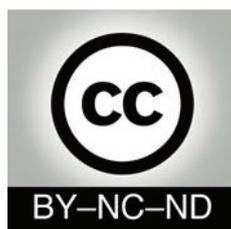




<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>



UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1
FACULTE DE PHARMACIE
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET
BIOLOGIQUES

THESE n°2

THESE

pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
présentée et soutenue publiquement le 25 Janvier 2023
par Mme CHAABANE Maïssa

Née le 28/09/1997

A Lyon 8ème

Drug Vaping : Etude de la libération de principes actifs bronchodilatateurs (salbutamol hémisulfate, bromure d'ipratropium, sulfate de terbutaline) par des ENDS (système électronique de délivrance de nicotine) et comparaison à un nébuliseur pneumatique.

JURY

Président du jury : M. Pailler-Mattei Cyril

Directeur de thèse : M. Pourchez Jérémie, Directeur de recherche du Centre d'Ingénierie et Santé de l'Ecole des Mines de Saint-Etienne.

Tuteur pédagogique : M. Pailler-Mattei Cyril (PR)

Autre membre du jury :

- Mme.Levigoureux Elise (MCU-PH)
- M.Armoiry Xavier PU-PH

CONTACT

cyril.pailler-mattei@ec-lyon.fr

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

Président de l'Université	Frédéric FLEURY
Président du Conseil Académique et de la Commission Recherche	Hamda BEN HADID
Vice-Président du Conseil d'Administration	Didier REVEL
Vice-Présidente de la Commission Formation	Céline BROCHIER
Vice-Président Relations Hospitalo-Universitaires	Jean François MORNEX
Directeur général des services	Pierre ROLLAND

SECTEUR SANTE

Doyen de l'UFR de Médecine Lyon-Est	Gilles RODE
Doyen de l'UFR de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud - Charles Mérieux	Philippe PAPAREL
Doyen de l'Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (ISPB)	Claude DUSSART
Doyen de l'UFR d'Odontologie	Jean-Christophe MAURIN
Directeur de l'Institut des Sciences & Techniques de Réadaptation (ISTR)	Jacques LUAUTÉ
Présidente du Comité de Coordination des Études Médicales	Carole BURILLON

SECTEUR SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Directrice de l'UFR Biosciences	Kathrin GIESELER
Directeur de l'UFR Faculté des Sciences	Bruno ANDRIOLETTI
Directeur de l'UFR Sciences & Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS)	Guillaume BODET

Directeur de Polytech Lyon	Emmanuel PERRIN
Directeur de l'Institut Universitaire de Technologie Lyon 1 (IUT)	Michel MASSENZIO
Directeur de l'Institut des Science Financière & Assurances (ISFA)	Nicolas LEBOISNE
Directeur de l'Observatoire de Lyon	Bruno GUIDERDONI
Directeur de l'Institut National Supérieur du Professorat & de l'Éducation (INSPÉ)	Pierre CHAREYRON
Directrice du Département-composante Génie Électrique & des Procédés (GEP)	Rosaria FERRIGNO
Directrice du Département-composante Informatique	Saida BOUAZAK BRONDEL
Directeur du Département-composante Mécanique	Marc BUFFAT

LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES ISPB

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUES ET PHARMACIE GALENIQUE

- **CHIMIE GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**
Monsieur Raphaël TERREUX (PR)
Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)
- **CHIMIE ANALYTIQUE**
Madame Anne DENUZIERE (MCU)
Monsieur Lars-Petter JORDHEIM (MCU-HDR)
Madame Christelle MACHON (MCU-PH)
Monsieur Waël ZEINYEH (MCU)
- **PHARMACIE GALENIQUE -COSMETOLOGIE**
Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (PR)
Madame Stéphanie BRIANCON (PR)
Monsieur Fabrice PIROT (PU-PH)
Monsieur Eyad AL MOUAZEN (MCU)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Danielle CAMPIOL ARRUDA (MCU)
Madame Ghania HAMDİ-DEGOBERT (MCU-HDR)
Monsieur Plamen KIRILOV (MCU)
Madame Giovanna LOLLO (MCU)
Madame Jacqueline RESENDE DE AZEVEDO (MCU)
Monsieur Damien SALMON (MCU-PH)
Madame Eloïse THOMAS (MCU)
- **BIOPHYSIQUE**

Monsieur Cyril PAILLER-MATTEI (PR)
Madame Laurence HEINRICH (MCU)
Monsieur David KRYZA (MCU-PH-HDR)
Madame Sophie LANCELOT (MCU-PH)
Madame Elise LEVIGOUREUX (MCU-PH)

Thibault MASSIAS (ATER)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE

- **DROIT DE LA SANTE**

Madame Valérie SIRANYAN (PR)
Madame Maud CINTRAT (MCU)

- **ECONOMIE DE LA SANTE**

Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU-HDR)
Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU-HDR)

- **INFORMATION ET DOCUMENTATION**

Monsieur Pascal BADOR (MCU-HDR)

- **INGENIERIE APPLIQUEE A LA SANTE ET DISPOSITIFS MEDICAUX**

Monsieur Xavier ARMOIRY (PU-PH)
Madame Claire GAILLARD (MCU)

- **QUALITOLOGIE – MANAGEMENT DE LA QUALITE**

Madame Alexandra CLAYER-MONTEMBAULT (MCU)
Monsieur Vincent GROS (MCU-enseignant contractuel temps partiel)
Madame Audrey JANOLY-DUMENIL (MCU-PH)
Madame Pascale PREYNAT (MCU-enseignant contractuel temps partiel)

- **MATHEMATIQUES – STATISTIQUES**

Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU-PH-HDR)
Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)
Madame Marie-Paule GUSTIN (MCU-HDR)

- **SANTE PUBLIQUE**

Monsieur Claude DUSSART (PU-PH)
Madame Chloë HERLEDAN (AHU)

Maude BEAUDOIN (ATER)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT

- **CHIMIE ORGANIQUE**

Monsieur Pascal NEBOIS (PR)
Madame Amanda GARRIDO (MCU)
Madame Christelle MARMINON (MCU)
Madame Sylvie RADIX (MCU-HDR)

Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU-HDR)

- **CHIMIE THERAPEUTIQUE**

Monsieur Marc LEBORGNE (PR)
Monsieur Thierry LOMBERGET (PR)
Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU-HDR)
Monsieur François HALLE (MCU)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)

- **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**

Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (PR)
Madame Anne-Emmanuelle HAY DE BETTIGNIES (MCU)
Madame Isabelle KERZAON (MCU)
Monsieur Serge MICHALET (MCU)

- **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**

Madame Christelle CHAUDRAY-MOUCHOUX (PU-PH)
Madame Catherine RIOUFOL (PU-PH)
Madame Magali BOLON-LARGER (MCU-PH)
Monsieur Teddy NOVAIS (MCU-PH)
Madame Florence RANCHON (MCU-PH)
Madame Céline PRUNET-SPANO (MCU)
Madame Delphine HOEGY (PHU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

- **TOXICOLOGIE**

Monsieur Jérôme GUITTON (PU-PH)
Madame Léa PAYEN (PU-PH)
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)

- **PHYSIOLOGIE**

Madame Elise BELAIDI (PU)
Madame Kiao Ling LIU (MCU)
Monsieur Ming LO (MCU-HDR)

- **PHARMACOLOGIE**

Monsieur Sylvain GOUTELLE (PU-PH)
Monsieur Michel TOD (PU-PH)
Monsieur Luc ZIMMER (PU-PH)
Monsieur Roger BESANCON (MCU)
Monsieur Laurent BOURGUIGNON (MCU-PH)
Madame Evelyne CHANUT (MCU)
Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)
Madame Dominique MARCEL CHATELAIN (MCU-HDR)
Monsieur David BARTHELEMY(AHU)

- **COMMUNICATION**
Monsieur Ronald GUILLOUX (MCU)
- **ENSEIGNANTS CONTRACTUELS TEMPS PARTIEL**
Madame Pauline LOUBERT (MCU-enseignant contractuel temps partiel)
Madame Hortense PRELY (MCU-enseignant contractuel temps partiel)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

- **IMMUNOLOGIE**
Monsieur Guillaume MONNERET (PU-PH)
Madame Morgane GOSSEZ (MCU-PH)
Monsieur Sébastien VIEL (MCU-PH)
Monsieur David GONCALVES (AHU)
- **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**
Madame Christine VINCIGUERRA (PU-PH)
Madame Sarah HUET (MCU-PH)
Monsieur Yohann JOURDY (MCU-PH)
- **MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE AUX BIOTECHNOLOGIES INDUSTRIELLES**

Monsieur Frédéric LAURENT (PU-PH)
Madame Florence MORFIN (PU-PH)
Madame Veronica RODRIGUEZ-NAVA (PR)
Monsieur Didier BLAHA (MCU-HDR)
Madame Ghislaine DESCOURS (MCU-PH)
Monsieur Alexandre GAYMARD (MCU-PH)
Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU-PH-HDR)
Madame Emilie FROBERT (MCU-PH)
Monsieur Jérôme JOSSE (MCU)
- **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**
Monsieur Philippe LAWTON (PR)
Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)
Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU-HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B

- **BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE - BIOTECHNOLOGIE**
Madame Pascale COHEN (PR)
Madame Caroline MOYRET-LALLE (PR)
Madame Emilie BLOND (MCU-PH)
Monsieur Karim CHIKH (MCU-PH)
Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU-PH-HDR)
Monsieur Anthony FOURIER (MCU-PH)

Monsieur Boyan GRIGOROV (MCU)
Monsieur Alexandre JANIN (MCU-PH)
Monsieur Hubert LINCET (MCU-HDR)
Monsieur Olivier MEURETTE (MCU-HDR)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Stéphanie SENTIS (MCU)
Monsieur Jordan TEOLI (AHU)

- **BIOLOGIE CELLULAIRE**

Madame Bénédicte COUPAT-GOUTALAND (MCU)
Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU-HDR)

INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (PR)
Monsieur Philippe LAWTON (PR)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)
Madame Alexandra MONTEBAULT (MCU)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Marie-Françoise KLUCKER (MCU-enseignant contractuel temps partiel)
Madame Valérie VOIRON (MCU-enseignant contractuel temps partiel)

PR : Professeur des Universités
PU-PH : Professeur des Universités-Praticien Hospitalier
PHU : Praticien hospitalo-universitaire
MCU : Maître de Conférences des Universités
MCU-PH : Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier
HDR : Habilitation à Diriger des Recherches
AHU : Assistant Hospitalier Universitaire
ATER : Attaché temporaire d'enseignement et de recherche

Remerciements :

C'est après six années d'études supérieures riches en apprentissages et difficultés que j'ai enfin l'honneur de soutenir ma thèse pour obtenir le titre de docteur en pharmacie. Cet exercice a demandé un travail de recherche nécessitant de nombreuses réflexions et remises en question permanente et mettant à l'épreuve ma persévérance.

C'est cependant grâce au suivi et à l'aide de certaines personnes qu'il m'a été possible d'en arriver là. Je tiens donc à les remercier.

Tout d'abord, je remercie mon directeur de thèse M. Pourchez Jérémie pour m'avoir encadrée et proposée ce sujet de travail innovant. Je le remercie de plus de sa bienveillance lors de la réalisation de ce projet.

Je remercie le Professeur Pailler-Mattei Cyril pour son engagement dans ma thèse d'exercice en tant que président de jury et de tuteur pédagogique. De plus je tiens à le remercier pour les enseignements qu'il a pu transmettre lors du double cursus pharmacien-ingénieur.

De plus, je remercie le Docteur Levigoureux Elise pour avoir eu l'envie de faire partie de mon jury de thèse ainsi que pour la bienveillance et son encadrement lors du projet ingénieur de 4^{ème} année.

Je remercie aussi le Docteur Armoiry Xavier d'avoir accepté d'être l'un des membres de mon jury de thèse, de plus je le remercie pour les connaissances qu'il a pu nous transmettre lors de ce cursus de pharmacie.

Je remercie de plus Chaoui Mariam et Leclerc Lara membres du Centre d'Ingénierie et Santé de l'Ecole des Mines de Saint-Etienne d'avoir fait part de leurs connaissances et encadrements lors de ce travail.

Je remercie aussi mes parents et grands-parents m'ayant inculquer la valeur du travail et m'ayant encouragée et conseillée tout au long de mes études et de ma vie, je les remercie pour leur soutien tout au long de ces longues années d'études. Ces quelques mots ne suffisent pas à faire part de toute la reconnaissance et l'admiration que j'ai pour eux.

Je tiens à remercier mes sœurs pour l'encouragement et le soutien dont elles ont fait part en espérant faire preuve de la même présence lors de leurs études supérieures.

Je remercie de plus tous les autres membres de ma famille de m'avoir encouragée et soutenue ainsi que la joie que leur présence m'a apportée lors de ces années d'études.

Je remercie mes amis d'avoir été présents et de m'avoir écoutée durant ces années ce qui a été essentiel pour moi.

Liste des figures

Figure 1. Représentation des volumes pulmonaires et équations reliant les différents volumes. (5)

Figure 2. Schéma de la physiopathologie de l'asthme. (9)

Figure 3. Stimulation des récepteurs β_2 (13)

Figure 4. Distribution du dépôt des particules en fonction de leurs diamètres et des zones aériennes. (16)

Figure 5. Schéma sur le dépôt des particules tiré des 'Recommandations sur les pratiques de l'aérosolthérapie en pneumologie (16)

Figure 6. Schéma de la composition d'une cigarette électronique. (17)

Figure 7. Principe de l'HPLC (24)

Figure 8. ENDS JUUL et ses réservoir jetables.

Figure 9. ENDS ZIP à ultrasons

Figure 10. Image d'un nébuliseur.

Figure 11. Composants de la seringue instrumentée PDSP

Figure 12. Montage du Glass Twin Impinger

Figure 13. Schéma du montage entre les 4 éléments : cigarette électronique (a), seringue instrumentée (b), le GTI (c) et la pompe (d). Les différents éléments sont connectés par des tubes de manière étanche. (2)

Figure 14. Courbes de calibration du salbutamol hémisulfate

Figure 15. Courbes de calibration de bromure d'ipratropium

Figure 16. Graphique représentant la dose respirable de principe actifs libérée par la cigarette JUUL en fonction de la concentration de la solution de remplissage et la dose moyenne respirable de principe actif libérée au cours d'une nébulisation ainsi que le temps de nébulisation moyen en minutes pour l'obtention de ces doses (dans les encadrés).

Figure 17. Graphique représentant le temps moyen de nébulisation et le temps cumulé des inspirations nécessaires avec la JUUL en fonction des différentes concentrations de solution de remplissage pour obtenir l'équivalence de dose.

Figure 18. Graphique représentant le rapport entre la dose non respirable et respirable libérées lors d'une nébulisation ou de l'utilisation de la cigarette JUUL avec différents principes actifs et concentrations.

Liste des Tableaux

Tableau 1. Traitement de l'asthme en fonction de sa sévérité (9)

Tableau 2. Traitement de la BPCO en fonction de son stade (10)

Tableau 3. Conditions de la méthode de dosage HPLC de la terbutaline (16)

Tableau 4. Formulation des échantillons d'bromure d'ipratropium pour tester l'effet matrice

Tableau 5. Formulation des échantillons de salbutamol pour tester l'effet matrice

Tableau 6. Paramètres de vapotage préconisés par la norme AFNOR XP D 90-300-3.(29)

Tableau 7. Méthode 1 pour le dosage du salbutamol et de l'bromure d'ipratropium (31)

Tableau 8. Méthode 2 du dosage du salbutamol et de l'ipratropium (32)

Tableau 9. Méthode 3 du dosage du salbutamol et de l'ipratropium (33)

Tableau 10. Salbutamol hémisulfate Nébulisation CirrusTM2a

Tableau 11. Salbutamol hémisulfate 2 mg/ml JUUL®

Tableau 12. Salbutamol hémisulfate 10mg/ml JUUL®

Tableau 13. Bromure d'ipratropium Nébulisation CirrusTM2

Tableau 14. Bromure d'ipratropium 0.25 mg/ml JUUL®

Tableau 15. Bromure d'ipratropium 1.25mg/ml JUUL®

Tableau 16. Sulfate de terbutaline 2.5mg/ml JUUL®

Tableau 17. Sulfate de terbutaline 10mg/ml JUUL®

Tableau 18. Sulfate de terbutaline 2.5mg/ml ZIP USONICIG®

Tableau 19. Sulfate de terbutaline 1mg/ml ZIP USONICIG®

Tableau 20. Temps de vapotage nécessaire pour atteindre l'équivalence de dose de nébulisation.

Liste des abréviations :

AMPc = Adénosine monophosphate cyclique
ATP = Adenosinetriphosphate
BPCO = Bronchopneumopathies chroniques obstructives
CPT = Capacité pulmonaire totale
CRF = capacité résiduelle fonctionnelle
CIS = Centre d'Ingénierie et Santé
CV = Capacité vitale
DEP = Débit expiratoire de pointe
EFR = Exploration fonctionnelle respiratoire
ENDS = système électronique de délivrance de nicotine
FDA = Food and Drug Administration
GTI = Glass Twin Impinger
GRAS = Generally Recognized As Safe
HPLC = Chromatographie en phase liquide haute performance
HTAP = Hypertension artérielle pulmonaire
ICH = International Council for Harmonisation
PDO = 1,3-Propandiole = Végétol®
PDSP = Programmable Dual Syringe Pump
PG = Propylen glycol
UV = Ultra-violet
VEMS = Volume expiratoire maximal par seconde
VG = Vegetable glycerin

I.INTRODUCTION	16
II.HISTORIQUE ET BIBLIOGRAPHIE	17
1)LES MALADIES RESPIRATOIRES CHRONIQUES	17
A)LE DIAGNOSTIC	17
B)L'ASTHME	21
C)LES BRONCHOPNEUMOPATHIES CHRONIQUES OBSTRUCTIVES (BPCO)	23
D)LES TRAITEMENTS	25
E)LA VOIE D'ADMINISTRATION	32
2)LE DRUG VAPING	35
A)FONCTIONNEMENT DES CIGARETTES ELECTRONIQUES	35
B)LES DIFFERENTES GENERATIONS DE CIGARETTES ELECTRONIQUES	37
3)PRINCIPE DE L'HPLC	38
III.MATERIEL ET METHODE	40
1)MATERIEL	40
A)LES PRINCIPES ACTIFS	40
B)CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE	41
C)DESCRIPTION DES CIGARETTES ELECTRONIQUES ET NEBULISEUR	42
2)METHODE	45
A)FORMULATION DU E-LIQUIDE OU LIQUIDE DE REMPLISSAGE	45
B)METHODES HPLC	46
C)PLAN DE VALIDATION DE METHODE HPLC	47
D)GENERATION ET RECOLTE DES CONDENSATS DE PUFFS ET NEBULISAT	51
E)PLAN DE MANIPULATIONS	56
IV.RESULTATS	57
1)DETERMINATION DES METHODES HPLC	57
2)RESULTATS DE LA VALIDATION DE METHODES HPLC	63
3)RESULTATS DES ESSAIS	65
V.DISCUSSION	73
1)EQUIVALENCE NEBULISATION ET DRUG VAPING.	73
A)DISCUSSION ET HYPOTHESES DE LA NEBULISATION	73
B)DISCUSSION ET HYPOTHESES : SULFATE DE TERBUTALINE	74

C)DISCUSSION ET HYPOTHESES : SALBUTAMOL HEMISULFATE	76
D)DISCUSSION ET HYPOTHESES : BROMURE D'IPRATROPIUM	77
E)TEMPS DE VAPOTAGE ET DOSE NON RESPIRABLE	78
F)DISCUSSION DOSAGE PARALLELE DU SALBUTAMOL HEMISULFATE ET DU BROMURE D'IPRATROPIUM	81
2)CHANGEMENT DES TEMPS DE RETENTION	82
3)DISCUSSION : CONCLUSION	85
<u>VI.CONCLUSION GENERALE</u>	87
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	89
<u>ANNEXES</u>	95

I. Introduction :

En France, en 2016 les maladies respiratoires chroniques sont la troisième cause de décès après les maladies cardiovasculaires. Les bronchopneumopathies chroniques obstructives (BPCO) sont quant à elles la troisième cause de mortalité dans le monde (1). Ces maladies nécessitent un traitement par bronchodilatateurs, corticostéroïdes ou antibiotiques. Pour administrer ces traitements, il est souvent nécessaire d'utiliser des nébuliseurs ou des aérosols doseurs. Malgré leurs évolutions de mode fonctionnement et de design, les nébuliseurs et les inhalateurs restent peu pratiques à utiliser, les nébuliseurs sont encombrants et inconfortables pour les patients ce qui engendre une mauvaise observance de leurs traitements. Il est donc aujourd'hui nécessaire de trouver de nouvelles techniques d'administration de ces traitements pour faciliter la vie du patient ce qui permettrait d'améliorer leur observance et donc l'efficacité du traitement.

L'une des nouvelles idées innovantes pour délivrer ces traitements est l'utilisation de la cigarette électronique en tant que dispositif médical. En effet, ces dernières sont moins encombrantes et plus simples d'utilisation que les dispositifs existants. Dans la continuité de certains travaux réalisés sur la libération du sulfate de terbutaline par certaines cigarettes électroniques au sein du Centre d'ingénierie et Santé de l'Ecole des Mines de Saint-Etienne (2) (3), cette thèse a pour objectif d'étudier la libération de principes actifs bronchodilatateurs par certaines cigarettes électroniques mais aussi de déterminer une équivalence de dose entre ces dernières et un nébuliseur pneumatique. Cette étude a donc pour problématique de savoir si la cigarette électronique peut être théoriquement utilisée pour l'administration pulmonaire de certains principes actifs.

II. Historique et bibliographie :

1) Les maladies respiratoires chroniques :

a) Le diagnostic :

Les maladies respiratoires chroniques sont responsables d'insuffisances respiratoires chroniques. Parmi ces maladies nous pouvons compter l'asthme, les bronchopneumopathie chronique obstructives, la mucoviscidose, les cancers, les fibroses, les bronchites chroniques ou encore les emphysèmes.

