rilpivirine (TMC278) nanosuspension as a long-acting injectable antiretroviral formulation. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 2042–2050 (2010).
  89. Underwood, M., St Clair, M., Johns, B. & *et al.* S/GSK1265744: A Next Generation Integrase Inhibitor (INI) with Activity Against Raltegravir-Resistant Clinical Isolates. [Abstract no. MOAA0103]. *28th International AIDS Conference; Vienna, Austria;* (2010). at <[http://www.natap.org/2010/IAS/IAS\\_37.htm](http://www.natap.org/2010/IAS/IAS_37.htm)>
  90. Yoshinaga, T., Kobayashi, M., Seki, T. & *et al.* Antiviral Characteristics Of S/GSK1265744, An HIV Integrase Inhibitor (INI) Dosed By Oral Or Long-acting Parenteral Injection...once monthly or 3 months dosing/PrEP/HAART. [Abstract no. H-550]; *52nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; San Francisco, CA;* (2012). at <[http://www.natap.org/2012/ICAAC/ICAAC\\_12.htm](http://www.natap.org/2012/ICAAC/ICAAC_12.htm)>
  91. Min, S. *et al.* Pharmacokinetics (PK) and Safety in Healthy and HIV-Infected Subjects and Short-Term Antiviral Efficacy of S/GSK1265744, a Next Generation Once Daily HIV Integrase Inhibitor. *Proceedings of the 49th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA.* (2009). at <[http://www.natap.org/2009/ICCAC/ICCAC\\_18.htm](http://www.natap.org/2009/ICCAC/ICCAC_18.htm)>
  92. Spreen, W. *et al.* Pharmacokinetics, Safety, and Tolerability With Repeat Doses of GSK1265744 and Rilpivirine (TMC278) Long-Acting Nanosuspensions in Healthy Adults. *J Acquir Immune Defic Syndr* **67**, 487–492 (2014).
  93. Chong, H. *et al.* Biophysical property and broad anti-HIV activity of albuvirtide, a 3-maleimidopropionic acid-modified peptide fusion inhibitor. *PLoS One* **7**, (2012).
  94. Wu, H., Yao, C., Lu, R. & *et al.* Albuvirtide, the First Long-acting HIV Fusion Inhibitor, Suppressed Viral Replication in HIV-Infected Adults. *Proceedings of the 2nd Interscience Conference on Antimicrobials and Chemotherapy (ICAAC)* (2012). at <<http://www.abstractsonline.com/plan/ViewAbstract.aspx?mID=2963&sKey=e1c18d5b-830f-4b4e-8671-35bcfb20eed5&cKey=70d14bcc-bad6-4754-b4b1->>

- 66b7d2559a23&mKey=%7B6B114A1D-85A4-4054-A83B-04D8B9B8749F%7D>
95. Mascolini, M. New gp41 Fusion Inhibitor Has Long Half-Life, Anti-HIV Activity in HIV+ Naïve. *Proceedings of the 52nd Interscience Conference on Antimicrobials and Chemotherapy (ICAAC)* (2012). at <[http://www.natap.org/2012/ICAAC/ICAAC\\_27.htm](http://www.natap.org/2012/ICAAC/ICAAC_27.htm)>
  96. NIH. Test Albuvirtide in Experienced Patients (TALENT) - ClinicalTrials.gov. (2015). at <<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02369965?term=albuvirtide>>
  97. Zhang, H. *et al.* Combination of long-acting HIV fusion inhibitor albuvirtide and LPV/r showed potent efficacy in HIV-1 patients. *AIDS Res. Ther.* **13**, 18–21 (2016).
  98. Zhang, W. *et al.* Preformulation studies of EFdA, a novel nucleoside reverse transcriptase inhibitor for HIV prevention. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **40**, 1101–11 (2014).
  99. Grobler, J. *et al.* Long-Acting Oral and Parenteral Dosing of MK-8591 for HIV Treatment or Prophylaxis. in *Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Boston, February 22-25* (2016). at <<http://www.croiconference.org/sessions/long-acting-oral-and-parenteral-dosing-mk-8591-hiv-treatment-or-prophylaxis>>
  100. Dash, P. K. *et al.* Long-acting nanoformulated antiretroviral therapy elicits potent antiretroviral and neuroprotective responses in HIV-1-infected humanized mice. *Aids* **26**, 2135–2144 (2012).
  101. Roy, U. *et al.* Pharmacodynamic and antiretroviral activities of combination nanoformulated antiretrovirals in HIV-1-infected human peripheral blood lymphocyte-reconstituted mice. *J. Infect. Dis.* **206**, 1577–1588 (2012).
  102. Gautam, N. *et al.* Preclinical pharmacokinetics and tissue distribution of long-acting nanoformulated antiretroviral therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 3110–3120 (2013).
  103. Gautam, N. *et al.* Pharmacokinetics, Biodistribution, and Toxicity of Folic Acid-Coated Antiretroviral Nanoformulations. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 7510–7519 (2014).
  104. Kovarova, M. *et al.* A long-acting formulation of the integrase inhibitor raltegravir protects humanized BLT mice from repeated high-dose vaginal HIV challenges. *J. Antimicrob. Chemother.* 1–11 (2016). doi:10.1093/jac/dkw042
  105. Bauer, J. *et al.* Ritonavir: An extraordinary example of conformational polymorphism. *Pharm. Res.* **18**, 859–866 (2001).
  106. ANSM. Pharmacopée française (Ph. Fr. XI). *11e édition* (2012). at <<http://ansm.sante.fr/Mediatheque/Publications/Pharmacopee-francaise-Plan-Preambule-index>>