Les insuffisances respiratoires provoquées par ces maladies sont de trois catégories :

- Les insuffisances respiratoires obstructives ;
- Les insuffisances respiratoires restrictives ;
- Les insuffisances respiratoires mixtes.

Les insuffisances respiratoires obstructives et restrictives sont mises en évidence et différenciées par une exploration fonctionnelle respiratoire (EFR). Les EFRs se composent de plusieurs examens (4) :

- La spirométrie : cet examen permet d'étudier les débits ventilatoires et les volumes mobilisables par le patient et notamment le volume expiratoire maximal par seconde (VEMS), ce dernier est le volume maximal que peut expirer un patient en une seconde. En pratique, le patient inspire au maximum et expire le plus fort possible par la bouche dans le spiromètre tout en ayant le nez bouché, le volume expiré au maximum de la force du patient lors de la première seconde correspond au VEMS. La spirométrie permet aussi de mesurer la capacité vitale du patient qui correspond au volume total mobilisé après une inspiration et une expiration maximale. (5)

- La mesure du débit expiratoire de pointe (DEP) : il s'agit de la vitesse maximale à laquelle l'air est expulsé des poumons lors d'une expiration forcée qui se mesure par peak flow. Cette dernière diminue en cas de crise d'asthme et permet de savoir si les conditions pulmonaires du patient se détériorent. (6)
- La pléthysmographie : elle permet de mesurer l'ensemble des volumes pulmonaires. Cet examen se réalise dans un pléthysmographe qui est un caisson dans lequel le patient s'assoit et qui permet de mesurer les variations de volume du thorax.

Le caisson est hermétiquement clos et à température constante, lors des mouvements du thorax du patient le volume dans le caisson varie et donc sa pression. Cette pression est mesurée et les volumes en sont déduits grâce à la loi de Boyle-Mariotte (5). En effet, cette loi stipule qu'à température constante et dans un lieu clos le produit de la pression et du volume est constant (et donc que $P_1V_1=P_2V_2$). L'Objectif est de mesurer :

- La capacité résiduelle fonctionnelle (CRF) qui est le volume d'air restant dans les poumons après une expiration normale,

$$\circ \quad CRF = - P1 \Delta V / \Delta P$$

Avec :

- P la pression en Pascal
- V le volume en Litre

- Le volume résiduel qui est un volume d'air qui n'est pas mobilisable par le patient ceci correspond au volume d'air restant après une

expiration forcée (au cours de laquelle le patient expire le plus fort et le plus longtemps possible)

- La capacité pulmonaire totale qui correspond au volume d'air maximum que peuvent contenir les poumons après une inspiration forcée (le patient inspire le plus fort et le plus longtemps possible).

Le schéma suivant représente l'ensemble des volumes pulmonaires définis ci-dessus, et quels sont les volumes impliqués au cours d'un cycle respiratoire normal, représenté par les pics courts du schéma et cycle respiratoire forcé, représenté par les pics les plus grands, ainsi que les relations entre ces différents volumes.

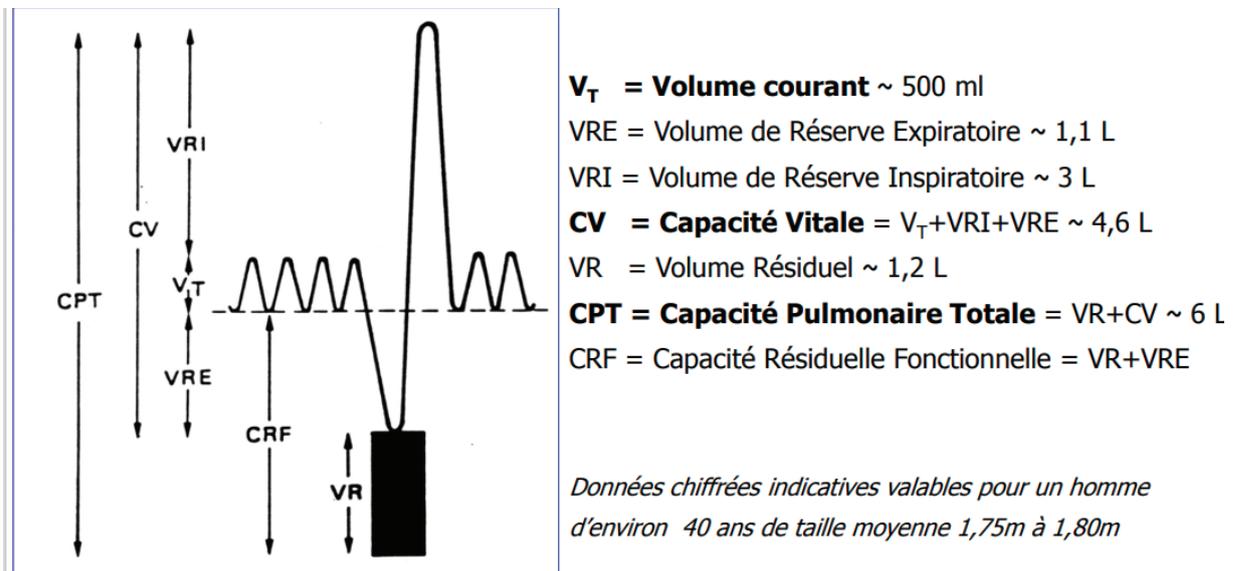


Figure 1. Représentation des volumes pulmonaires et équations reliant les différents volumes. (5)

- La capacité de diffusion pulmonaire : permet de connaître le transfert de l'oxygène des alvéoles pulmonaires vers les vaisseaux sanguins. Cet examen est généralement prescrit pour le diagnostic d'emphysème, de pathologie interstitielle ou de fibrose et d'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP).
- La gazométrie artérielle : après une prise de sang artériel une mesure des gaz du sang est faite.
- D'autres examens supplémentaires peuvent être demandés par le pneumologue si cela lui semble nécessaires et permet de faciliter le diagnostic.

Le rapport de la VEMS et de la CV, aussi appelé coefficient de Tiffeneau, permet de différencier les troubles respiratoires obstructifs de ceux qui sont restrictifs ou mixtes. Un coefficient de Tiffeneau diminué marque un trouble respiratoire obstructif comme par exemple présent dans l'asthme ou les BPCO (6). Un coefficient de Tiffeneau normal avec une Capacité pulmonaire totale (CPT) diminuée est synonyme de trouble respiratoire restrictif comme par exemple une altération du parenchyme pulmonaire, une atteinte de la cage thoracique, une atteinte neuro-musculaire, une pneumonectomie ou une lobectomie. Un trouble mixte quant à lui regroupe la diminution du coefficient de Tiffeneau mais aussi celle de la CPT (6).

Ce projet a porté sur les troubles ventilatoires obstructifs pouvant être traités par bronchodilatateurs. Selon la gravité de la maladie les traitements sont différents, en ce qui concerne les troubles obstructifs il est possible de les classer de la manière suivante :

Le degré d'obstruction est quantifié par la diminution du VEMS théorique déterminé grâce à la taille, au sexe, à l'âge et à l'origine ethnique de la personne (5) :

- Léger: $70\% < \text{VEMS} < 80\%$ de la VEMS théorique ;
- Modéré: $60\% < \text{VEMS} < 70\%$ de la VEMS théorique ;

- Grave: VEMS < 50% de la VEMS théorique.

L'obstruction des voies pulmonaires peut être due à un épaississement des parois bronchiques ou bien à une contraction musculaire des bronches. L'asthme et les BPCOs sont le mélange de ces deux phénomènes avec une part plus importante de contraction musculaire dans l'asthme que l'épaississement des parois pulmonaires et inversement pour les BPCOs. De plus ces maladies sont généralement accompagnées d'inflammation des bronches. La bronchoconstriction des bronches peut être traitée grâce à des bronchodilatateurs et l'inflammation grâce à des corticostéroïdes sous forme inhalée.

b) L'asthme :

L'asthme (6) est une pathologie fréquente touchant 5 à 7% des adultes, 10 à 15% des adolescents et jeunes adultes, ce pourcentage diminue avec l'âge. Il s'agit de la pathologie la plus fréquente chez l'enfant mettant en jeu des prédispositions génétiques mais aussi de nombreux facteurs environnementaux comme la pollution ou le tabagisme qu'il soit actif ou passif.

L'asthme se définit par une dyspnée sifflante due à une obstruction bronchique qui se voit la plupart du temps nocturne, cette obstruction est récidivante variable dans le temps et réversible spontanément ou sous l'effet d'un traitement. Chez l'enfant de moins de 3 ans, il s'agit de tout épisode dyspnéique avec râles sibilants qui s'est produit au moins 3 fois depuis la naissance et cela quel que soit l'âge de début (6).

L'asthme peut être catégorisé en deux parties :

- L'asthme extrinsèque : il s'agit d'un asthme allergique c'est-à-dire déclenché en présence d'allergènes, il s'agit de l'asthme le plus fréquent se caractérisant par des crises de fortes intensités. Il débute en général entre 5 et 20 ans avec un certain terrain atopique chez le patient (predisposition génétique à l'accumulation d'allergies).
- L'asthme intrinsèque : c'est un asthme qui peut se déclencher suite à des infections pulmonaires, cet asthme touche surtout les personnes âgées de plus de 25 ans et présente une tendance à la chronicité contrairement à l'asthme extrinsèque qui fonctionne par crise.

Parmi les catégories de l'asthme il existe aussi l'asthme à dyspnée continue, c'est un asthme chronique grave qui évolue vers une insuffisance respiratoire chronique et ne répondant pas aux traitements de base ce qui provoque une diminution de l'espérance de vie du patient.

Les facteurs déclenchants des crises d'asthme sont nombreux, les facteurs suivants peuvent être énumérés de manière non exhaustive (6) : certains allergènes , l'effort physique, l'air froid et sec, le tabac, les facteurs iatrogènes comme les bêtabloquants même si ces derniers sont cardio-sélectifs ou administrés sous forme de collyre ils peuvent avoir un effet broncho constricteur et donc engendrer une crise, les parasymphomimétiques directs comme l'acétylcholine que ce soit sous forme orale ou en collyre peuvent provoquer un asthme en particulier si ce dernier est associé à des bêtabloquants. Une crise d'asthme peut aussi être provoquée suite à la prise d'aspirine si le patient présente une hypersensibilité à cette dernière qui peut être accrue par un syndrome de Widal, le syndrome de Widal se présente sous la forme de rhinosinusite chronique avec polypose nasale ainsi qu'un asthme sévère et une

intolérance clinique à l'acide acétyl salicylique (aspirine). En règle générale les anti-inflammatoires non stéroïdiens peuvent provoquer des réactions bronchospastiques (6). Certains antibiotiques comme la pénicilline peuvent entraîner une hypersensibilité à ces derniers avec une composante asthmatique. De plus, tout traitement (sauf ceux ayant un effet bronchodilatateur) administrés par aérosol ou voie aérienne peut engendrer des bronchospasmes et donc une crise d'asthme.

c) Les Bronchopneumopathies Chroniques Obstructives (BPCO) :

Aujourd'hui, 5,5 millions de personnes sont atteintes de BPCO en France, cette maladie est responsable de plus de 18 000 décès par an (7).

La BPCO (6) est une maladie respiratoire chronique s'installant progressivement et étant caractérisée par une diminution non complètement réversible des débits ventilatoires. Cette dernière se reflète par une toux et des expectorations évoluant vers une dyspnée d'effort puis de repos et pouvant aller jusque des troubles extra respiratoires. L'inflammation des voies aériennes provoquée par cette maladie engendre l'épaississement de leurs parois ainsi qu'une hypersécrétion réactionnelle de mucus ce qui empêche le patient de respirer correctement. Cette inflammation du tissu pulmonaire entraîne aussi des perturbations du fonctionnement des cellules pulmonaires engendrant une destruction progressive des alvéoles pulmonaires menant à l'emphysème et à des perturbations des échanges gazeux. Les BPCO sont dues dans 80 % des cas au tabagisme actif mais d'autres facteurs augmentent le risque d'apparition de la maladie :

- Le tabagisme passif ;
- La pollution de l'air intérieur et extérieur ;

- Les expositions professionnelles ou domestiques à des poussières et des substances chimiques (silice, poussières de charbon, poussières végétales, moisissures) ;
- Des infections des voies respiratoires inférieures fréquentes au cours de l'enfance peuvent aussi créer un terrain avantageux au développement retardé de la BPCO ;
- Le tabagisme passif *in utero* ;
- Une composante génétique.

Comme dit précédemment cette maladie évolue progressivement, il existe donc plusieurs stades cliniques :

Stade I : Une bronchite chronique simple qui se caractérise par une hypersécrétion de mucus bronchique et une toux quotidienne pendant plus de trois mois par an et pendant plus de deux ans consécutifs.

Stade II : Une bronchite chronique avec un trouble ventilatoire obstructif, ceci est le début de la BPCO et est représentée par une obstruction permanente des voies aériennes, une toux chronique grasse et une dyspnée d'effort. A ce stade le VEMS est inférieur à 80%

Stade III : Une bronchite chronique avec une insuffisance respiratoire chronique, à ce stade le patient présente une hypoxie de repos persistante, une dyspnée sévère et une cyanose.

Stade IV : L'emphysème apparaissant au dernier stade de la maladie provoquant une dilatation alvéolaire ce qui engendre la distension des poumons venant comprimer la cage thoracique et les

muscles respiratoires empêchant ainsi une respiration normale et perturbant les gaz du sang.

Pour chacun des stades définis précédemment la VEMS est plus ou moins modifiée (8) :

- Stade I : léger, VEMS supérieure ou égale à 80% ;
- Stade II : modéré, VEMS comprise entre 50 et 80% ;
- Stade III : sévère, VEMS comprise entre 30 et 50% ;
- Stade IV : très sévère, VEMS inférieur à 30%.

d) Les traitements :

En fonction du stade et de la gravité de ces maladies les traitements sont différents (9)(10). Ils peuvent associer plusieurs principes actifs de classes différentes comme par exemple les bronchodilatateurs, les anti-inflammatoires stéroïdiens et les antibiotiques en cas d'infection pulmonaire.

L'asthme se traite par des anti-asthmiques qui peuvent être de différents groupes et agir sur les nombreuses causes responsables de l'asthme, comme il est observable sur la Figure 2 où sont représentés les acteurs principaux de l'asthme. En effet, les cellules musculaires bronchiques sont responsables de la contraction des bronches, ces cellules sont soumises à différentes influences par l'intermédiaire de récepteurs membranaires spécifiques (9). L'épithélium bronchique est l'un des autres acteurs et dont les cellules ciliées libèrent de l'endothéline provoquant des bronchospasmes (11). Les macrophages et les macrocytes présents dans le parenchyme pulmonaire libèrent des médiateurs chimiques comme les leucotriènes, l'histamine et des cytokines activant les cellules musculaires pulmonaires. De plus,

certaines innervations vont libérer directement des médiateurs comme l'acétylcholine et la substance P qui vont venir se fixer sur les récepteurs des cellules musculaires bronchiques et engendrer leur contraction.

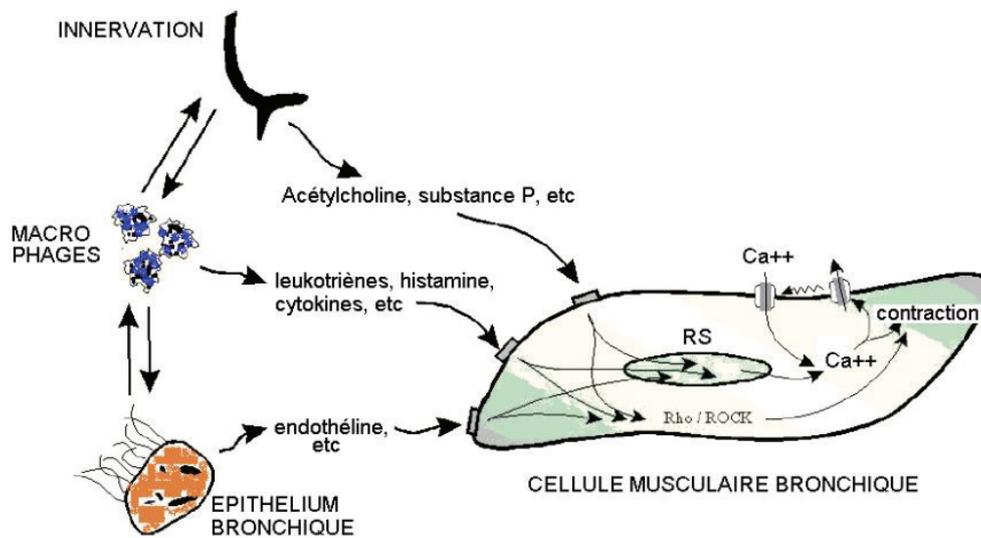


Figure 2. Schéma de la physiopathologie de l'asthme. (9)

Il est donc possible d'agir sur ces différents récepteurs ou sur la libération de certains transmetteurs chimiques pour traiter l'asthme et ses bronchoconstrictions :

- Tout d'abord il y a les bronchodilatateurs, comme leurs noms l'indique les bronchodilatateurs sont utilisés en cas de constriction des bronches. Ces derniers sont de différentes classes pharmacologiques comme par exemple les béta-2 stimulants, les anticholinergiques, la théophylline ou encore les antileucotriènes, chacun d'eux ont un mode d'action différent.

- Les β_2 -stimulants vont venir activer les récepteurs β_2 des cellules musculaires lisses pulmonaires engendrant une cascade d'activations protéiques. Les récepteurs β_2 sont des récepteurs couplés à la protéine G qui permet la transduction du signal dans la cellule. Une fois le message reçu par la cellule, la protéine G va engendrer une cascade interne en réponse à ce stimulus. Les principes actifs vont venir se fixer et stimuler les récepteurs β_2 venant activer la protéine G. Dans les cellules musculaires lisses pulmonaires, la protéine G va activer l'adénylate cyclase permettant de transformer de l'ATP (adenosinetriphosphate) en AMPc (adénosine monophosphate cyclique). L'AMPc va empêcher d'une part la libération de calcium par le réticulum sarcoplasmique de la cellule musculaire lisse et d'autre part inhiber la myosine light chain kinase normalement responsable de la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine permettant par la suite à l'actine de se fixer et donc d'engendrer la contraction musculaire en présence de calcium, cette double action permet donc d'empêcher la contraction des cellules bronchiques (12). La Figure 3 résume l'action des β_2 stimulants :

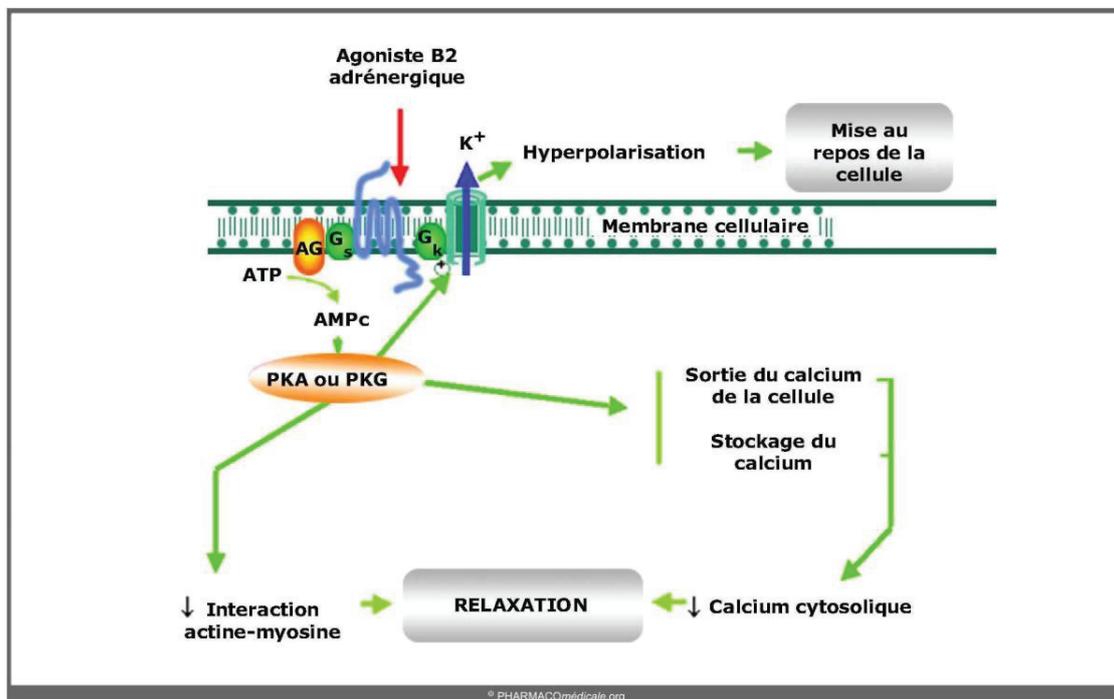


Figure 3. Stimulation des récepteurs β_2 (13)

- Les anticholinergiques se fixent sur les récepteurs muscariniques à l'acétylcholine en bloquant ainsi la fixation de l'acétylcholine et donc son effet bronchoconstricteur.
- La théophylline et ses apparentés sont des inhibiteurs des phosphodiésterases ce qui entraîne une augmentation de la libération de l'AMPc permettant la relaxation des fibres lisses bronchiques. Ils ont aussi un effet anti-inflammatoire.
- Les anti leucotriènes sont des antagonistes sélectifs des récepteurs aux cysteinyl-leucotriènes qui sont des bronchoconstricteurs et sont pro-inflammatoires.
- Les anti-inflammatoires stéroïdiens et plus précisément les glucocorticoïdes, agissent sur les cellules de l'inflammation, endothéliales, épithéliales et

musculaires. Permettant la limitation de la prolifération des cellules éosinophiles, des cellules dendritiques et des mastocytes. Ils limitent aussi la libération des cytokines par les lymphocytes T et macrophages permettant ainsi de limiter l'inflammation.

- Les antidégranulants et anticorps monoclonaux comme les cromones, le kétotifène, Omalizumab, Mepolizumab peuvent aussi être utilisés.

En fonction de la sévérité et du stade de l'asthme les traitements sont différents, les médications envisagées et leurs alternatives en fonction du stade sont présentées dans le tableau suivant (Tableau 1).

Sévérité de l'asthme	Traitement de première intention	Alternative
Intermittent	Aucun	
Persistant léger	Glucocorticoïdes inhalés à faible dose	Théophylline ou cromones ou anti-leucotriènes
Persistant modéré	Glucocorticoïdes inhalés à moyenne dose associés à des $\beta 2$ stimulants inhalés	Glucocorticoïdes inhalés associés à la théophylline ou Glucocorticoïdes inhalés associés aux anti-leucotriènes
Persistant sévère	Glucocorticoïdes inhalés à forte dose avec des $\beta 2$ stimulants inhalés et de la théophylline ou anti-leucotriène ou des glucocorticoïdes oral ou $\beta 2$ stimulant sous forme oral	

Tableau 1. Traitement de l'asthme en fonction de sa sévérité (9)

Dans certains cas d'asthme aigue grave la nébulisation pulsée de beta-2 stimulants est nécessaire.

En ce qui concerne les bronchopneumopathies chroniques obstructives les traitements varient aussi en fonction du stade de la maladie qui ont été décrits plus haut, les traitements peuvent se rapprocher de ceux de l'asthme cependant, la première des actions pour les patients est l'arrêt du tabac et se protéger contre certains facteurs de risques comme certaines infections virales ou bactériennes pouvant toucher les poumons, ou encore faire de la rééducation respiratoire par kinésithérapie (6) (10). Les traitements médicamenteux consistent en l'association de bronchodilatateurs en aérosol ou en nébulisation ainsi qu'une corticothérapie sous forme inhalée et de traitements antibiotiques en cas d'infection bactérienne (10).

Le traitement de la BPCO va dépendre de son stade et donc de sa gravité, comme dit précédemment, ils peuvent donc aller d'une simple kinésithérapie et arrêt du tabac jusqu'à une oxygénothérapie dans les cas d'insuffisance respiratoire chronique, rappelons que l'insuffisance respiratoire chronique est synonyme d'une VEMS inférieure à 30%. Les différents types de traitements sont résumés dans le tableau suivant (Tableau 2) :

Stade I Léger	Stade II Modéré	Stade III Sévère	Stade IV Très sévère
Réduction des facteurs de risque (tabagisme) Vaccination antigrippale et Bronchodilatateurs de courte durée d'action si besoin			
		Un ou plusieurs bronchodilatateurs de longue durée d'action	
		Glucocorticoïdes inhalés β2 stimulants	
			Oxygénothérapie et traitements chirurgicaux

Tableau 2. Traitement de la BPCO en fonction de son stade (10)

Pour rappel, le but de cette étude est de savoir s'il est théoriquement possible d'utiliser les cigarettes électroniques pour libérer certains principes actifs et plus précisément des bronchodilatateurs, ce qui permettrait d'avoir une alternative pour les patients utilisant des nébuliseurs.

Cette étude s'est concentrée sur trois principes actifs car ils font partis de ceux les plus administrés en routine, ces derniers sont :

- Le salbutamol hémisulfate ;
- Le sulfate de terbutaline ;
- Le bromure d'ipratropium.

Le salbutamol hémisulfate et le sulfate de terbutaline sont des β_2 -stimulants et permettront donc à terme la bronchodilatation des bronches après avoir engendré une cascade d'activation protéique et une transduction du signal dans les cellules musculaires lisses des bronches. Le bromure d'ipratropium est un anticholinergique qui se fixe sur les récepteurs muscariniques à l'acétylcholine en bloquant ainsi son effet bronchoconstricteur.

e) La voie d'administration :

Comme dit précédemment les maladies respiratoires sont la quatrième cause de décès en France après les maladies cardiovasculaires. Parmi ces dernières, on peut compter la BPCO, l'asthme ou la mucoviscidose. Selon l'INSERM, la BPCO touche 5 à 10% de la population de plus de 45 ans et plus de 5 millions de personnes, avec une forte prédominance chez les hommes (8). De plus, 4 millions de personnes souffrent d'asthme en France, dont 3,5 millions de BPCO et 7 280 de mucoviscidose (14).

De par le nombre de personnes touchées par ces maladies pulmonaires il est nécessaire de trouver des améliorations sur les traitements de ces dernières mais aussi sur leur mode d'administration, ainsi cela améliorerait la qualité de vie des patients mais aussi leurs observances.

Ces maladies nécessitent un traitement par bronchodilatateurs, corticostéroïdes ou antibiotiques. Pour administrer ces traitements, il est souvent nécessaire d'utiliser des nébuliseurs ou des aérosols doseurs (ou inhalateurs). Malgré leurs évolutions techniques et de design (14), les nébuliseurs et les inhalateurs restent peu pratiques à utiliser, les nébuliseurs sont encombrants et peu confortables pour le patient. Quant aux inhalateurs, certains nécessitent une inspiration forcée pour déclencher la libération de la dose de médicament et nécessitent donc un débit inspiratoire minimal pour être utilisés or, de nombreux patients atteints de ces maladies peuvent avoir certaines difficultés lors de l'inspiration. Avec les aérosols doseurs liquides pressurisés, la libération manuelle de la dose d'aérosol doit être parfaitement synchronisée avec le début de l'inspiration, ce qui peut diminuer l'efficacité du traitement et l'observance du patient car cela est difficile à réaliser (15).

La voie d'administration de ces traitements se fait par voie aérienne pour directement se déposer sur la zone à traiter c'est-à-dire au niveau pulmonaire.

La nébulisation consiste en la transformation d'une solution liquide, par exemple un médicament, en un aérosol qui est un ensemble de particules, solides ou liquides, d'une substance chimique ou d'un mélange de substances, en suspension dans un milieu gazeux. Les aérosols sont créés à partir d'ampoules de solution de principes actifs prêts à l'emploi. Cet aérosol peut alors être inhalé, c'est-à-dire inspiré par le patient, et ainsi entrer en contact direct et rapide avec les voies aériennes.

Comme indiqué par les Figures 4 et 5, les gouttelettes inhalées par le patient rentrent plus ou moins profondément dans les voies aériennes selon leurs diamètres. En fonction des zones à traiter visées, les particules doivent avoir une taille spécifique.

Elles peuvent mesurer plus de 10 micromètres permettant ainsi de traiter la sphère ORL et les fosses nasales. Les particules supérieures à 10 micromètres vont donc venir se fixer au niveau de l'oropharynx et seront avalées par le patient, pour les traitements avec des corticoïdes il faut donc faire en sorte qu'il y est le moins de particules supérieur à ce diamètre et ainsi éviter les candidoses ou les dysphonies (16).

La majeure partie des particules atteignant les bronches sont comprises entre 5 et 4 micromètres cependant il est possible pour les particules de se fixer sur les bronches tant qu'elles sont inférieures à 10 micromètres. Les particules plus petites que 4 micromètres vont majoritairement se déposer au niveau des alvéoles et sédimenter à cet endroit pour ensuite atteindre la voie systémique. En effet, un temps de résidence prolongé des particules inférieures à 4 micromètres au niveau de la zone périphérique alvéolaire favorise les phénomènes de sédimentation et de diffusion des particules et par conséquent le dépôt périphérique du médicament. Il est recommandé au patient de faire une pause inspiratoire en retenant sa respiration après avoir inspiré son aérosol et avant de procéder à l'expiration. Le but étant d'améliorer le dépôt des particules très fines (16).

Le site de dépôt d'une particule va dépendre principalement de sa taille qui caractérise son comportement physique et sa cinétique comme on peut le voir sur les Figures 4 et 5.

La distribution du dépôt des particules en fonction de leurs diamètres et de la zone à traiter est décrit dans la Figure 4 ci-dessous :

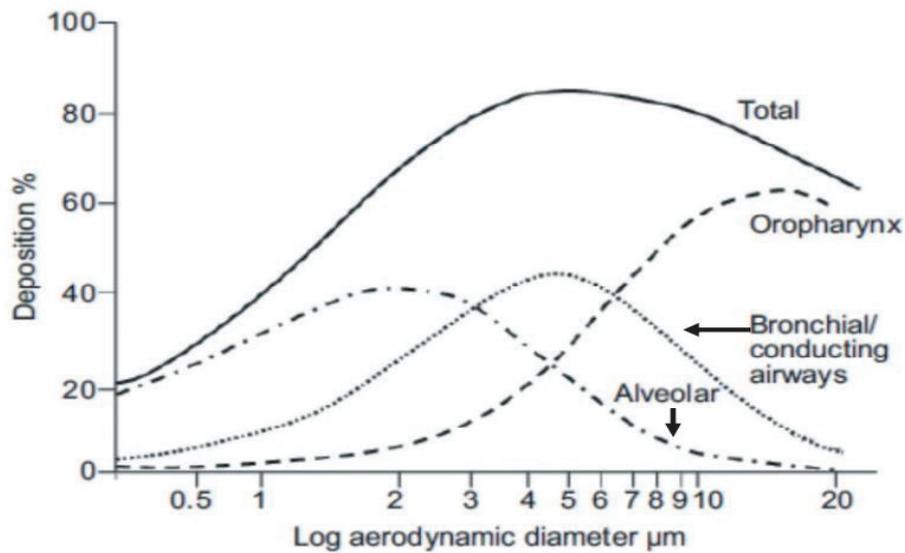


Figure 4. Distribution du dépôt des particules en fonction de leurs diamètres et des zones aériennes. (16)

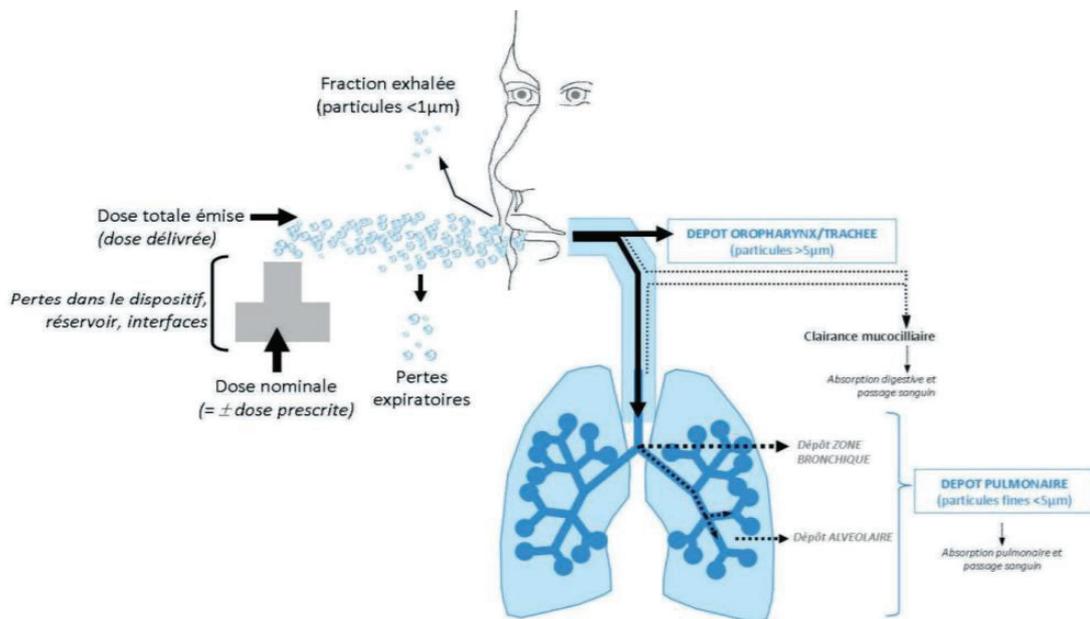


Figure 5. Schéma sur le dépôt des particules tiré des 'Recommandations sur les pratiques de l'aérosolthérapie en pneumologie (16)

Avec : Dose nominale (= charge) : Masse de médicament disponible dans le générateur d'aérosol. C'est une dose qui est calibrée.

Dose totale émise ou dose délivrée (DTE) : Masse de médicament réellement disponible à la bouche du patient pour être inhalée.

2) Le Drug vaping :

Cette étude porte sur une nouvelle méthode d'administration de principes actifs essentiels dans la gestion des troubles respiratoires obstructifs.

a) Fonctionnement des cigarettes électroniques :

Cette nouvelle méthode se résume au principe du « vaping » médicamenteux, c'est-à-dire l'utilisation d'un système électronique de délivrance de nicotine (ENDS) aussi appelé cigarette électronique pour l'administration de traitements pulmonaires. Comme montré sur la Figure 6, les ENDS sont des dispositifs composés de 5 parties essentielles :

- un Drip Tip qui est l'embout de la cigarette électronique par lequel la vapeur est aspirée ;
- un réservoir, pour accueillir le liquide à évaporer aussi appelé e-liquide ;
- une résistance, permettant de chauffer le mélange de e-liquide et de nicotine ou autre dans le réservoir ce qui va générer une évaporation du e-liquide et de la nicotine sous forme de vapeur qui sera inspirée par la personne utilisant le dispositif ;
- une batterie rechargeable.

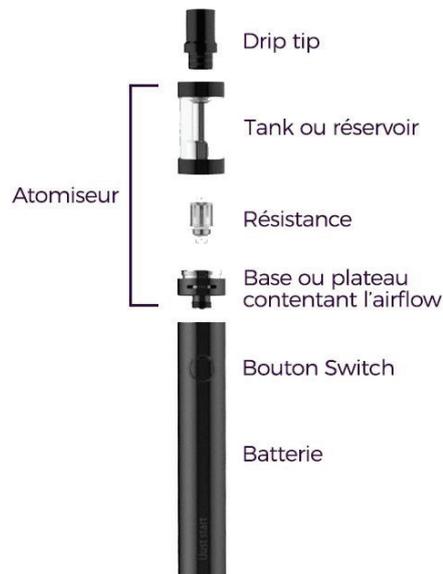


Figure 6. Schéma de la composition d'une cigarette électronique. (17)

b) Les différentes générations de cigarettes électroniques :

Le premier type de cigarette électronique a été breveté par le chinois Hon Lik (18), ce type de cigarette électronique exploitait le principe de la nébulisation par ultrasons. Quelques années plus tard une nouvelle génération de cigarette électronique apparaît, cette dernière utilise une résistance chauffante pour vaporiser le produit souhaité, cette idée fut brevetée par le chinois David Yunqiang Xiu sous le nom d'« Electronic Nicotine Delivery System (ENDS) ». De plus, ces dernières ont une batterie plus puissante et plus durable. La troisième génération de e-cigarette sont aussi ENDS, la différence est surtout liée à une puissance plus importante (19)(20).

L'e-cigarette JUUL[®] fait partie des ENDS de 3-ème génération les plus populaires de par sa taille et sa facilité d'utilisation. En effet, cette dernière mesure 95 mm de hauteur, 15mm de largeur et 7 mm d'épaisseur et pèse 14 grammes (21). De plus, la sécrétion de vapeur se fait uniquement grâce à l'aspiration de l'utilisateur sans même avoir besoin d'appuyer sur un bouton, aucun réglage de la résistance n'est nécessaire contrairement à certains types d'ENDS. L'e-cigarette ZIP USONICIG[®] est une ENDS faisant partie de la 3-ème génération et est un système mesurant 94,2 x 34 x 19 mm (22), fonctionnant par un système d'ultrasons à haute fréquence. Cette dernière a aussi été testée dans ces essais.

Des manipulations ont été faites pour savoir si la dose des principes actifs cités plus haut libérée par la JUUL[®] et la ZIP USONICIG[®] était comparable à la dose de principe actif libérée lors d'une séance de nébulisation classique.

3) Principe de l'HPLC :

L'HPLC (23) ou chromatographie en phase liquide haute performance est une méthode permettant d'identifier et de quantifier des solutés en solutions. La solution contenant les analytes à doser va être poussée par une phase liquide appelée phase mobile dans une colonne constituée d'une phase stationnaire. En fonction du type d'HPLC, le mode de séparation des solutés va être différent. En fonction des caractéristiques des molécules à doser ainsi que celles des phases stationnaire et mobile, les molécules vont mettre plus ou moins de temps à passer la colonne HPLC. Une fois que la molécule aura traversé la colonne en étant transportée par les éluants (phase mobile), elle sera détectée par un détecteur, souvent à ultra-violets. Ce temps entre l'injection de la solution et la détection du soluté est appelé temps de rétention. Il existe plusieurs types de colonne HPLC, le choix de la colonne va dépendre des molécules à doser et du type d'HPLC voulue :

- La chromatographie d'adsorption, la phase stationnaire présente un fort pouvoir d'adsorption et va retenir les solutés par liaisons électrostatiques tels que les liaisons hydrogènes et les liaisons de Van der Waals. La phase stationnaire peut être composée d'oxyde d'aluminium, de silicates de magnésium ou de gels de silice.
- La chromatographie de partage, elle peut être normale ou inverse, les analytes vont être séparés en fonction de leur polarité et leur affinité pour la phase stationnaire :
 - o En phase normale, la phase stationnaire est polaire et la phase mobile apolaire. Les solutés apolaires seront élués en premier car ils ont moins d'affinité pour la phase stationnaire que pour la phase mobile. La phase stationnaire est en général composée de gel de silice polaire
 - o En phase inverse, la phase stationnaire est apolaire et la phase mobile polaire, les analytes polaires seront élués en premier. La phase stationnaire est composée de gel de silice greffé avec des chaînes carbonées à 8 ou 18 carbones la rendant apolaire.
- La chromatographie par échange d'ions, cette méthode est utilisée si les analytes à doser sont chargés, la colonne peut avoir une phase stationnaire anionique ou cationique, la phase mobile sera de charge inverse. Si les molécules sont anioniques et la colonne cationique alors ces dernières seront retenues par la colonne, elles auront donc un temps de rétention plus important et inversement.
- La chromatographie d'exclusion stérique, elle permet de séparer les solutés en fonction de leurs tailles, la phase stationnaire est composée de billes poreuses en silice ou polymères.

L'identification de la molécule se fait grâce au temps de rétention qui est propre à cette dernière en fonction du type d'HPLC, des conditions utilisées mais aussi de l'affinité qu'a le soluté pour les éluants et la phase stationnaire. Cependant, il est fréquent que pour une même méthode le temps de rétention de plusieurs molécules soient proches et donc peu différenciables, il est donc nécessaire de jouer sur certains paramètres en réfléchissant à une nouvelle méthode de dosage pour modifier ces temps de rétention et donc différencier les molécules présentes dans une même solution.

Le détecteur UV est relié à un dispositif permettant de dessiner un chromatogramme, la présence de la molécule d'intérêt sera traduite par l'apparition d'un pic dont l'aire sous la courbe est proportionnelle à la concentration de ce soluté dans la solution de départ et l'abscisse du sommet du pic correspond au temps de rétention de la molécule. Le principe de l'HPLC est décrite dans la Figure 7 ainsi que ses composants.

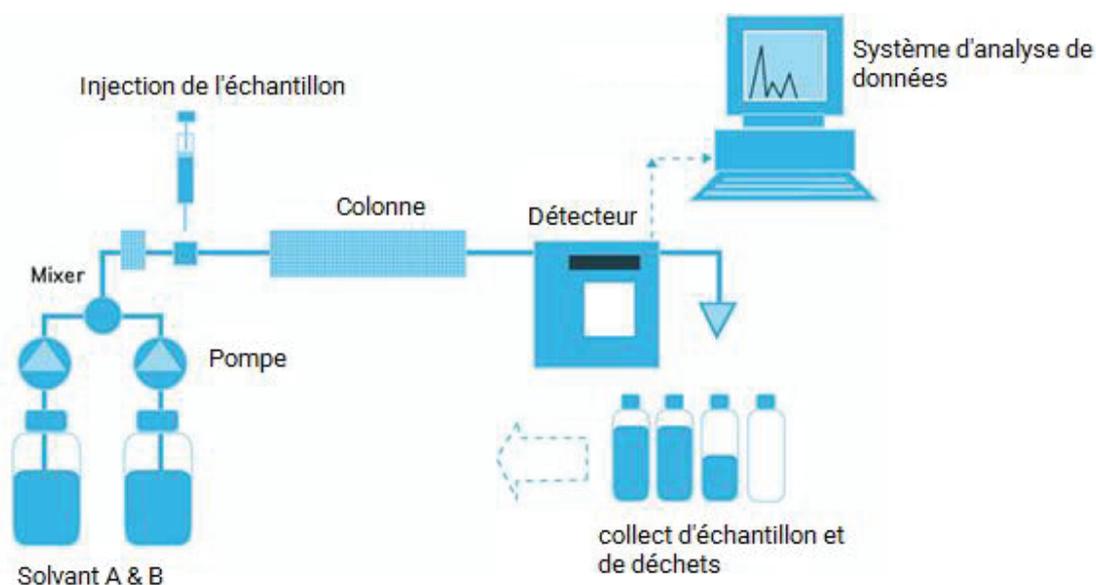


Figure 7. Principe de l'HPLC (24)

III. Matériel et méthode :

1) Matériel :

a) Les principes actifs :

Pour la réalisation de ce projet trois différents principes actifs bronchodilatateurs ont été utilisés. Pour réaliser les tests avec les cigarettes électroniques des principes actifs sous forme de poudre ont été utilisés. Le sulfate de terbutaline, le bromure d'ipratropium et le salbutamol hémisulfate ont été achetés chez VWR, France. Des tests avec nébuliseur ont été réalisés, pour l'utilisation de ce dernier des ampoules de principes actifs déjà préparées et distribuées aux patients dans les officines ont été utilisées, ces ampoules ont été fournies par la pharmacie à usage intérieur du CHU de Saint-Etienne ; les ampoules de sulfate de terbutaline de 5mg/2ml proviennent du laboratoire Arrow ainsi que celles de bromure d'ipratropium de 0.5mg/2ml, les ampoules de salbutamol hémisulfate de 5mg/2.5ml quant à elles provenaient du laboratoire Mylan.

b) Chromatographie liquide haute performance :

Pour réaliser le dosage des échantillons des tests, l'HPLC de chez Shimadzu (Japon) a été utilisée ainsi que le logiciel LABsolution permettant de créer et lire les chromatogrammes. Cette HPLC est équipée d'un échantillonneur automatique permettant d'injecter des échantillons à doser avec des volumes précis et de manière automatisée. De plus, elle est équipée d'une pompe quaternaire ce qui permet d'utiliser jusqu'à 4 solvants différents à la fois. Le système de détection se compose d'un détecteur UV à longueur d'onde unique avec une lampe au deutérium utilisée comme source de lumière. Le logiciel LABsolution relié à l'HPLC permet de créer

des méthodes précises en rentrant certains paramètres choisis en fonction des besoins. En effet, il est possible de sélectionner le mode d'HPLC (gradient ou isocratique), la longueur d'onde d'acquisition, la température d'acquisition, la colonne HPLC se trouvant dans un four dont la température est réglable, le débit des solvants ainsi que leurs proportions les uns par rapport aux autres et le temps d'acquisition. Une fois la méthode créée, les acquisitions peuvent être programmées en choisissant le volume d'injection des échantillons et le nombre d'acquisitions par échantillon. Pour chacun des échantillons une méthode différente peut être choisie via le logiciel.