107. Council of Europe. *European Pharmacopoeia (Pharmacopoeia Europaea, Ph. Eur.)*. (Council of Europe, 2016).
108. The United States Pharmacopeial Convention. *The United States Pharmacopeia (USP)*. (The United States Pharmacopeial Convention, 2016).
109. The International Organization for Standardization (ISO). ISO 13320:2009 Particle size analysis -- Laser diffraction methods. *ISO Standards* 1–51 (2009). at <<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:13320:ed-1:v2:en>>
110. The International Organization for Standardization (ISO). ISO 9276-1:1998 Representation of results of particle size analysis. *ISO Standards* 1–9 (1998). at <<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9276:-1:ed-2:v1:en>>
111. Murphy, C. B. Thermal analysis. *Anal. Chem.* **52**, 106–112 (1980).
112. American Society for Testing and Materials (ASTM®). ASTM E2160 - 04(2012). Standard Test Method for Heat of Reaction of Thermally Reactive Materials by Differential Scanning Calorimetry. *ASTM Standards* 1–5 (2012). at <[http://www.astm.org/FULL\\_TEXT/E2160/HTML/E2160.htm](http://www.astm.org/FULL_TEXT/E2160/HTML/E2160.htm)>
113. The International Organization for Standardization (ISO). ISO 11357-1:2009(en), Plastics -- Differential scanning calorimetry (DSC). *ISO Standards* (2009). at <<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:41637:en>>
114. American Society for Testing and Materials (ASTM®). ASTM E967 - 08(2014). Standard Test Method for Temperature Calibration of Differential Scanning Calorimeters and Differential Thermal Analyzers. *ASTM Standards* 1–4 (2014). at <[http://www.astm.org/FULL\\_TEXT/E967/HTML/E967.htm](http://www.astm.org/FULL_TEXT/E967/HTML/E967.htm)>
115. American Society for Testing and Materials (ASTM®). ASTM E968 - 02(2014). Standard Practice for Heat Flow Calibration of Differential Scanning Calorimeters. *ASTM Standards* 1–5 (2014). at <[http://www.astm.org/FULL\\_TEXT/E968/HTML/E968.htm](http://www.astm.org/FULL_TEXT/E968/HTML/E968.htm)>
116. Della Gatta, G., Richardson, M. J., Sarge, S. M. & Stølen, S. Standards, calibration, and guidelines in microcalorimetry. Part 2. Calibration standards for differential scanning calorimetry (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* **78**, 1455–1476 (2006).
117. Sciencelab.com. Material Safety Data Sheet (MSDS) of Medroxyprogesterone Acetate. 1–6 (2013).
118. Carbosynth. Material Safety Data Sheet (MSDS) of MC1220. 1–4 (2008).
119. Turner, P. V, Brabb, T., Pekow, C. & Vasbinder, M. A. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. *J. Am. Assoc.*