Pour la réalisation des méthodes HPLC permettant le dosage des principes actifs plusieurs phases mobiles ont été utilisées avec les composants suivants ; le Sodium dodecyl sulfate acheté chez VWR, France, le méthanol, le triéthylamine, le potassium dihydrogène-orthophosphate et l'acide orthophosphorique proviennent quant à eux de chez Thermo Fisher scientific, France.

c) Description des cigarettes électroniques et nébuliseur :

Il a été comparé lors de cette étude deux cigarettes électroniques avec un nébuliseur pneumatique, le Cirrus™ 2 qui est utilisé en routine par les patients.

Les deux cigarettes électroniques utilisées sont la JUUL®, achetée au fabricant JUUL®, France, qui fait partie des ENDS les plus populaires de par sa taille et sa facilité d'utilisation. En effet, cette dernière mesure 95 mm x 15 par 7 mm et pèse 14 grammes. La JUUL® a une résistance de 1,6 ohm et une puissance de 8 W ainsi qu'une capacité de 200 bouffées de charge (21). De plus, cette cigarette électronique est fournie avec des réservoirs ou cartouches de recharge contenant une solution de e-liquide composée de glycérol, de PG, ces cartouches sont jetables et ont un volume de 0,7 ml (25). Pour les essais ces cartouches ont été vidées et lavées puis remplies avec des solutions de remplissage formulées à cet effet avec les principes actifs et le e-liquide choisi étant du 1,3-propandiole (PDO ou Végétol®). La puissance de la

cigarette est unique et non modifiable. La sécrétion de vapeur se fait uniquement grâce à l'aspiration de l'utilisateur sans même avoir besoin d'appuyer sur un bouton, aucun réglage de la résistance n'est nécessaire contrairement à certains types d'ENDS.

La résistance de la JUUL[®] permet de chauffer le mélange de e-liquide et de principe actif dans le réservoir ce qui va générer une évaporation du e-liquide et du principe actif sous forme de vapeur qui sera inspirée par la personne utilisant le dispositif.

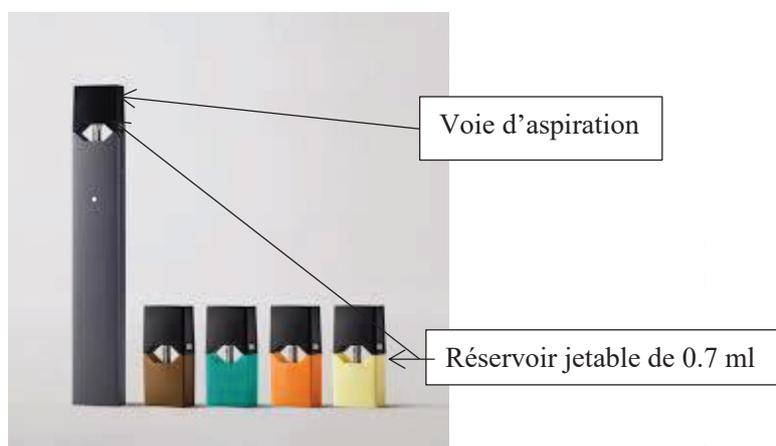


Figure 8. ENDS JUUL et ses réservoir jetables.

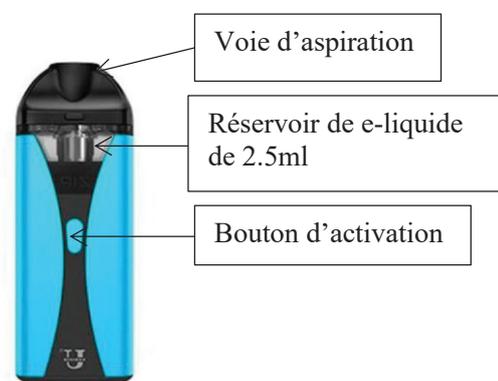


Figure 9. ENDS ZIP à ultrasons.

La ZIP USONICIG[®] est quant à elle un dispositif fonctionnant par un système d'ultrasons à haute fréquence (26), sans combustion, ce qui élimine le risque de sensation de brûlé. Une plaque en céramique à ultrasons fait vibrer le e-liquide à une fréquence de 3 MHz et le change en vapeur. Il est recommandé d'utiliser le kit avec du e-liquide gras ayant au minimum 50% de VG (glycérine végétale) (22) . Ce dispositif permet d'éviter la chauffe du produit et donc à dégradation par la chaleur de certains actifs.

Pour l'utilisation des cigarettes électroniques JUUL® et ZIP USONICIG® le 1,3-propandiole (PDO ou Végéto1®) du laboratoire XERES a été utilisé comme e-liquide ou liquide de remplissage.

Habituellement, les e-liquides les plus utilisés par les utilisateurs de cigarettes électroniques sont un mélange de propylène glycol (PG) et de glycérine végétale (VG) (2). Cependant, il a été démontré que le propylène glycol provoque une sécheresse et une irritation des voies respiratoires (2), ce qui est contraire à l'objectif final d'utiliser ce dispositif chez les patients souffrant de maladies pulmonaires. Le PDO est connu pour être utilisé comme substitut au PG, contrairement à ce dernier le PDO est reconnu comme étant une substance « Généralement Reconnu Comme Sure » ou « GRAS » (Generally Recognized As Safe) par la FDA (Food And Drug Administration) (27).

Pour pouvoir comparer les doses entre les deux moyens de libération il a d'abord fallu connaître la dose libérée lors d'une nébulisation. Les nébuliseurs sont des dispositifs médicaux utilisant l'effet venturi pour libérer l'actif sous forme de micro gouttelettes respirables par le patient. La tête de nébulisation est la partie qui contiendra le nébulisât et libérant les microgouttelettes, cette tête est reliée à un compresseur qui génère de l'air comprimé. L'air circule à travers la solution de substances actives et l'atomise en minuscules gouttelettes (28) comme montré sur l'image ci-dessous.



Figure 10. Image d'un nébuliseur.

2) Méthode :

a) Formulation du e-liquide ou liquide de remplissage :

Le but de ces essais étant de savoir si les cigarettes électroniques citées précédemment ont la capacité de libérer certains principes actifs il d'abord été nécessaire de formuler des solutions à base de e-liquide et des actifs concernés.

Pour remplir les réservoirs des cigarettes électroniques, des solutions de sulfate de terbutaline, de bromure d'ipratropium ou de salbutamol hémisulfate avec différentes concentrations ont été formulées et utilisées. Pour le sulfate de terbutaline 3 concentrations différentes ont été testées : pour des concentrations finales de 1 et 2 mg/ml des solutions mères S0 de 40 mg/ml ont été formulées, pour une concentration finale de 10 mg/ml une solution mère S0 de 80 mg/ml a été faite. Les solutions mères ont été réalisées à partir de poudre de sulfate de terbutaline et d'eau physiologique stérile à 0,9% de NaCl. Pour remplir le réservoir des cigarettes

électroniques des solutions S1 ont été faites à partir des solutions mères et de PDO en respectant un pourcentage final en PDO de 87,5%.

Pour le bromure d'ipratropium des tests avec deux concentrations finales ont été réalisés, ces dernières étaient de 0.25 mg/ml et 1.25mg/ml pour cela des solutions mères de 5mg/ml et 10mg/ml ont été réalisées à partir de poudre de bromure d'ipratropium et d'eau physiologique stérile à 0,85% de NaCl (l'écart de concentration d'eau physiologique avec le sulfate de terbutaline est lié au matériel disponible pour ces essais) , comme pour le sulfate de terbutaline le réservoir a été finalement remplie avec une solution contenant 87.5 % de PDO et 12,5% de solution mère.

En ce qui concerne le salbutamol hémisulfate, deux concentrations finales de 2 et 10mg/ml ont été testées. Les solutions mères initiales avaient une concentration de 40mg/ml pour la solution finale de 2mg/ml et 80 mg/ml pour la solution finale de 10mg/ml. Les mêmes proportions de PDO que pour les deux principes actifs précédents ont été respectées pour formuler la solution de remplissage des cigarettes électroniques.

Les protocoles de formulations des solutions de remplissage sont détaillés dans l'Annexe 1, pour chaque solution un ratio de 87.5/12.5 PDO/solution a été respecté car ce dernier a été validé lors d'études précédentes au sein du CIS. Le dosage des différents échantillons a été fait en respectant les méthodes HPLC choisies pour chacun des principes actifs.

b) Méthodes HPLC :

L'une des premières étapes lors de ce projet a été de déterminer les méthodes de dosage appropriées pour le salbutamol hémisulfate et le bromure d'ipratropium en sachant que celle du sulfate de terbutaline a été déterminée précédemment lors de travaux menés par une doctorante du CIS (2) et qui est résumée dans le tableau suivant :

Type d'HPLC	Chromatographie de partage en phase inverse (RP-HPLC)	
Mode HPLC	Isocratique	
Colonne	Colonne : Hypersil GOLD™ aQ C18 column (150×4.6 mm, 3 μ) Pre-colonnes : Colonnes HPLC HyperSep™	
Phase mobile	- Phase mobile A: solution de SDS 1g/L - Phase mobile B: methanol -Ratio Eau SDS/methanol (40:60)	Solvant pour solutions : eau déionisée
Débit	1 mL/min	
Volume d'injection	20 μL	
Longueur d'onde	218 nm	
Température	23-25 °C	

Tableau 3. Conditions de la méthode de dosage HPLC du sulfate de terbutaline (16)

L'un des objectifs de base de cette étude était de déterminer une méthode commune pour le salbutamol hémisulfate et le bromure d'ipratropium car le but final était de créer une seule et unique solution liant les deux principes actifs. En effet, en pratique clinique un mélange bromure d'ipratropium et salbutamol hémisulfate est utilisé par les patients lors d'une même et unique séance de

nébulisation. Une recherche bibliographique a donc été nécessaire pour déterminer cette méthode. Il est à noter que pour tester les méthodes des ampoules de nébulisation ont été utilisées, ces dernières étaient diluées au 10-ème pour empêcher l'encrassement de la colonne.

Les différentes méthodes testées pour le bromure d'ipratropium et le salbutamol hémisulfate ainsi que le résultat de ces tests sont décrits dans la partie Résultats.

c) Plan de validation de méthode HPLC :

Avant de lancer les essais il a été nécessaire de valider les méthodes de dosage HPLC pour les principes actifs, la validation de méthode du sulfate de terbutaline a été réalisée par une doctorante du CIS (2) lors de travaux précédents, cette méthode a été reprise pour ce travail. Lors de la validation de méthode de dosage du salbutamol hémisulfate et du bromure d'ipratropium les trois points suivants ont été vérifiés :

- L'absence d'effet matrice des solvants et plus précisément du PDO. L'effet matrice est l'influence d'un composé chimique sur l'absorption détectée que ce soit en intensité ou en longueur d'onde. Il est donc important de savoir si les solvants ont un effet ou non sur la détection des molécules. Pour cela il est nécessaire de connaître la différence relative entre les coefficients directeurs des droites représentant la concentration des solutions en fonction d'une valeur mesurée, comme par exemple l'air sous la courbe des pics pour le dosage HPLC, avec le solvant dit matrice et le solvant standard. Le calcul est le suivant :

$$\frac{\text{Coefficient directeur "solvant matrice"} - \text{Coefficient directeur solvant standard}}{\text{Coefficient directeur "solvant matrice"}} \times 100$$

Le résultat doit être inférieur à 10% pour conclure à l'absence d'effet matrice du solvant.

- La linéarité : En effet selon les guidelines ICH Q2(R1)(29) il est nécessaire pour valider une méthode d'analyse de tester la linéarité sur toute une gamme de concentrations de principe actif. Cette linéarité peut être démontrée directement sur la substance médicamenteuse en diluant une solution mère standard, pouvant être les ampoules de principes actifs pour les séances de nébulisations délivrées aux patients ou encore une solution mère créée à partir des principes actifs en poudre distribués par les fabricants. La linéarité doit être vérifiée en traçant les courbes représentant l'aire sous la courbe des pics HPLC en fonction de la concentration des solutions. Le calcul du coefficient de corrélation des courbes permet de conclure quant à la linéarité ou non de la méthode. Un minimum de 5 concentrations est recommandé selon les guidelines ICH (29).
- La répétabilité : il faut de plus vérifier la répétabilité de la méthode de dosage HPLC. La répétabilité exprime la précision dans les mêmes conditions de fonctionnement sur un court intervalle de temps. La répétabilité est également appelée précision intra-essai. Elle doit être évaluée en utilisant : un minimum de 9 déterminations couvrant la gamme spécifiée pour la procédure (par exemple, 3 concentrations/3 répétitions chacune) ; ou un minimum de 6 déterminations à 100% de la concentration d'essai (29).

Pour savoir si les solvants, ici en l'occurrence le PDO, ont un effet matrice sur la méthode de dosage il faut comparer les coefficients directeurs des droites de calibrations de celle réalisée avec un solvant neutre comme l'eau déionisée et le solvant à tester.

Pour réaliser ces courbes l'aire sous la courbe des pics de plusieurs échantillons a été calculé ayant des concentrations différentes. Pour chacune des concentrations l'échantillon a été dosé 3 fois de suite ce qui a aussi permis de tester la répétabilité des méthodes.

En ce qui concerne le salbutamol hémisulfate , les courbes de calibrations ont été créées sur 7 concentrations qui sont les suivantes : 2, 1, 0.5, 0.25, 0.126, 0.0128 et 0 mg/ml

Pour le bromure d'ipratropium ces dernières ont été réalisées sur 5 concentrations : 0.25, 0.125, 0.025, 0.0125 et 0 mg/ml.

La linéarité de ces méthodes a donc pu être testée car les droites ont été faites sur au moins 5 concentrations.

Pour les deux principes actifs trois courbes ont été faites en utilisant les mêmes concentrations :

- Une courbe pour laquelle les échantillons ont été faits à partir d'ampoules diluées pour obtenir les concentrations voulues.
- Une courbe dont les échantillons ont été créés à partir de poudre de principes actifs et d'eau déionisée, qui est le standard.
- La dernière des courbes a été réalisée à partir d'échantillons composés à 20% de PDO et 80% d'eau déionisée. Le volume final des échantillons était de 1 ml à 5 ml et les solutions mères utilisées étaient de 0,5mg/ml pour le bromure d'ipratropium et 4 mg/ml pour le salbutamol hémisulfate . Les tableaux ci-dessous montre comment ces solutions ont été faites :

Concentration de bromure d'ipratropium (mg/ml)	0,25	0,125	0,025	0,0125
volume de solution mère (ml)	0,5	0,25	0,1	0,05
volume à ajouter en tout	0,5	0,75	1,9	1,95
Volume d'eau déionisée (ml) (80%)	0,4	0,6	1,52	1,56
volume PDO (20 %)	0,1	0,15	0,38	0,39
volume totale (ml)	1	1	2	2
concentration de la solution mère en bromure d'ipratropium (mg/ml)	0,5			

Tableau 4. Formulation des échantillons de bromure d'ipratropium pour tester l'effet matrice

Concentration de salbutamol hémisulfate (mg/ml)	2	1	0.5	0.25	0.126	0.0128
volume de solution mère (ml)	0.5	0.25	0.125	0.125	0.063	0.016
volume ajouter à	0.5	0.75	0.875	1.875	1.937	4.984
volume d'eau déionisée (ml) (80%)	0.4	0.6	0.7	1.5	1.550	3.987
volume PDO (20 %)	0.1	0.15	0.175	0.375	0.387	0.997
volume totale (ml)	1	1	1	2	2	5
concentration de solution mère en salbutamol hémisulfate initiale (mg/ml)	4					

Tableau 5. Formulation des échantillons de salbutamol pour tester l'effet matrice

Pour réaliser la courbe de calibration du sulfate de terbutaline, 6 concentrations standards ont été réalisées à partir de poudre de sulfate de terbutaline dissoute dans de l'eau déionisée, un ratio de 20/80 de solution et de PDO a été respecté. Les 6 concentrations sont les suivantes : .3125 µg/mL, 3.125 µg/mL, 31.25 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 1000 µg/mL , l'équation de la courbe de calibration obtenue est la suivante : $y=12,278.4 x+0$ ayant un R^2 de 0.9998, avec y l'air sous la courbe en Au et x la concentration en µg/mL (2).

Le résultat de ces tests sont décrits dans la partie Résultats.

d) Génération et récolte des condensats de puffs et nébulisât :

Un condensat de puff ou de vape est la vapeur libérée par la cigarette électronique lors de l'inspiration par une personne utilisant une cigarette électronique.

Une puff ou vape est le mécanisme d'aspiration exercé sur une cigarette électronique lors de son utilisation.

Pour pouvoir libérer ces condensats de manière artificielle la seringue instrumentée PDSP[®] (Programmable Dual Syringe Pump) fabriquée par Burghart Messtechnik[®] a été utilisée (30) (Figures 11 et 13.b). Il s'agit d'une pompe à aérosol précise et contrôlable par un terminal à écran tactile séparé. La pompe se compose de deux pompes à piston linéaire dans des cylindres en verre, ces pompes sont déplacées par un moteur, le déplacement de ces pompes mime une inspiration et une expiration. Cet appareil permet donc de fixer de manière étanche, pour mimer l'effet de la bouche, la cigarette électronique (Figure 13.a) et de générer artificiellement des puffs en « aspirant » le condensat de la cigarette puis en le rejetant dans un Glass Twin Impinger (GTI) défini ci-dessous.

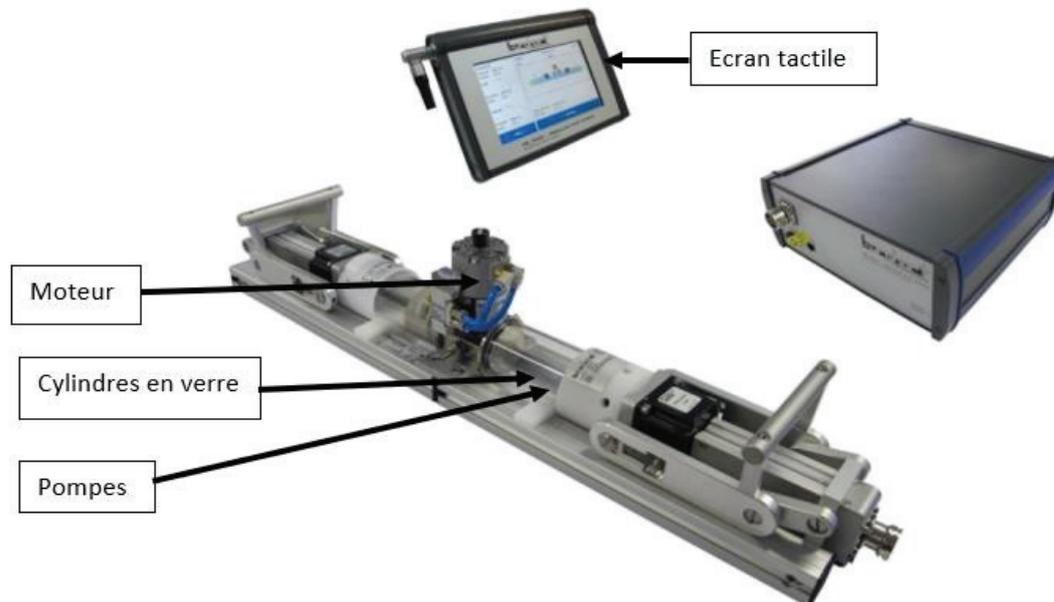


Figure 11. Composants de la seringue instrumentée PDSP (30)

Les doses de bromure d'ipratropium et de salbutamol hémisulfate libérées lors d'une séance classique de nébulisation avec le nébuliseur Cirrus TM 2[®] qui est l'un des plus utilisés ont été déterminées. Le réservoir de la tête de nébulisation a été rempli avec 2ml d'une ampoule de bromure d'ipratropium à une concentration de 0.5mg/2ml ou de 2 ml d'une ampoule de salbutamol hémisulfate avec une concentration de 5mg/2.5 ml. La nébulisation a été effectuée jusqu'au début du désamorçage (bruit de « crachotement » facilement identifiable). La tête de nébulisation était directement liée au GTI pour en récolter l'aérosol. En ce qui concerne la dose libérée au cours de la nébulisation du sulfate de terbutaline, elle a pu être déterminée au cours de travaux précédents (2).

Le GTI (Glass Twin Impinger) (Figures 12 et 13.c) est un assemblage de verrerie répliquant les voies respiratoires et permettant de récolter les doses de médicament libérées par des dispositifs d'administration par inhalation orale. Cet équipement est reconnu par la Pharmacopée Européenne pour séparer et différencier

les doses respirables et non respirables d'un aérosol (32). Ses caractéristiques aérodynamiques permettent de séparer les doses respirables et non respirables émises par un dispositif. Il est composé d'un oropharynx artificiel, d'une chambre supérieure et d'une chambre inférieure. Le GTI utilisé lors de ces essais est un ensemble de verrerie fabriqué sur mesure par MC2.

Ce dernier est relié à une pompe (model LCP5, fabriquée par Copley Scientific of Nottingham, Angleterre) permettant la création d'un flux d'air ayant un certain débit, ce débit devait être de 60 ± 5 L/min comme indiqué dans les notices d'utilisation du GTI (32). Ce flux d'air ainsi que les paramètres aérodynamiques du GTI permettent de séparer les particules émises par les dispositifs médicaux en deux catégories :

- toutes les particules inférieures à $6,4 \mu\text{m}$ sont récoltées dans la chambre inférieure, cette dernière permet de recueillir la fraction de particules dites fines c'est-à-dire respirables du traitement (Figure 12) ;
- à l'inverse les particules non respirables c'est-à-dire celles qui sont supérieures à $6,4 \mu\text{m}$ sont récoltées dans la partie supérieure du GTI (Figure 12).

Un volume de 7 ml d'eau déionisée se trouve dans la chambre supérieure et un volume de 30 ml dans la chambre inférieure cela permet de récupérer les condensats qui se seront dissouts au sein de cette eau, constituant ainsi les échantillons qui seront dosés.

Pour chaque test les volumes d'eau déionisée dans la chambre supérieure ainsi que dans la chambre inférieure ont été prélevés et respectivement mis dans une fiole jaugée de 10 ml et 50 ml puis complété jusqu'au trait de jauge avec de l'eau déionisée, comme indiqué dans le protocole d'utilisation du GTI en Annexe 3. Ce complément jusqu'au trait de jauge permet d'augmenter la précision en connaissant exactement le volume final des échantillons en cas d'évaporation d'une partie du contenu initial du

GTI lors de son utilisation, cette dilution a bien entendu été prise en compte dans les calculs finaux.

Après chaque essais toutes les pièces du GTI étaient lavées à l'eau chaude et au savon puis rincées à l'éthanol suivi d'eau déionisée et enfin séchées à l'air comprimé. En ce qui concerne les tuyaux ils étaient lavés entre chaque changement de principe actif ou lors de leur encrassement.

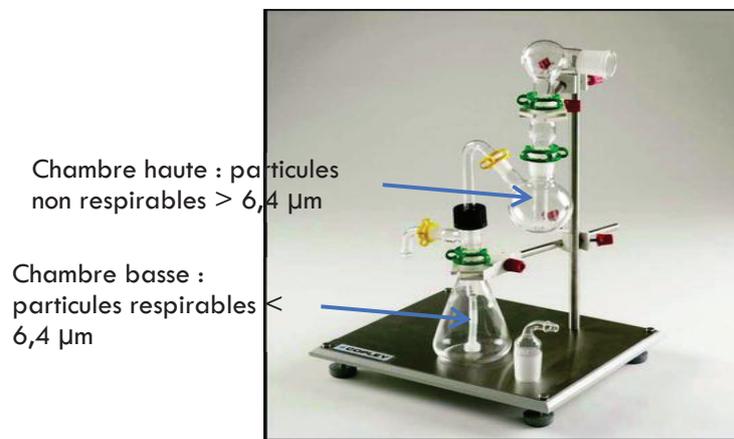


Figure 12. Montage du Glass Twin Impinger

Le montage utilisée pour la récolte des condensats de puffs est décrit dans la figure suivante (Figure 13), dans le cas de l'utilisation du nébuliseur ce dernier était directement connecté au GTI sans passé par l'intermédiaire de la seringue instrumentée.

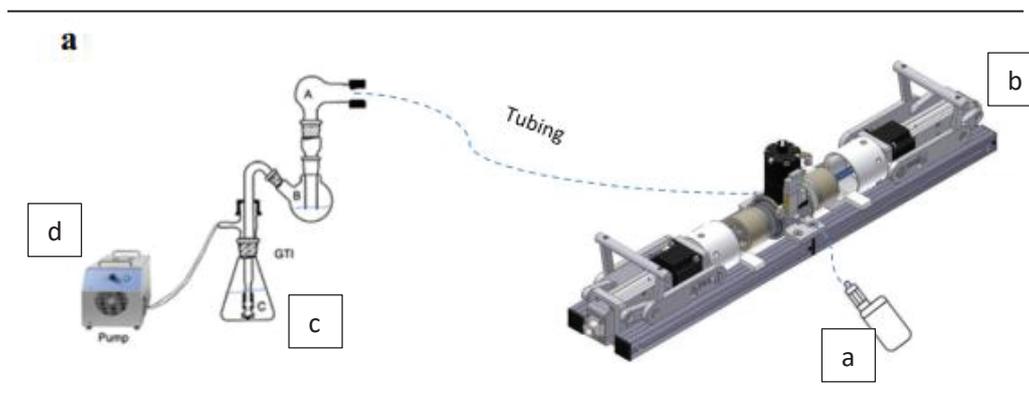


Figure 13. Schéma du montage entre les 4 éléments : cigarette électronique (a), seringue instrumentée (b), le GTI (c) et la pompe (d). Les différents éléments sont connectés par des tubes de manière étanche. (2)

La libération du sulfate de terbutaline, du bromure d'ipratropium et du salbutamol hémisulfate a été réalisée avec les ENDS JUUL[®] et ZIP USONICIG[®] en respectant les normes AFNOR de vapotage suivantes, pour un test, deux séries de 20 bouffées étaient faites séparées par 5 minutes de pause.

Ddurée de bouffée/vaporisation	3,0 s ± 0,1 s
Période des bouffées	30,0 s ± 0,5 s
Nombre de bouffées par série	20
Délai entre séries	300 s ± 120 s
Volume pour la génération d'une bouffée	55,0 mL ± 0,3 mL
Débit maximal	18,5 mL/s ± 1,0 mL/s
Perte de charge hors piégeage	< 50 hPa
Nombre de séries	5
Nombre total de bouffées	100
Durée totale de vaporisation	300 s

Tableau 6. Paramètres de vapotage préconisés par la norme AFNOR XP D 90-300-3.(31)

e) Plan de manipulations :

Les dosages suivants ont été réalisés :

- Pour le sulfate de terbutaline 3 concentrations ont été testées. Pour une concentration de 2.5 mg/ml les deux cigarettes électroniques ont été testées, en revanche la concentration de 10 mg/ml n'a été testée qu'avec la JUUL[®] suite aux résultats peu concluant avec la ZIP USONICIG[®]; de plus, la ZIP USONICIG[®] a été testée pour une concentration de 1mg/ml. Pour chacune des concentrations et cigarette électronique N=3 essais de 40 puffs ont été réalisés pour confirmer la reproductibilité. Les échantillons de la chambre haute et basse du GTI ont été récoltés et dosés, chacun de ces échantillons a été injecté deux fois de suite dans la colonne HPLC et dosé pour confirmer la répétabilité.
- Des concentrations de 2 et 10 mg/ml ont été testées pour le salbutamol hémisulfate avec la cigarette électronique JUUL[®], suite aux essais réalisés avec le sulfate de terbutaline il a été décidé de ne plus réaliser d'essais avec la ZIP USONICIG[®] car les résultats étaient peu concluants. Tout comme pour le sulfate de terbutaline N=3 essais de 40 puffs ont été réalisés pour chacune des concentrations, puis chaque échantillon a été dosé deux fois de suite par HPLC.
- En ce qui concerne le bromure d'ipratropium, il a été testé deux concentrations avec la JUUL[®], une concentration de 0.25 mg/ml et 1.25 mg/ml. Comme pour les deux autres principes actifs N=3 essais de 40 puffs ont été réalisés et chacun des échantillons a été dosé deux fois par HPLC.

Les concentrations de 2,5 mg/ml pour le sulfate de terbutaline, de 2 mg/ml pour le salbutamol hémisulfate et de 0.25 mg/ml de bromure d'ipratropium ont été les premières concentrations testées car il s'agissait des concentrations des ampoules de

nébulisation utilisées. En fonction des résultats obtenus ces concentrations ont été ajustées.

De plus, il est important de noter que les cigarettes électroniques étaient chargées au maximum avant chaque essai et le réservoir rempli au maximum.

- Pour déterminer la dose libérée lors d'une séance de nébulisation classique le nébuliseur CirrusTM2 a été relié au GTI dans les conditions décrites dans la partie III.2)d). Lors de ces essais, du salbutamol hémissulfate ou du bromure d'ipratropium en ampoule ont été utilisés avec des concentrations respectives de 5mg/2,5ml et 0.5mg/2ml. Le temps de nébulisation était égal au temps entre le démarrage du nébuliseur et le début du désamorçage de ce dernier. Tout comme pour les tests avec les cigarettes électroniques N=3 essais ont été faits et chacun des échantillons a été dosé deux fois de suite par HPLC.

IV. Résultats :

1) Détermination des méthodes HPLC :

Suite aux recherches bibliographiques réalisées différentes méthodes de dosage du salbutamol hémissulfate et du bromure d'ipratropium ont été testées, comme précisé dans la partie Méthode. Ces méthodes et le résultat des tests sont décrits ci-dessous.

La première méthode testée pour doser le bromure d'ipratropium et le salbutamol hémissulfate dans un même échantillon regroupe les critères suivants :

Type d'HPLC	Chromatographie de partage en phase inverse (RP-HPLC)	
Mode HPLC	Isocratique	
Colonne	Colonne : Hypersil GOLD™ aQ C18 column (150×4.6 mm, 3 μm) Pre-colonnes : Colonnes HPLC HyperSep™	
Phase mobile	-Phase mobile A: solution tampon (pH= 3 ± 0.5) -Phase mobile B: acétonitrile -Ratio tampon/acétonitrile (70:30)	Solvant pour solutions : eau déionisée
Débit	1 mL/min	
Temps d'acquisition	8 min	
Volume d'injection	10 μL	
Longueur d'onde	212 nm	
Température	30°C	

Tableau 7. Méthode 1 pour le dosage du salbutamol hémisulfate et du bromure d'ipratropium (33)

Cette méthode utilise un gradient de phases mobiles. Cependant, il était visible sur les chromatogrammes que le pic de salbutamol hémisulfate se confondait avec un pic de solvant, certains paramètres ont donc été modifiés comme par exemple le volume d'injection, le temps de rétention, la longueur d'onde ou encore le débit. Cependant, en modifiant ces paramètres les pics de salbutamol hémisulfate et de bromure d'ipratropium se confondaient, en effet, en changeant par exemple le volume d'injection et notamment en l'augmentant le temps de rétention du salbutamol hémisulfate était trop proche de celui de du bromure d'ipratropium. Les temps de rétentions de nos analytes en suivant les paramètres du tableau étaient de 2,3 minutes pour le bromure d'ipratropium et 1,8 minutes pour le salbutamol hémisulfate. Cette méthode n'a donc pas été retenue pour le dosage simultané des deux principes actifs.

Une autre méthode HPLC pour doser les deux principes actifs à la fois a donc été testée et décrite dans le Tableau 8.

Type d'HPLC	Chromatographie de partage en phase inverse (RP-HPLC).	
Mode HPLC	Isocratique	
Colonne	Colonne : Hypersil GOLD™ aQ C18 column (150×4.6 mm, 3 μm) Pre-colonnes : Colonnes HPLC HyperSep™	
Phase Mobile	-Phase mobile A: solution tampon pH=3±0.5 -Phase mobile B: acetonitrile -Ratio solution tampon/acetonitrile: (87.5:12.5)	Solvant pour solutions : eau déionisée
Débit de la phase mobile	1,2 mL/min	
Temps d'acquisition	10 min	
Volume d'injection	40 μL	
Longueur d'onde	205 nm pour bromure d'ipratropium 280 nm salbutamol hémisulfate	
Conditions	Température ambiante	

Tableau 8. Méthode 2 pour le dosage du salbutamol hémisulfate et du bromure d'ipratropium (34)

Cette méthode est une méthode HPLC en mode normal, regroupant les mêmes phases mobiles que la méthode précédente mais avec un ratio différent ainsi qu'un volume d'injection et des longueurs d'ondes différentes. Dans cette méthode la

longueur d'onde n'est pas la même en fonction de la molécule à doser. Après avoir testé cette méthode, il a été conclu qu'elle n'était pas utilisable un dosage simultanés de nos deux actifs car les pics de salbutamol hémisulfate et de bromure d'ipratropium sont confondus.

Une troisième méthode a donc été testée avec les critères suivants :

Type d'HPLC	Chromatographie de partage en phase inverse (RP-HPLC).	
Mode HPLC	Gradient	
Colonne	Colonne : Hypersil GOLD™ aQ C18 column (150×4.6 mm, 3 μm) Pre-colonnes : Colonnes HPLC HyperSep™	
Phase mobile	-Phase mobil A : Potassium dihydrogen phosphate solution (pH 3,20±0.05) -Phase mobile B : acétonitrile	Solvant pour solutions : eau déionisée
Débit de la phase mobile	1 mL/min	
Temps d'acquisition	26 min	
Volume d'injection	10 μL	
Longueur d'onde de détection	210 nm	
Conditions	25°C	

Tableau 9. Méthode 3 pour le dosage du salbutamol hémisulfate et du bromure d'ipratropium (35)

Cette méthode HPLC est une méthode en mode gradient et le gradient suivant a été utilisé :

Time (min)	Flow Rate (mL/min)	A (%)	B (%)
0	1.00	95.0	5.0
10.00	1.00	80.0	20.0
15.00	1.00	80.0	20.0
16.00	1.00	95.0	5.0
25.00	1.00	95.0	5.0

Pour cette dernière méthode testée, seul un pic ressortait pour le salbutamol hémissulfate à 7,9 minutes et aucun pour le bromure d'ipratropium.

Il a donc été décidé de continuer les essais en séparant le salbutamol hémissulfate et le bromure d'ipratropium car il n'est pas possible de les doser ensemble avec les méthodes trouvées et testées.

En ce qui concerne la première méthode, elle a été choisie pour doser le bromure d'ipratropium, en effet il n'était pas possible de l'utiliser pour le salbutamol hémissulfate car le pic de salbutamol hémissulfate se confondait avec le pic de solvant et cela malgré la modification des paramètres. La troisième méthode a été choisie pour le dosage du salbutamol hémissulfate .

Pour les trois méthodes de dosage utilisées et pour les trois principes actifs, trois solutions étaient à formuler chaque jour. Ces solutions sont les solutions tampons ayant un pH et une formulation différents pour la méthode du bromure d'ipratropium et du salbutamol hémissulfate . Pour le dosage du sulfate de terbutaline une solution de SDS de 1g/L d'eau déionisée était à réaliser quotidiennement. Ces solutions étaient préparées le jour même du dosage ou le jour d'avant pour avoir des solutions « fraîches » et donc retirer un biais en cas de problème lors des dosages.

Voici les protocoles de formulation utilisés pour les solutions tampons des deux méthodes :

➤ Méthode Bromure d'ipratropium (36)

Le tampon était réalisé comme suit :

- Dans 800 ml d'eau déionisée dissoudre 1,36 g de potassium dihydrogéné
- Ajouter 2 ml de triméthylamine
- Ajuster le pH à 3 ± 0.5 avec de 'acide orthophosphorique
- Ajuster le volume de la solution à 1L avec de l'eau distillée.
- Filtrer la solution puis dégazer pendant une heure

➤ Méthode Salbutamol hémisulfate (35)

Le tampon était réalisé de la manière suivante :

- Dans 800 ml d'eau déionisée dissoudre 2,5 g de potassium dihydrogène
- Ajuster le pH à $3,20 \pm 0.05$ avec de 'acide orthophosphorique
- Ajuster le volume de la solution à 1L avec de l'eau distillée.

Le reste des phases mobiles étaient des solutions pures provenant de laboratoires.

La colonne utilisée pour ces deux méthodes est une Hypersil GOLD™ AQ C18 (150×4.6 mm, 3 μm), cette dernière est une colonne ayant pour phase stationnaire du gel de silice greffé avec des chaînes carbonées de 18 carbones ce qui rend la colonne peu polaire et hydrophobe. Ceci permet de réaliser des chromatographies en phase inverse ce qui engendre la séparation des molécules en fonction de leur polarité.

Il est important de noter que la colonne HPLC était régénérée une fois par semaine *a minima* ou dès lors qu'elle présentait des signes d'encrassement, le protocole de régénération se trouve en Annexe 2. De plus, avant chaque essai réalisé sur des jours différents ou entre chaque essai de principe actifs différents, la colonne

était conditionnée pendant 20 minutes, le conditionnement consiste à mettre en marche la pompe de l'HPLC et à faire passer la phase mobile des différentes méthodes dans la colonne pour la stabiliser. En plus de cela, la ligne de base était stabilisée avant le début des acquisitions.

2) Résultats de la validation de méthodes HPLC :

Suite au plan de validation de méthode décrit dans la partie Matériel et Méthode, les courbes suivantes et leurs équations ont été obtenues :

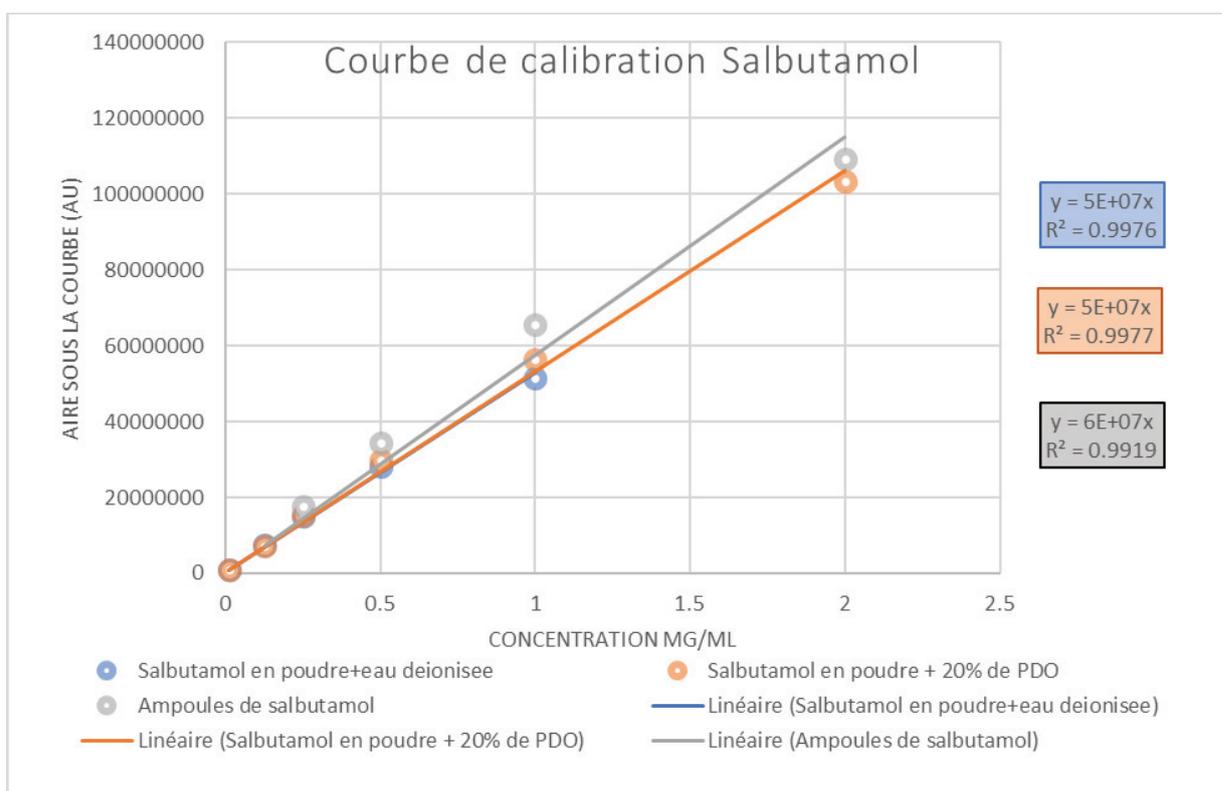


Figure 14. Courbes de calibration du salbutamol hémisulfate

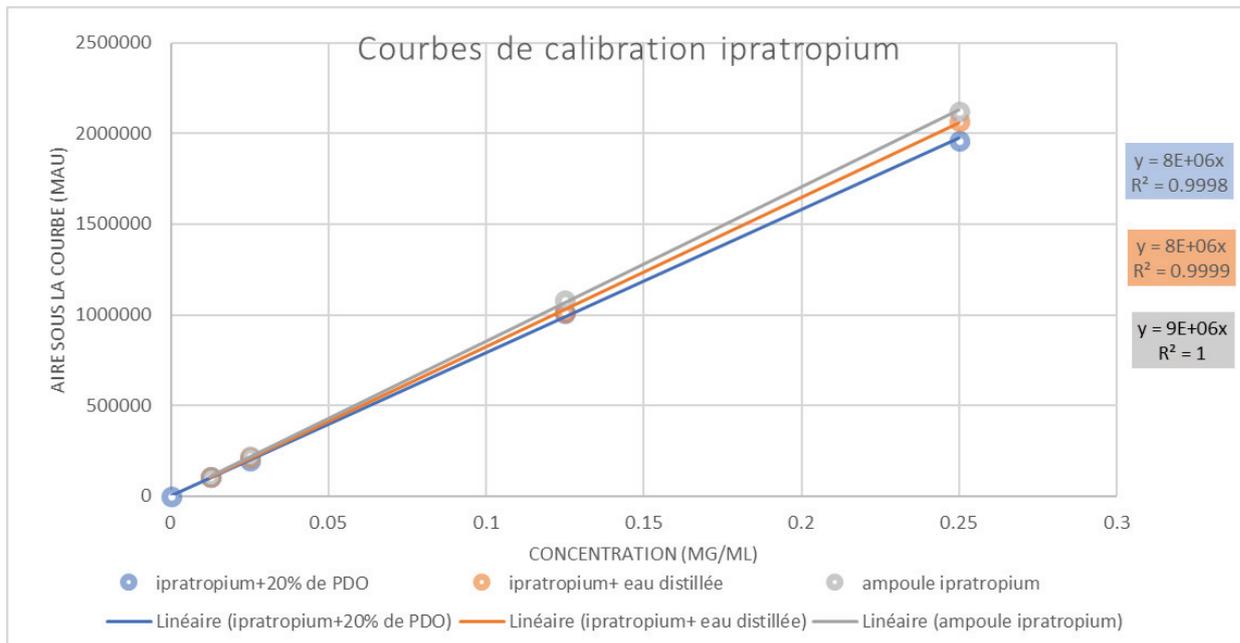


Figure 15. Courbes de calibration de bromure d'ipratropium

La détermination de la présence d'un effet matrice se fait en calculant la différence relative des pentes pour chaque solvant, ceux qui ont été comparés sont le PDO et l'eau déionisée étant le standard, le résultat du calcul suivant doit être inférieur à 10% :

$$\frac{\text{Coefficient directeur "solvant matrice"} - \text{Coefficient directeur solvant standard}}{\text{Coefficient directeur "solvant matrice"}} \times 100$$

Pour le salbutamol hémisulfate un résultat de 0% est obtenu il n'y a donc pas d'effet matrice provenant du PDO.