- Lab. Anim. Sci.* **50**, 600–13 (2011).
120. Pfizer Canada Inc. *Depo-Provera / Depo-Provera-SC - Product Monograph*. (2013).
  121. Sigma-Aldrich. Syringe Needle Gauge Chart. *Lab Basics Technical Library 1* at <<http://www.sigmaaldrich.com/chemistry/stockroom-reagents/learning-center/technical-library/needle-gauge-chart.html>>
  122. Suckow, M. A., Weisbroth, S. H. & Franklin, C. L. *The Laboratory Rat*. (Academic Press, 2005). at <<https://books.google.com/books?id=zJWgc-QBIUYC&pgis=1>>
  123. Hedrich, H. *The Laboratory Mouse*. (Academic Press, 2012). at <<https://books.google.com/books?id=c0ef5fNKbL8C&pgis=1>>
  124. Burana-Osot, J., Ungboriboonpisal, S. & Sriphong, L. A stability-indicating HPLC method for medroxyprogesterone acetate in bulk drug and injection formulation. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **40**, 1068–1072 (2006).
  125. World Health Organization. The International Pharmacopoeia (Pharmacopoeia Internationalis, Ph. Int.). *Fifth Edition* (2015). at <<http://apps.who.int/phint/alt/index.html#p/home>>
  126. Bangalore, S., Kamalakkannan, G., Parkar, S. & Messerli, F. H. Fixed-Dose Combinations Improve Medication Compliance: A Meta-Analysis. *Am. J. Med.* **120**, 713–719 (2007).
  127. Pan, F., Chernew, M. E. & Fendrick, a. M. Impact of fixed-dose combination drugs on adherence to prescription medications. *J. Gen. Intern. Med.* **23**, 611–614 (2008).
  128. Wertheimer, A. I. The economics of polypharmacology: fixed dose combinations and drug cocktails. *Curr. Med. Chem.* **20**, 1635–8 (2013).
  129. Van Laarhoven, J. a H., Kruft, M. a B. & Vromans, H. In vitro release properties of etonogestrel and ethinyl estradiol from a contraceptive vaginal ring. *Int. J. Pharm.* **232**, 163–173 (2002).
  130. Martin, A. N., Swarbrick, J. & Cammarata, A. *Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences*. (Lea & Febiger, 1983). at <[http://books.google.co.uk/books/about/Physical\\_Pharmacy.html?id=q5BqAAAAMA AJ](http://books.google.co.uk/books/about/Physical_Pharmacy.html?id=q5BqAAAAMA AJ)>

Université de Lille 2  
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2015/2016

**Nom :** Haeck  
**Prénom :** Clément

**Titre de la thèse :**

Etudes préliminaires pour le développement de formulations injectables à action prolongée combinant une contraception et une prévention du VIH

**Mots-clés :** formulation, injection, technologie, combinaison, contraception, Depo-Provera<sup>®</sup>, prévention, VIH, eutectique

---

**Résumé :**

Dans le but de répondre à certaines des grandes priorités de santé mondiale mises en évidence par les objectifs de développement des Nations Unies – à savoir l'amélioration de la santé reproductive maternelle, la lutte contre le VIH / SIDA, et la prévention des infections sexuellement transmissibles – l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a souligné la nécessité de développer de nouvelles Technologies de Prévention Polyvalentes (TPPs) qui répondent simultanément à au moins deux de ces priorités. Bien qu'un nombre important d'articles ont été publiés à ce sujet, il n'y a eu à ce jour qu'un développement limité de nouveaux concepts TPPs. Une injection qui fournirait aux femmes à la fois une contraception et une prévention du VIH est considérée comme une haute priorité de stratégie de développement de TPP. Dans cette thèse sont présentés des résultats expérimentaux qui aideront à la formulation de TPPs injectables. Ils comprennent des études de caractérisation des principes actifs acétate de médroxy-progestérone MPA (contraceptif hormonal) et MC1220 (antirétroviral) ainsi que du contraceptif injectable Depo-Provera<sup>®</sup>, sur lequel seront basées les formulations TPPs. Enfin, une analyse thermique permettant d'identifier la composition eutectique d'un mélange de ces deux médicaments est présentée.

---

**Membres du jury :**

**Présidente :**

Mme SIEPMANN Florence, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Lille

**Assesseurs :**

Mme NEUT Christel, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Lille

Mme PINÇON Claire, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Lille

**Membres extérieurs :**

Mme AUFFRET Marine, Pharmacien - Praticien Hospitalier, Centre Régional de Pharmacovigilance du Nord - Pas de Calais à Lille

M. TABARAN Luc, Pharmacien des armées, Établissement de ravitaillement sanitaire des armées de Marolles