En ce qui concerne le bromure d'ipratropium un résultat de 0% est aussi obtenu, il n'y a donc pas d'effet matrice.

De plus, la linéarité des courbes peut être confirmée car elles ont toutes un coefficient de corrélation supérieur ou égal à 0.99.

Pour la suite de ce travail, la courbe 20/80 PDO/eau déionisée a été utilisée pour déterminer les concentrations en actifs présents dans les échantillons.

Une fois les méthodes déterminées les essais ont pu commencer avec les cigarettes électroniques et le nébuliseur pour déterminer les doses libérées par les trois dispositifs.

3) Résultats des essais :

Comme expliqué dans la partie Matériel et Méthode, les doses respirables et non respirables de principe actifs libérés par des cigarettes électroniques ont été déterminées mais aussi celles libérées par un nébuliseur. Les doses libérées ont été déterminées en utilisant les courbes de calibration liant de manière linéaire l'aire sous la courbe des pics des chromatogrammes et les concentrations des solutions dosés. Ces concentrations ont été par la suite ramenées à une masse totale libérée puis une masse par puff. Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants :

Tableau 10. Salbutamol hémisulfate Nébulisation Cirrus™2a :

Temps moyen de nébulisation	Masse moyenne respirable de salbutamol hémisulfate (μg)	Masse moyenne non-respirable de salbutamol hémisulfate (μg)
2.1 minutes	632 ± 103	13 ± 1.4

Tableau 11. Salbutamol hémisulfate 2 mg/ml JUUL® :

Nombre de puffs	Masse moyenne respirable de salbutamol hémisulfate (μg)	Masse moyenne non-respirable de salbutamol hémisulfate (μg)
40	40 ± 8	0
1	1 ± 0.225	0

Tableau 12. Salbutamol hémisulfate 10mg/ml JUUL® :

Nombre de puffs	Masse moyenne respirable de salbutamol hémisulfate (µg)	Masse moyenne non-respirable de salbutamol hémisulfate (µg)
40	24 ± 8	0
1	0.6 ± 0.2	0

Tableau 13. Bromure d'ipratropium Nébulisation Cirrus™2 :

Temps moyen de nébulisation	Masse moyenne respirable de salbutamol hémisulfate (µg)	Masse moyenne non-respirable de salbutamol hémisulfate (µg)
3.03 minutes	175 ± 37	31 ± 17

Tableau 14. Bromure d'ipratropium 0.25 mg/ml JUUL® :

Nombre de puffs	Masse moyenne respirable de salbutamol hémisulfate (µg)	Masse moyenne non-respirable de salbutamol hémisulfate (µg)
40	49 ± 1.6	9.3 ± 0.8
1	1.2 ± 0.04	0.2 ± 0.02

Tableau 15. Bromure d'ipratropium 1.25mg/ml JUUL® :

Nombre de puffs	Masse moyenne respirable de salbutamol hémisulfate (µg)	Masse moyenne non-respirable de salbutamol hémisulfate (µg)
40	419.5 ± 14.6	80.7 ± 4.3
1	10.5 ± 0.4	2.0 ± 0.1

Tableau 16. Sulfate de terbutaline 2.5mg/ml JUUL® :

Nombre de puffs	Masse moyenne respirable de salbutamol hémisulfate (µg)	Masse moyenne non-respirable de salbutamol hémisulfate (µg)
40	285.20 ± 72.80	0
1	7.13 ± 1.82	0

Tableau 17. Sulfate de terbutaline 10mg/ml JUUL® :

Nombre de puffs	Masse moyenne respirable de salbutamol hémisulfate (µg)	Masse moyenne non-respirable de salbutamol hémisulfate (µg)
40	639.92 ± 27.00	128 ± 4.40
1	16.00 ± 0.67	3.20 ± 0.11

Tableau 18. Sulfate de terbutaline 2.5mg/ml ZIP USONICIG®:

Nombre de puffs	Masse moyenne respirable de salbutamol hémisulfate (µg)	Masse moyenne non-respirable de salbutamol hémisulfate (µg)
40	0	0
1	0	0

Tableau 19. Sulfate de terbutaline 1mg/ml ZIP USONICIG®:

Nombre de puffs	Masse moyenne respirable de salbutamol hémisulfate (microgramme)	Masse moyenne non-respirable de salbutamol hémisulfate (microgramme)
40	0	0
1	0	0

Ces résultats peuvent être traduits dans les graphiques suivants :

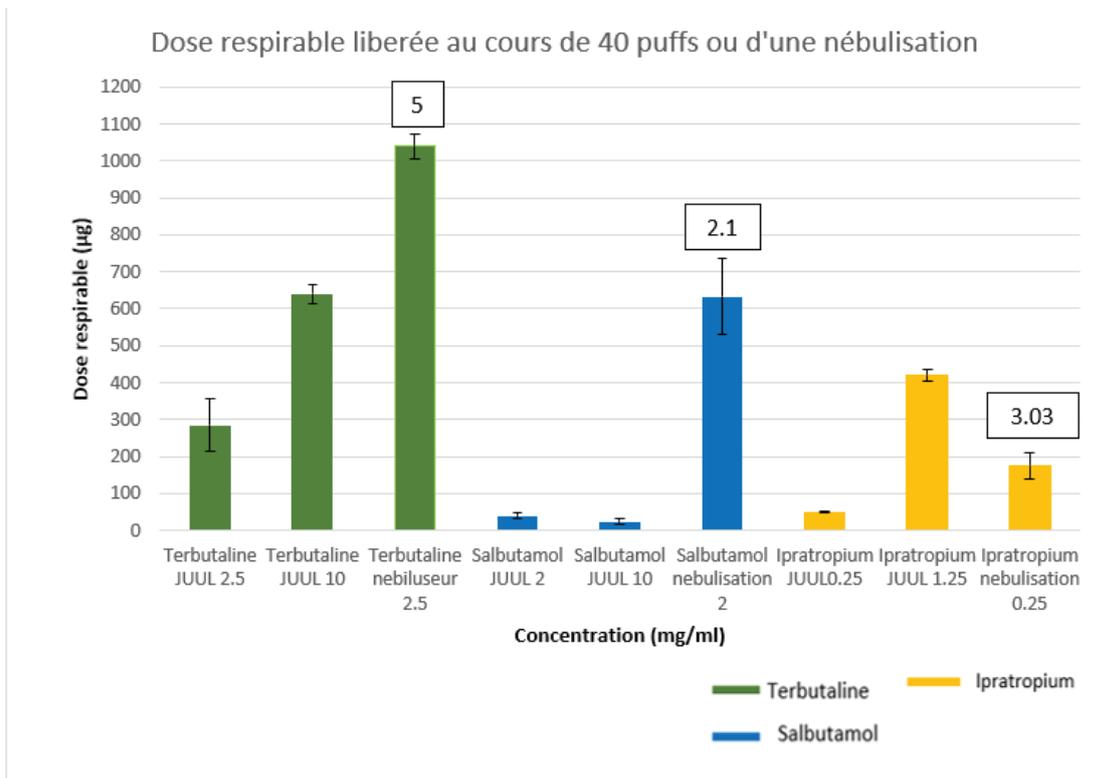


Figure 16. Graphique représentant la dose respirable de principe actifs libérée par la cigarette JUUL en fonction de la concentration de la solution de remplissage et la dose moyenne respirable de principe actif libérée au cours d'une nébulisation ainsi que le temps de nébulisation moyen en minutes pour l'obtention de ces doses (dans les encadrés).

La Figure 16 représente la dose moyenne respirable libérées par la JUUL pour 40 puffs pour les différents principes actifs et concentrations ainsi que celle libérée au cours d'une séance de nébulisation. Ceci permet de comparer les doses moyennes respirables émises par la JUUL et par le nébuliseur Cirrus™ 2. D'après ce graphique l'augmentation des concentrations de liquide de remplissage permet d'augmenter la dose moyenne respirable des principes actifs sauf pour le salbutamol hémisulfate. La

dose moyenne respirable libérée par la JUUL passe de près de 300 à plus de 600 μg en quadruplant la concentration pour le sulfate de terbutaline, pour le bromure d'ipratropium la dose moyenne respirable passe de 49 à 419 μg en multipliant par 5 la concentration du liquide de remplissage. La dose moyenne respirable de salbutamol hémisulfate libérée pour 40 puffs est de 40 μg pour une concentration de 2,5 mg/ml et passe à 24 μg après une augmentation de la concentration à 10mg/ml.

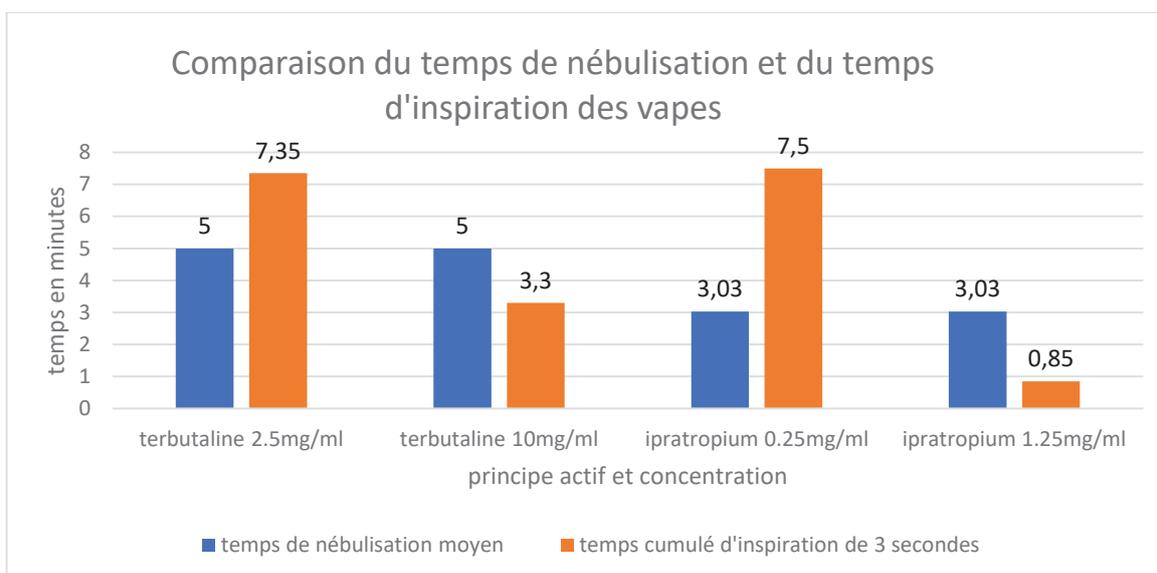


Figure 17. Graphique représentant le temps moyen de nébulisation et le temps cumulé des inspirations nécessaires avec la JUUL en fonction des différentes concentrations de solution de remplissage pour obtenir une équivalence de dose.

La Figure 17 permet de comparer le temps de nébulisation des différents principes actifs et le temps cumulé de puffs libérées par la JUUL qui serait nécessaire pour obtenir une équivalence de dose pour les différents principes actifs et concentrations de solutions de remplissage. Dans ce graphique il est considéré que l'utilisation de la cigarette électronique se fait de manière continue et sans pause, c'est donc le cumul de 3 secondes par puff. Pour le sulfate de terbutaline, le temps cumulé de puffs passe de 7,35 minutes à 3,3 minutes en passant d'une concentration de 2,5 à 10 mg/ml, pour les solutions de remplissage et de 7,5 à 0,85 minutes pour le bromure

d'ipratropium. Les résultats pour le salbutamol hémisulfate ne sont pas présentés dans ce graphique car ces derniers sont très élevés et empêchent donc d'avoir un graphique lisible. Le salbutamol hémisulfate n'est pas représenté car le nombre de puffs nécessaires pour obtenir une équivalence de dose est trop important par rapport aux deux autres principes actifs ce qui engendre un graphique non équilibré.

En ce qui concerne la cigarette électronique ZIP USONICIG[®] cette dernière ne peut pas être utilisée pour libérer du sulfate de terbutaline et elle n'a donc pas été testée pour les autres principes actifs.

Après avoir testé la JUUL[®] avec différents principes actifs et différentes concentrations il peut être dit que :

- Pour le sulfate de terbutaline:
 - Pour être équivalent à une séance de nébulisation aboutissant à la libération d'une dose respirable moyenne de 1040 µg il est nécessaire de réaliser 147 puffs si une concentration en sulfate de terbutaline de 2.5mg/ml est utilisée.
 - Pour être équivalent à une séance de nébulisation aboutissant à la libération d'une dose respirable moyenne de 1040 µg, 66 puffs doivent être libérées avec une concentration en sulfate de terbutaline de 10mg/ml.

En ce qui concerne la dose de sulfate de terbutaline libérée par nébulisation cette dernière a été déterminée lors de travaux précédents et peut être retrouvée dans les résultats de l'article en référence (2).

- Pour le salbutamol hémisulfate :
 - Pour être équivalent à une séance de nébulisation aboutissant à la libération d'une dose respirable moyenne de 632 μg , 623 puffs doivent être réalisées si une concentration en salbutamol hémisulfate de 2mg/ml est utilisée, ce résultat ne change pas avec une augmentation de la concentration.

- Pour le bromure d'ipratropium :
 - Pour être équivalent à une séance de nébulisation aboutissant à la libération d'une dose respirable moyenne de 179 μg , 150 puffs sont à réaliser si une concentration en bromure d'ipratropium de 0,25mg/ml est utilisée.
 - Pour être équivalent à une séance de nébulisation aboutissant à la libération d'une dose respirable moyenne de 179 μg il faut libérer 17puffs si une concentration en bromure d'ipratropium de 1,25mg/ml est prise.

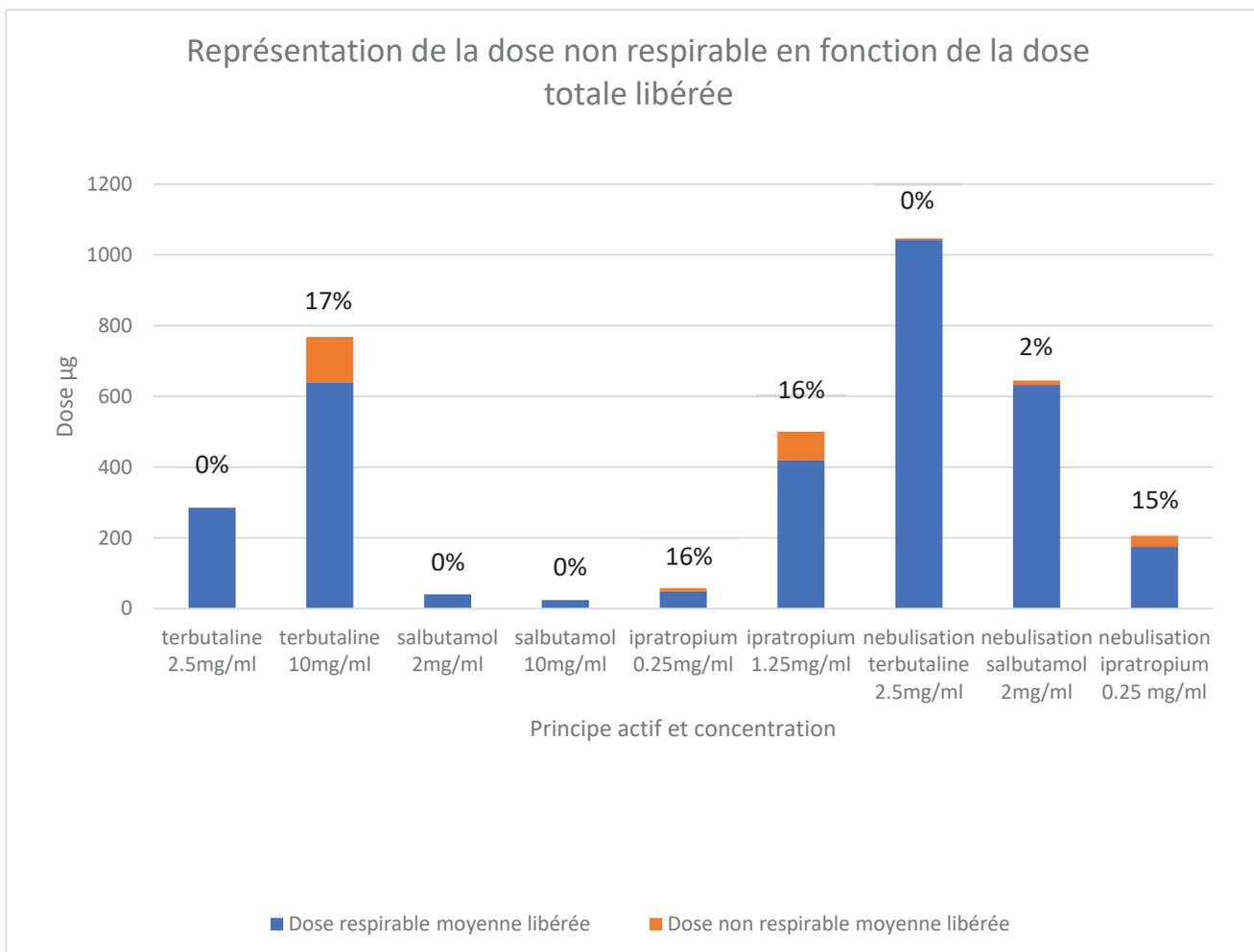


Figure 18. Graphique représentant le rapport entre la dose non respirable et respirable libérées lors d'une nébulisation ou de l'utilisation de la cigarette JUUL avec différents principes actifs et concentrations.

Pour avoir un autre point de vue sur ces résultats, ces derniers peuvent être rapportés au graphique de la Figure 18. Ce graphique permet d'observer le pourcentage de dose non respirable par rapport à la dose totale libérée par la JUUL® ou par le nébuliseur pour les différents principes actifs et à différentes concentrations.

V. Discussion :

1) Equivalence nébulisation et drug vaping. :

a) Discussion et hypothèses de la nébulisation :

Dans cette étude les doses de différents principes actifs libérées par un nébuliseur classique et deux types de cigarettes électroniques ont été étudiées. Cette étude avait pour objectif de comparer ces deux modes d'administration et de savoir si les cigarettes électroniques testées pouvaient potentiellement être un dispositif utilisé pour la libération de principes actifs dans le cadre de maladie bronchopulmonaires.

La nébulisation est comme expliqué précédemment un mécanisme permettant de transformer un liquide en microgouttelettes respirables par l'homme ce qui permet de transporter les principes actifs jusqu'aux voies respiratoires inférieures. Les résultats obtenus dans cette étude et les études précédentes permettent de conclure quant à dose libérée au cours d'un certain temps de nébulisation. Ces doses libérées sont séparées en deux catégories, les doses respirables et les doses non respirables, la dose respirable est la dose de principe actif atteignant les voies respiratoires inférieures et donc ayant un effet thérapeutique.

Comme il peut être observé dans la partie Résultats, la nébulisation d'ampoule de principe actif jusqu'au début du désamorçage permet de libérer en moyenne $632 \pm 103 \mu\text{g}$ de salbutamol hémisulfate pour un temps moyen de début de désamorçage de 2,1 minutes et $175 \pm 37 \mu\text{g}$ de bromure d'ipratropium pour un temps moyen de désamorçage de 3.03 minutes. En ce qui concerne le sulfate de terbutaline la dose avait été déterminée lors de travaux précédents et était de $1040 \pm 33\mu\text{g}$ pour un temps de nébulisation de 5 minutes.

Ces doses ont été libérées de manière continue par le nébuliseur, en effet les nébuliseurs libèrent de manière continue et sans interruption les microgouttelettes

jusqu'à la fin du désamorçage. Or, la respiration du patient correspond à des cycles inspirations/expirations, la dose respirable libérée et dosée au cours de la nébulisation ne correspond donc pas à la dose respirée et atteignant les voies respiratoires du patient.

En routine la détermination de l'aérosol libéré par un nébuliseur est dicté par la norme Afnor EN 13544-1:2001 (37).

Cette détermination se fait de la manière suivante, le système de nébulisation testé est connecté à une pompe sinusoïdale qui simule le flux respiratoire. Un filtre est positionné entre le système de nébulisation et la pompe. Le nébuliseur est rempli d'une solution de concentration connue de fluorure de sodium et fonctionne pendant un temps connu, au cours duquel l'aérosol est recueilli sur le filtre. La quantité de solution de fluorure de sodium sur le filtre est quantifiée par analyse chimique. Ce chiffre divisé par le temps de l'essai donne le taux de sortie de l'aérosol. De plus la pompe doit être réglée de telle sorte à ce que la fréquence de respiration soit de 15/min et que le cycle inspiration/ expiration soit de 1/1 c'est-à-dire que le temps d'inspiration est équivalent à celui de l'expiration.

S'il est considéré que le ratio inspiration/expiration du patient soit de 1/1 comme il est notifié dans la norme EN 13544-1:2001 (37) alors il peut être dit que la moitié de l'aérosol libérée par le nébuliseur est inspirée par le patient et donc seulement la moitié de la dose respirable libérée. L'hypothèse H1 peut être faite que seule la moitié de la dose respirable délivrée atteint les voies respiratoires du patient et a donc un effet sur ces dernières.

b) Discussion et hypothèses : Sulfate de Terbutaline :

En ce qui concerne le sulfate de terbutaline les deux cigarettes électroniques ont été testées, pour la JUUL[®] des concentrations de 2,5 et 10 mg/ml, pour la cigarette ZIP USONICIG[®] les concentrations de 1 et 2,5 mg/ml ont été testées.

En ce qui concerne la ZIP USONICIG[®] une concentration de 2,5 mg/ml a tout d'abord été testée car il s'agit de la concentration la plus utilisée en clinique. Avec cette dernière des doses libérées nulles étaient obtenues qu'elles soient respirables ou non, ces résultats étant peut-être dû à une saturation du système il a donc été décidé de tester cette cigarette électronique avec une concentration plus faible pour savoir si cela était dû à un encombrement de la cigarette électronique. Cette saturation ne pouvant pas provenir de la colonne HPLC, en effet une régénération de cette dernière a été faite pour écarter cette hypothèse, de plus les essais réalisés avec la JUUL[®] dans les mêmes conditions et la même journée étaient positifs.

Pour la JUUL[®], une augmentation de la concentration de la solution de remplissage de la cigarette électroniques mène à une augmentation de la dose libérée. En effet, la dose respirable libérée par puff passe de $7,13 \pm 1,82 \mu\text{g/puff}$ à $16,00 \pm 0,67 \mu\text{g/puff}$, bien que cette augmentation ne soit pas proportionnelle.

Il faudrait donc procéder à 147 puffs avec une concentrations de 2,5 mg/ml ou 66 puffs avec une concentration de 10mg/ml pour atteindre la dose respirable libérée par le nébuliseur ou la moitié de ces dernières si l'hypothèse H1 faite précédemment est considérée.

En ce qui concerne la cigarette ZIP USONICIG[®], les essais ont été commencés avec cette dernière pour le dosage du sulfate de terbutaline, lors de ces essais des concentrations de 1mg/ml et 2.5mg/ml ont été testées. Lors de ces derniers une libération proche de zéro était observée que ce soit dans la chambre haute ou la chambre basse du GTI. Trois hypothèses sur ces résultats peuvent être émises :

- Un autre point à mettre en valeur est la potentielle dégradation du sulfate de terbutaline par les ultrasons bien que ceci semble peu probable car le sulfate de terbutaline en ampoule est couramment utilisé avec des nébuliseurs à ultrasons,

de plus il n'y a aucune contre-indication à l'utilisation de nébuliseurs ultrasoniques sur les notices des ampoules de sulfate de terbutaline (38) (39).

- La colonne HPLC était saturée et rien n'était détectée, cette hypothèse semble aussi peu probable car des tests étaient faits avec la cigarette JUUL[®] et ce après le passage des échantillons de la cigarette ZIP USONICIG[®] en ayant de bons résultats pour la JUUL[®].
- Le e-liquide utilisé pour créer les solutions de remplissage ne convenait pas à la cigarette ZIP USONICIG[®], en effet, selon le fabricant il est nécessaire d'utiliser cette cigarette avec un mélange de 50% de VG et 50% de PG. Or, le PG provoque des irritations des voies respiratoires, ce qui est en contradiction avec l'objectif final qui est de pouvoir utiliser ces cigarettes électroniques dans le cas de maladies bronchopulmonaires chroniques. De plus, si le solvant ne convient pas à l'utilisation de la cigarette électronique alors la libération des molécules ou d'actifs présents dans la solution ne peuvent pas être libérés par la cigarette électronique. Il serait intéressant de tester de nouveau la ZIP USONICIG[®] avec un liquide de remplissage composé de PG/VG vérifier cette hypothèse.

Pour la suite des expériences seule la cigarette JUUL[®] a été utilisée, la ZIP ne présentant pas de résultats concluants.

c) Discussion et hypothèses : Salbutamol Hémissulfate:

Pour le salbutamol hémissulfate les résultats ne varient pas avec l'augmentation de la concentration de la solution de remplissage comme il est visible sur la Figure 16, de plus, la dose émise respirable est très faible. En effet, pour atteindre la dose libérée lors d'une séance de nébulisation il serait nécessaire de

procéder à 632 puffs avec une concentration de solution de remplissage de 2 mg/ml, s'il est considéré que toute la dose respirable délivrée est égale à la dose absorbée par le patient. Cette valeur descend à 316 puffs si la dose libérée lors d'une nébulisation avec l'hypothèse H1.

Certaines hypothèses peuvent être faites sur les résultats obtenus, le salbutamol hémisulfate peut être dégradé par la chaleur ou la JUUL[®] n'est peut-être pas adaptée à la libération du salbutamol hémisulfate. Le salbutamol hémisulfate semble se dégrader à partir de 200°C comme indiqué dans l'article (40). Or, la JUUL[®] a une température de chauffe allant jusqu'à 215°C (41), le salbutamol hémisulfate peut donc être dégradé par la JUUL. Il est donc nécessaire de réfléchir aux pistes d'améliorations pour la libération du salbutamol hémisulfate. L'augmentation de la concentration ne semble pas permettre d'augmenter la dose libérée cependant il est envisageable de changer de cigarette électronique pour voir si cela a un impact sur la libération du principe actif et vérifier la dégradation thermique du produit. Il faudrait de plus comparer des chromatogrammes réalisés directement après la formulation de la solution de remplissage (sans utilisation de la cigarette électronique) puis après chauffe de cette solution.

d) Discussion et hypothèses : Bromure d'Ipratropium :

Deux concentrations de bromure d'ipratropium avec la cigarette JUUL[®] ont été testées, comme pour les principes actifs précédents une concentration de 0,25mg/ml a tout d'abord été testée car celle-ci est équivalente à la concentration des ampoules délivrées aux patients et utilisées pour les tests de nébulisation. Par la suite la concentration a été augmentée à 1.25 mg/ml pour essayer d'augmenter la dose libérée par la cigarette électronique. Pour une concentration de 0.25 mg/ml une dose respirable libérée de $1,2 \pm 0,04$ µg/puff a été obtenue, pour atteindre la dose respirable libérée au cours d'une séance de nébulisation il faudrait que le patient

inspire 150 puffs, s'il est considéré comme expliqué précédemment que le patient n'inspire réellement que la moitié de la dose respirable libérée par le nébuliseur il lui suffirait de réaliser 75 puffs.

Lorsque la concentration des solutions de remplissage est augmentée par 5 en passant d'une concentration de 0,25 à 1,25 mg/ml une multiplication de la dose respirable libérée par approximativement 10 est observée, cela semble être un peu élevé cependant cette multiplication par 10 est aussi présente pour la dose non respirable comme observé sur la Figure 18. De plus, l'écart type de ces résultats sont assez faible permettant de conclure sur la dispersion des résultats. Avec une concentration de 1.25 mg/ml, 17 puffs sont suffisantes pour égaliser la dose respirable émise par le nébuliseur et même 9 puffs si l'hypothèse H1 est prise en compte.

e) Temps de vapotage et dose non respirable :

Ces résultats peuvent aussi être traduits en temps passé par le patient pour atteindre ces doses, en sachant qu'une puff dure 3 secondes il faudra au patient quelques minutes en temps cumulés, c'est-à-dire sans compter les expirations et les pauses de vapotage comme indiqué dans la norme AFNOR de vapotage. Pour le sulfate de terbutaline, des temps de 7.35 et 3.3 minutes pour des concentrations respectives de 2.5 et 10 mg/ml sont atteints pour être équivalent au 5 minutes de nébulisation avec une ampoule de sulfate de terbutaline de 2.5 mg/ml comme observé sur la Figure 17. Pour le bromure d'ipratropium il faudrait un temps de 7.5 minutes et 0.85 minutes pour des concentrations de 0.25 et 1.25mg/ml pour 3.03 minutes de nébulisation jusqu'au début du désamorçage, il est donc possible d'obtenir un temps théoriquement plus court que la nébulisation.

Si à présent le temps de pause de 30 secondes entre chaque puff est pris en compte les temps suivants sont obtenus, en sachant que l'inspiration dure 3 secondes,

l'approximation qu'une puff dure 33 secondes peut être faite sauf pour la première et la dernière étant de 3 secondes :

Principe actif et concentration	Temps de nébulisation moyen (minutes)	Équivalence temps de vaping/ nombre de puffs (1 puff=33 secondes)(minutes)
Sulfate de terbutaline 2.5mg/ml	5	79,85
Sulfate de terbutaline 10mg/ml	5	35,3
Bromure d'ipratropium 0.25mg/ml	3,03	81.5
Bromure d'ipratropium 1.25mg/ml	3,03	8,35
Salbutamol hémisulfate 2mg/ml	2,1	347,6
Salbutamol hémisulfate 10mg/ml	2,1	580

Tableau 20. Temps de vapotage nécessaire pour atteindre l'équivalence de dose de nébulisation.

Pour le salbutamol hémisulfate la dose libérée étant très faible il faudrait presque 6 heures aux patients pour atteindre les 2,1 minutes de nébulisation.

Cependant les résultats exprimés dans le tableau précédent peuvent être divisés par deux si l'hypothèse H1 est considérée, c'est-à-dire que le temps d'inspiration est équivalent à celui de l'expiration au cours de la nébulisation.

De plus, en moyenne le ratio de la dose libérée non respirable par la dose libérée respirable est comparable entre la cigarette électronique et la nébulisation pour une même concentration comme observée sur la Figure 18 pour le bromure d'ipratropium et le salbutamol hémisulfate. Donc, la probabilité qu'une particule émise par la JUUL soit respirable ou pas est la même que pour la nébulisation. En effet, si le rapport de la dose respirable sur la dose non respirable est fait, les pourcentages suivants sont obtenus :

- 16% de la dose de bromure d'ipratropium libérée par la JUUL avec une concentration de 1.25mg/ml et 15% pour la nébulisation, ces résultats sont donc comparables. Lors de la libération du principe actif les doses perdues c'est-à-dire les doses non respirables sont comparables.
- En ce qui concerne le salbutamol hémisulfate , bien que la dose libérée soit plus faible que celle libérée par nébulisation cette dernière est totalement respirable en effet, le pourcentage de la dose non respirable de salbutamol hémisulfate libérée par la JUUL[®] est de 0% ce qui reste tout de même très proche de celle de la nébulisation qui est de 2%. Le pourcentage de dose non respirable par rapport à la dose totale libérée est donc comparable entre la cigarette électronique JUUL[®] et la nébulisation.

Cependant, en ce qui concerne le sulfate de terbutaline, ce ratio est plus important lors de l'utilisation de la JUUL[®] que du nébuliseur, une perte de produit est donc plus important lors de l'utilisation de la JUUL[®].

f) Discussion dosage parallèle du Salbutamol hémisulfate et du Bromure d'Ipratropium :

Un des autres objectifs posés lors du début de cette étude était de doser le salbutamol hémisulfate et le bromure d'ipratropium dans un même échantillon car cette combinaison est parfois prescrite en clinique. Cependant lors des essais, le dosage commun du salbutamol hémisulfate et du bromure d'ipratropium a été testé sur trois méthodes HPLC, aucune ne permettait de doser les deux actifs à la fois. la méthode 3 ne permettait pas de doser le bromure d'ipratropium et la méthode 1 ne permettait pas de doser le salbutamol hémisulfate car son pic se confondait avec le pic de solvant.

De plus il est notifié dans certains articles que le salbutamol hémisulfate accélère la dégradation du bromure d'ipratropium (42), la formulation des deux principes actifs dans une même solution semble donc délicate à réaliser et à doser.

Cependant, il a été essayé de doser les deux actifs ensemble grâce aux méthodes déterminées mais les chromatogrammes obtenus étaient peu concluants et non exploitables comme imaginé. L'un des points à approfondir serait de trouver une méthode permettant de doser les deux principes actifs sans concomitance de pics ainsi que de réaliser des échantillons à doser sur plusieurs temps après l'émission par la cigarette électronique et même directement après la formulation. Ceci permettrait de suivre la dégradation des principes actifs et de savoir si l'un engendre la dégradation de l'autre, en dosant en parallèle sur plusieurs temps les échantillons avec chacun des principes actifs seul. Comme par exemple doser une solution S1 mélangeant salbutamol hémisulfate et bromure d'ipratropium et après libération par la cigarette électronique et récolte des échantillons dans le GTI à $t=0h$, $t=4h$, $t=24h$ et $t=48h$ ainsi que doser des échantillons de salbutamol hémisulfate et bromure d'ipratropium séparés sur ces mêmes deltas de temps.

2) Changement des temps de rétention :

Lors des essais des méthodes HPLC permettant de quantifier les principes actifs ont été identifiées, pour chaque principe actif le temps de rétention qui est le temps nécessaire au principe actif transporté par le solvant pour atteindre le détecteur UV est différent, ce temps de rétention dépend :

- des éluants et de leurs polarité ainsi que de la polarité des molécules à doser ;
- de la longueur d'onde à laquelle la détection se fait ;
- du type de colonne ;
- de l'état de la colonne ;
- de la température à laquelle les acquisitions sont faites.

Si un seul de ces paramètres est modifié alors le temps de rétention l'est aussi. Lors de cette étude le temps de rétention était variable en fonction des jours d'acquisition. Pour le salbutamol hémissulfate les temps de rétentions étaient variables de quelques minutes en passant de 7,9 minutes lors des tests de méthode 3 et 5 minutes par la suite, ce qui n'apparaissaient pas au cours des tests de méthode, cependant les chromatogrammes avaient le même aspect.

Pour le sulfate de terbutaline le temps de rétention n'était pas le même entre les essais pour une concentration de 2,5 mg/ml et 10 mg/ml. En effet, les pics étaient détectés entre 7,6 et 8 minutes pour une concentration de 2,5 mg/ml et entre 5,2 et 6,2 minutes pour 10mg/ml. En ce qui concerne le bromure d'ipratropium une légère modification de quelques secondes du temps de rétention était observée en fonction du jour de dosage mais elle n'était pas significative.

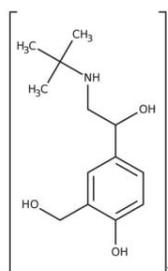
Suite à ces temps de rétentions qui étaient variables pour le salbutamol hémissulfate et le sulfate de terbutaline, il est possible de se demander si ce qui était dosé était réellement ou pas la molécule recherchée. Il est aussi nécessaire de se

demander si cela ne provenait pas d'une dégradation du produit après sa chauffe par la cigarette électronique. Dans ce cas-ci, ces modifications de temps de rétentions ne seraient observées uniquement après les tests avec la cigarette électronique. Or, elles étaient aussi observées avec les solutions en ampoule et le mélange eau distillée/poudre de principe actifs pour lesquels la composition était sûre. De plus, le même phénomène était observé pour des tests fait sur des jours différents.

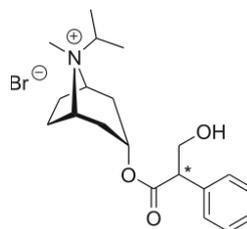
Comme précédemment dit d'autres paramètres sont à prendre en compte :

- La longueur d'onde de détection utilisée était constante, en effet cette dernière était préétablie dans la méthode créée dans le logiciel LABsolution, qui permet de créer et gérer des acquisitions tout en sélectionnant la méthode informatiquement. Le changement des temps de rétention ne provient donc pas de ce paramètre.
- La température du four de l'HPLC et donc la température d'acquisition est un paramètre faisant varier le temps de rétention. En effet, plus la température est élevée plus l'élution est rapide car la viscosité des éluants diminue (43) (44). Or comme pour la longueur d'onde la température était établie dans la méthode enregistrée dans LABsolution, l'HPLC ne pouvant pas démarrer tant que la température souhaitée n'est pas atteinte. La modification des temps de rétention ne provient donc pas de ce paramètre.
- Le pH des éluants a aussi un impact sur le temps de rétention des molécules à quantifier. Le changement de pH a un grand impact sur les molécules polaires car une modification de ce dernier change la charge des molécules et donc leur élution, pour les molécules neutre le changement de pH n'a pas réellement

d'impact lors de l'élution. Les molécules de salbutamol hémisulfate et de bromure d'ipratropium ont les formules semi-développées suivantes :



Salbutamol
hémisulfate



Bromure
d'ipratropium

Ces dernières sont des molécules présentant des sites de polarités. Or, il a fallu réaliser lors de ce travail des solutions tampons pour le dosage de ces deux molécules dont les protocoles de formulation sont détaillés dans la partie Résultats. Ces solutions tampons étaient réalisées chaque jour avant la réalisation des essais, cependant l'écart de pH validé dans les méthodes était toujours respecté. Il semble donc peu probable que les écarts de temps de rétention proviennent de ces changements bien que l'hypothèse ne soit pas totalement à écarter.

- Le dernier critère entrant en jeu dans la modification du temps de rétention est l'état de la colonne, or dans lors des essais la colonne HPLC était souvent régénérée ce qui peut être considéré comme l'utilisation d'une colonne légèrement différente après chaque régénération. Ces changements de temps de rétention peuvent donc venir de ceci ou d'une dégradation progressive de la colonne. De plus, les temps de rétention changeaient à chaque fois qu'une régénération de colonne était faite.

Il peut être noté que la même colonne HPLC était utilisée pour le dosage du salbutamol hémisulfate et du bromure d'ipratropium dans une même journée, pour éviter tout mélange d'éluants dans la colonne et donc la présence d'éluants non désirés pour le dosage d'une molécule ou l'autre, un conditionnement de la colonne était réalisé lors du changement de molécule à doser c'est-à-dire que les éluants qui allaient être utilisés pour la méthode à suivre traversaient la colonne pendant 20 min pour la purger des anciens.

En ce qui concerne le sulfate de terbutaline le changement de temps de rétention est apparu lorsque la colonne HPLC a été changée au cours des travaux après la dégradation de la première. Le changement de temps de rétention pour cette molécules est donc expliqué par ce changement de matériel.

3) Discussion : conclusion

Il peut donc être conclu que la cigarette électronique JUUL[®] permet de libérer des doses théoriquement respirables de sulfate de terbutaline et de bromure d'ipratropium en quantité différentes, contrairement à la ZIP USONICIG[®]. Cependant, le salbutamol hémisulfate ne semble pas pouvoir être libéré par la JUUL. En effet, bien que la dose de salbutamol hémisulfate libérée par la JUUL[®] ne soit pas nulle il semble que cette dernière ne soit pas adaptée à sa libération certaines améliorations sont à faire. Pour le sulfate de terbutaline ainsi que le bromure d'ipratropium le nombre de puffs nécessaires obtenues pour atteindre la dose libérée par un nébuliseur est plus que convenables et réalisables par un patient. De plus, s'il est pris en compte que les cycles respiratoires inspiration/expiration ont un ratio 1/1 alors le nombre de puffs nécessaires pour atteindre l'équivalence de dose est encore plus basse. De plus, la dose libérée par la JUUL[®] semble dépendre de la concentration des solutions de remplissage.

De plus pour le salbutamol hémisulfate il serait intéressant de changer de concentration ou même de réaliser des essais avec d'autres types de cigarettes électroniques pour vérifier si sa libération est dispositif dépendante comme il a été observé avec le sulfate de terbutaline et la ZIP USONICIG[®]. En effet, avec les mêmes concentrations de solutions de remplissage des cigarettes électroniques, la dose libérée respirable et non respirable n'est pas comparable entre les deux dispositifs.

Il était aussi observable, pour le salbutamol hémisulfate des changements de temps de rétention sont observé ce qui peut être dû à une dégradation de la colonne HPLC ou tout simplement à l'utilisation d'une mauvaise méthode pour cette molécule. Le changement de temps de rétention du sulfate de terbutaline est apparu lors du changement de colonne HPLC bien que les deux étaient du même model, ce qui semble normal.

Malgré ces résultats positifs, une partie de la méthode n'a pas été validée selon la guidelines ICH Q2(R1) (29).

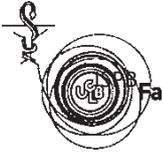
En effet, une des étapes était de tester l'exactitude consistant en la répétition de 6 injections de dosage HPLC, ce qui n'a pas été réalisé, les autres étapes de validations ont été réalisées et validées comme par exemple tester l'effet matrice du PDO, la linéarité entre la concentration des actifs et l'aire sous la courbe des pics en utilisant les méthodes ainsi que la répétabilité. Il serait donc intéressant de finir la validation des méthodes.

En conclusion, il est théoriquement possible d'utiliser la cigarette électronique JUUL[®] par les patients pour certain traitements bronchopulmonaires par nébulisation. De plus, cette cigarette électronique est petite, légère et simple d'utilisation, elle est activée directement par l'aspiration du patient. La force d'aspiration nécessaire pour activer cette cigarette électronique est beaucoup moins importante que celle

nécessaire pour l'utilisation des inhalateurs classiques, elle pourrait donc théoriquement aussi être utilisée comme nouvel inhalateur si les doses libérables et respirables devenaient à être plus importantes .

La cigarette JUUL[®] se présente avec des cartouches à usage unique jetables, ceci permettrait de délivrer au patient son dispositif médical avec les cartouches préremplies et ainsi éviter un potentiel mésusage du dispositif comme cela peut être le cas avec le nébuliseur et les ampoules. De par sa taille la cigarette électronique est facilement transportable et n'empêche pas les mouvements du patient comme cela peut être le cas avec le nébuliseur, les patients peuvent donc s'en servir de partout et de manière discrète ce qui peut les encourager à prendre leurs traitements.

VI. Conclusion générale :



Université de Pharmacie de Lyon

CONCLUSIONS GENERALES

THESE SOUTENUE PAR Mme CHAABANE Maïssa

Comme dit précédemment, les maladies respiratoires chroniques sont la 3^{ème} cause de décès en France. Parmi ces dernières nous pouvons compter l'asthme et les bronchopneumopathies chroniques obstructives, leurs traitements peuvent nécessiter l'utilisation d'inhalateurs ou de nébuliseur. Malgré leurs évolutions technologiques, ces derniers sont peu confortables et difficiles à utiliser pour le patient. Le but de cette étude a donc été de tester le nouveau principe de « Drug Vaping » c'est-à-dire l'utilisation de cigarette électronique pour libérer des traitements par voie aérienne.

Lors de cette étude deux cigarettes électroniques ont été testées qui sont la JUUL[®] et la ZIP USONICIG[®], elles ont été comparées au nébuliseur pneumatique Cirrus TM 2[®]. Le but a été de comparer les doses respirables libérées de trois principes actifs bronchodilatateurs (sulfate de terbutaline, salbutamol hémisulfate, bromure d'ipratropium) ces trois dispositifs.

Les résultats obtenus sont encourageants pour la cigarette JUUL[®] notamment pour la libération du sulfate de terbutaline et du bromure d'ipratropium. En effet, pour atteindre la dose respirable libérée de ces deux actifs par nébulisation il suffirait de procéder à 66 puffs de solution de remplissage à 10mg/ml de sulfate de terbutaline pour atteindre les 1040 µg libérée lors d'une nébulisation de 5 minutes, pour le bromure d'ipratropium il serait nécessaire de réaliser 17 puffs avec une

concentration de solution de remplissage de 1.25 mg/ml pour atteindre les 179 µg libérés par une nébulisation de 3 minutes. En ce qui concerne le salbutamol hémisulfate, la JUUL[®] ne semble pas être appropriée à la libération de ce principe actif, une des hypothèses est que le salbutamol hémisulfate serait dégradé par la chauffe de la résistance de la cigarette électronique.

La ZIP USONICIG[®] a été testée pour le sulfate de terbutaline uniquement, l'utilisation de ce dispositif ne semblait pas adaptée à la libération de cet actif, elle n'a pas été testée pour les deux autres molécules.

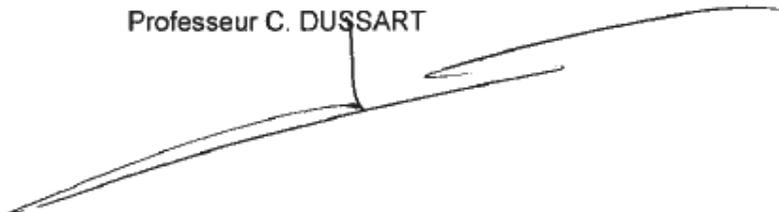
En conclusion, il est donc de nouveau imaginable la manière de traiter les patients atteints de maladies pulmonaires, ce dispositif innovant leur permettrait de faciliter leur quotidien et améliorer leur qualité de vie ainsi que leur observance, quand on sait que les traitements par nébulisation peuvent limiter leurs mouvements et conditions de vie. Des essais cliniques sont donc à faire pour savoir si ce dispositif est viable.

Le Président de la thèse,
Nom : Cyril Pailler-Mattei
Signature :



Vu et permis d'imprimer, 13/12/2022
Lyon, le
Vu, le Directeur de l'Institut des Sciences Pharmaceutiques et
Biologiques, Faculté de Pharmacie
Pour le Président de l'Université Claude Bernard Lyon 1,

Professeur C. DUSSART



Bibliographie

- (1) Etats généraux de la santé respiratoire. Restitution de la consultation citoyenne, respirer : un droit fondamental ! [En ligne]. 2021 [cité le 25 sept 2022]. Disponible : <https://splf.fr/wp-content/uploads/2021/12/Restitution-de-la-plateforme-citoyenne-EGSR-V2811-1.pdf>
- (2) Chaoui M, Chevrel S, Perinel-Ragey S, Prévôt N, Pourchez J. Assessment of High-Power Electronic Nicotine Delivery System as an Alternative Aerosol Device for Terbutaline Delivery. *Pharm Res.* 2022 ;39(3):587-597.
- (3) Pourchez J, de Oliveira F, Perinel-Ragey S, Basset T, Vergnon JM, Prévôt N. Assessment of new-generation high-power electronic nicotine delivery system as thermal aerosol generation device for inhaled bronchodilators. *Int J Pharm.* 2017 ;518(1-2):264-269.
- (4) CHU de Lyon. Exploration fonctionnelle respiratoire (EFR) / Spirométrie [en ligne]. 2022 [cité le 25 sept 2022]. Disponible : <https://www.chu-lyon.fr/exploration-fonctionnelle-respiratoire-efr-spirometrie>
- (5) Dr Aubourg F, Service de Physiologie-Explorations Fonctionnelles Hôpital Cochin. Explorations fonctionnelles respiratoires de l'adulte. [En ligne]. [cité le 25 sept 2022]. Disponible : Présentation PowerPoint (smtioif.asso.fr)
- (6) Letrillart L. Cours universitaire ISPB : Les Grands Syndromes Respiratoires. 2019
- (7) Santé publique France. BPCO et insuffisance respiratoire chronique. [En ligne]. 2020 [cité le 25 sept 2022]. Disponible :

<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-et-infections-respiratoires/bpco-et-insuffisance-respiratoire-chronique>

(8) Inserm [En ligne]. Bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) · Inserm, La science pour la santé ; 2020 [cité le 25 sept 2022]. Disponible : <https://www.inserm.fr/dossier/bronchopneumopathie-chronique-obstructive-bpco/>.

(9) Pr. TOD M. Cours universitaire ISPB : Pharmacologie pulmonaire : Les antiasthmatiques. 2019

(10) Pr. TOD M. Cours universitaire ISPB : Le traitement de la bronchopneumopathie chronique obstructive. 2019.

(11) Battistini P, D'Orléans-Juste P. Les endothélines et le poumon. Médecine/sciences, 1992 ; 8 : 679-687.

(12) Belacel Ouari M. Contrôle de la voie de l'AMPC vasculaire par les phosphodiesterases en situation physiopathologique [Thèse de Doctorat]. Paris, France : Université Paris Saclay ; 2017.

(13) Collège Nationale de Pharmacologie Médicale. Béta-2-stimulants à courte et longue durée d'action. [En ligne].2022 [cité le 25 sept 2022]. Disponible : <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/beta-2-stimulants-a-courte-et-longue-duree-d-action>.

(14) SNITEM. Innovation en respiration. Paris : Presse Infos Plus, 2022. 64p.

(15) Le Guellec S. Recommandations sur les pratiques de l'aérosolthérapie en pneumologie, Travail soutenu et validé par le Groupe Aérosolthérapie de la Société de Pneumologie de Langue Française (SPLF), Extrait du Rapport d'étude de la Société

Européenne respiratoire (ERS) et de la Société Internationale sur les Aérosols en Médecine (ISAM), DTF medical; 2012.72. Guidelines corrections décembre (splf.fr)

(16) Williamson IJ, Matusiewicz SP, Brown PH. Frequency of voice problems and cough in patients using pressurized aerosol inhaled steroid preparations. *Eur Respir J* 1995; 8: 590–592.

(17) Bien choisir sa e-cigarette et comprendre son fonctionnement [En ligne]. 2018 [09 oct 2022]. Disponible : <https://www.liquideo.com/fr/blog/bien-choisir-sa-cigarette-electronique-et-comprendre-son-fonctionnement--n15>

(18) Gouvernement du Canada. Patent 2518174 Summary-CIGARETTE SANS FUMEE A PULVERISATION ELECTRONIQUE [En ligne]. 2006 [09 oct 2022]. Disponible : Patent 2518174 Summary - Canadian Patents Database (ic.gc.ca).

(19) C. Bamberger, V. Deiss, S. Gros. Comment fonctionnent les produits du vapotage. *Revue de Pneumologie Clinique*. 2018 ;74(3) : 181-187.

(20) Le journal du vapoteur. L'ÉVOLUTION DE LA CIGARETTE ÉLECTRONIQUE [En ligne]. 2021 [09 oct 2022]. Disponible: <https://www.journalduvapoteur.com/2021/06/l-evolution-de-la-cigarette-electronique.html>

(21) Major smoker. Pod Mod comparatif 2022 – Les nouvelles cigarettes électroniques : RELX, Juul, Vaze, MyBlu. [En ligne]. [cité le 25 sept 2022]. Disponible : <https://majorsmoker.com/pod-mod-comparatif-2019-les-nouvelles-cigarettes-electroniques-juul-vaze-myblu/>

(22) Smock-it. KIT POD ZIP 2ML 1200MAH [En ligne]. [cité le 09 oct 2022]. Disponible: https://www4.ac-nancy-metz.fr/physique/liens/Jumber/pdf_chimie/HPLC.pdf

- (23) Faculté de Nancy. CHAPITRE II: CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE [en ligne]. 2022 [cité le 25 sept 2022]. Disponible : https://www4.ac-nancy-metz.fr/physique/liens/Jumber/pdf_chimie/HPLC.pdf
- (24) Bensakhria A, Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) [en ligne]. 2016 [cité le 9 oct 2022]. Disponible : <https://www.analyticaltoxicology.com/chromatographie-liquide-haute-performance-hplc/>
- (25) JUUL. Les JUULpods contiennent notre formule e-liquide brevetée, spécialement conçue pour les fumeurs adultes. [en ligne]. [cité le 9 oct 2022]. Disponible : <https://www.juul.fr/shop/pods>
- (26) A La Vape Végétale. ZIP DE USONICIG. [En ligne]. 2022 [25 sept 2022]. KIT ZIP DE USONICIG - À la Vape Végétale (alavapevegetale.com)
- (27) Bertrand P, Bonnarne V, Piccirilli A, Ayrault P, Lemée L, Frapper G, et al. Physical and chemical assessment of 1,3 Propanediol as a potential substitute of propylene glycol in refill liquid for electronic cigarettes. Sci Rep. 2018;8:10702
- (28) OMRON. Types de nébuliseurs : Les nébuliseurs à compresseur, les nébuliseurs à maillage et les nébuliseurs à ultrason. [En ligne]. [25 sept 2022]. Disponible : Types de nébuliseurs : Les nébuliseurs à compresseur, les nébuliseurs à maillage et les nébuliseurs à ultrason (omron-healthcare.fr)
- (29) ICH Expert Working Group. VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY Q2(R1). 4eme edition, Etats-Unis : Somatek Inc; 2014. 18p
- (30) Burghart Messtechnik. PDSP Programmable Dual Syringe Pump. [En ligne]. [25 sept 2022]. Disponible : https://www.burghart-mt.de/datei/en/pdsp-data%20sheet_en_47.pdf.

- (31) Association française de normalisation. Norme internationale XP D90-300-3.:aout 2016. La Plaine Saint-Denis, France : AFNOR, impr. 2016; 42 p.
- (32) COPLEY.Driving Results in Inhalor Testing. [En ligne]. 2021 [25 sept 2022]. <https://fr.calameo.com/copleyscientific/read/006693220fa76cad62867?page=10>
- (33) Sheena R, Vilas J, Sunil J, Pradeepkumar M, Simultaneous detection and quantification of bronchodilators in pure form and from in-vitro drug release of a novel combinational formulation. J App Pharm Sci. 2020; 10(8): 131-138
- (34) Kamin W, Schwabe A, Krämer I. Physicochemical compatibility of fluticasone-17- propionate nebulizer suspension with bromure d'ipratropium and albuterol nebulizer solutions. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2007;2(4):599-607.
- (35) Zhang R, Hu J, Deng L, Li S, Chen X, Liu F, Wang S, Mohammed Abdul KS, Beng H, Tan W. Aerosol Characteristics and Physico-Chemical Compatibility of Combivent® (Containing Salbutamol hémisulfate and Bromure d'ipratropium Bromide) Mixed with Three Other Inhalants: Budesonide, Beclomethasone or N-Acetylcysteine. Pharmaceutics. 2020 ;12(1):78.
- (36) Choudhary A. Preparation of buffer solutions. [En ligne]. 2010 [cité le 9 oct 2022]. Disponible : <https://www.pharmaguideline.com/2010/09/preparation-of-buffer-solutions.html>
- (37) Association française de normalisation. Norme internationale EN 13544-1:2001.: octobre 2009. La Plaine Saint-Denis, France : AFNOR, impr. 2009; 42 p.
- (38) Ministère des solidarités et de la santé. BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MÉDICAMENTS, TERBUTALINE ARROW 5 mg/2 ml, solution pour inhalation par nébuliseur en récipient unidose - Notice patient. [En ligne]. 2022 [25 sept 2022]. <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?typedoc=N&specid=65683309>.

- (39) Ministère des solidarités et de la santé. BASE DE DONNÉES PUBLIQUE DES MÉDICAMENTS, TERBUTALINE SANDOZ 5 mg/2 ml, solution pour inhalation par nébuliseur en récipient unidose - Résumé des caractéristiques du produit [En ligne]. 2022 [25 sept 2022]<https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=60277824&typedoc=R>
- (40) Sonvico F, Coleman V, Traini D, Young P. Evolved gas analysis during thermal degradation of salbutamol hémisulfate sulphate. *J Therm Anal Calorim* (2015); 120, 789–794.
- (41) Talih S, Salman R, El-Hage R, Karam E, Karaoghlanian N, El-Hellani A, Saliba N, Shihadeh A. Characteristics and toxicant emissions of JUUL electronic cigarettes. *Tob Control*. (2019) Nov;28(6):678-680.
- (42) Blewett AJ, Varma D, Gilles T, Butcher R, Jacob J, Amazan J, Jansen SA. Development and validation of a stability-indicating high-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of albuterol, budesonide, and bromure d'ipratropium bromide in compounded nebulizer solutions. *J AOAC Int*. 2011 Jan-Feb;94(1):110-7.
- (43) Clark J. Using High Temperature HPLC for Improved Analysis. *Pharmaceutical Technology Europe*. 2004; Volume 16, Issue 5
- (44) Chrom Tech. How Does Column Temperature Affect HPLC Resolution? [En ligne]. 2021 [25 sept 2022]. How Does Column Temperature Affect HPLC Resolution? (chromtech.com)

ANNEXES

ANNEXE 1 :

Solution de sulfate de terbutaline de 1mg/ml :

- Préparer une solution mère S0 de sulfate de terbutaline à une concentration de 40mg/ml :
 - Peser dans un bécher 100mg de poudre de sulfate de terbutaline
 - Ajouter 2.5 ml d'eau physiologique et agiter jusqu'à dissolution.
- Préparation de la solution S1 à 1 mg/ml de sulfate de terbutaline dans du PDO :
 - Dans un récipient adapté mettre 8.75 ml de PDO
 - Ajouter 0.25 mL de S0
 - Ajouter 1.0 mL d'eau physiologique.
 - Agiter le mélange jusqu'à homogénéisation.

Solution de sulfate de terbutaline de 10mg/ml :

- Préparer une solution mère S0 de sulfate de terbutaline à une concentration de 80mg/ml :
 - Peser dans un bécher 200mg de poudre de sulfate de terbutaline
 - Ajouter 2.5 ml d'eau physiologique et agiter jusqu'à dissolution.
- Préparation de la solution S1 à 10 mg/ml de sulfate de terbutaline dans du PDO :
 - Dans un récipient adapté mettre 8.75 ml de PDO
 - Ajouter 1.25 mL de S0
 - Agiter le mélange jusqu'à homogénéisation.

Solution de sulfate de terbutaline de 2.5mg/ml :

- Préparer une solution mère S0 de sulfate de terbutaline à une concentration de 40mg/ml :
 - Peser dans un bécher 100mg de poudre de sulfate de terbutaline
 - Ajouter 2.5 ml d'eau physiologique et agiter jusqu'à dissolution.
- Préparation de la solution S1 à 2.5 mg/ml de sulfate de terbutaline dans du PDO :
 - Dans un récipient adapté mettre 8.75 ml de PDO
 - Ajouter 0.625 mL de S0
 - Ajouter 0.625 mL d'eau physiologique.

PROTOCOLE SOLUTION BROMURE D'IPRATROPIUM

Solution bromure d'ipratropium 0.25mg/ml :

- Préparer une solution mère S0 d'bromure d'ipratropium à une concentration de 5mg/ml :
 - Peser dans un bécher 10mg de poudre d'bromure d'ipratropium
 - Ajouter 2 ml d'eau physiologique et agiter jusqu'à dissolution.
- Préparation de la solution S1 à 0.25 mg/ml d'bromure d'ipratropium dans du PDO :
 - Dans un récipient adapté mettre 8.75 ml de PDO
 - Ajouter 0.5 mL de S0
 - Ajouter 0.750 mL d'eau physiologique.
 - Agiter le mélange jusqu'à homogénéisation.

Solution bromure d'ipratropium 1.25mg/ml :

- Préparer une solution mère S0 d'ibromure d'ipratropium à une concentration de 10mg/ml :
 - Peser dans un bécher 20mg de poudre d'ibromure d'ipratropium
 - Ajouter 2 ml d'eau physiologique et agiter jusqu'à dissolution.
- Préparation de la solution S1 à 0.25 mg/ml d'ibromure d'ipratropium dans du PDO :
 - Dans un récipient adapté mettre 8.75 ml de PDO
 - Ajouter 1.25mL de S0
 - Agiter le mélange jusqu'à homogénéisation.

PROTOCOLE SOLUTION SALBUTAMOL HÉMISULFATE

Solution salbutamol hémisulfate 2mg/ml :

- Préparer une solution mère S0 de salbutamol hémisulfate à une concentration de 40mg/ml :
 - Peser dans un bécher 100mg de poudre de salbutamol hémisulfate
 - Ajouter 2.5 mL d'eau physiologique et agiter jusqu'à dissolution.
- Préparation de la solution S1 à 2 mg/ml de salbutamol hémisulfate dans du PDO :
 - Dans un récipient adapté mettre 8.75 ml de PDO
 - Ajouter 0.5 mL de S0

Ajouter 0.750 mL d'eau physiologique.

- Agiter le mélange jusqu'à homogénéisation.

Solution salbutamol hémisulfate 10mg/ml

- Préparer une solution mère S0 de salbutamol hémisulfate à une concentration de 80mg/ml :
 - Peser dans un bécher 160mg de poudre de salbutamol hémisulfate

- Ajouter 2 ml d'eau physiologique et agiter jusqu'à dissolution.
- Préparation de la solution S1 à 80 mg/ml de salbutamol hémisulfate dans du PDO :
 - Dans un récipient adapté mettre 8.75 ml de PDO
 - Ajouter 1.25 mL de S0

ANNEXE 2

Protocole de régénération de la colonne HPLC

I. Objectif :

Au fil du temps, les colonnes HPLC vont petit à petit s'encrasser lorsque nous analysons régulièrement des matrices chargées ou un produit visqueux (exemple : e-liquide PDO). Afin de préserver la durée de vie de ces colonnes et pour restaurer certaines de leur performance il est essentiel d'effectuer un conditionnement et une régénération de manière régulière.

Plusieurs symptômes chromatographiques peuvent indiquer le dysfonctionnement de la colonne, parmi ces éléments on note :

- Un décalage dans le temps de rétention,
- Un changement dans la forme du chromatogramme,
- Une augmentation de la pression dans la pompe du système d'HPLC

De ce fait, ce protocole a pour but de décrire le mode opératoire de régénération de colonne HPLC.

II. Mode opératoire :

Pour la régénération de colonne, un rinçage à l'aide d'une série de combinaisons de solvants forts avec un débit de **1 ml/min** est requis.



Il est important de ne pas inverser le sens de la colonne lors de son nettoyage.

- ✓ Pour les colonnes en **phase inverse**, rincez la colonne avec un minimum de 20 volumes de colonne de chaque solvant, dans l'ordre indiqué dans le tableau ci-

dessous en commençant par 5% de méthanol dans l'eau et en allant jusqu'à une composition en solvants fortement organique puis revenir aux conditions initiales de phase mobile :

Solvants
1. Eau : MeOH (95:5, v/v)
2. MeOH
3. IPA
4. n-Hexane
5. IPA
6. MeOH
7. Eau : MeOH (95:5, v/v)
8. Retourner à la phase mobile

- ✓ Pour les colonnes de **phase normale**, rincez avec un minimum de 20 volumes de colonne de chaque solvant, dans l'ordre indiqué dans le tableau en commençant par l'IPA et en allant jusqu'à l'éthanol puis revenez à vos conditions initiales de phase mobile.

Solvants
1. IPA
2. n-Hexane
3. Ethanol
4. Retourner à la phase mobile

Le volume de colonne peut être calculé à l'aide de la formule suivante :

$$V = \pi r^2 * L$$

V = le volume de la colonne en mL
r = le rayon de la colonne en cm
L = la longueur de la colonne en cm

Il est fortement recommandé de ré-équilibrer la colonne dans les conditions initiales de la méthode utilisée en effectuant une série d'injections avant de démarrer la séquence d'injections. Après avoir régénéré la colonne, il est important de stocker la colonne LC avec les bouchons solidement fixés aux extrémités et dans le solvant recommandé par le fabricant (voir certificat d'analyse de chaque colonne), que ce soit pour un stockage à court ou long terme.

Une méthode a déjà été créée dans le logiciel labsolutions, afin de lancer la régénération directement, cliquer sur [File], puis [open method file], et enfin sélectionner [column regeneration]

Informations supplémentaires :

Afin de garder la colonne en bonne condition pour une longue durée, ci-dessous un tableau qui montre les volumes d'injections à ne pas dépasser pour chaque type de colonne :

1. How much sample can I inject on my LC column and still avoid band broadening?

Injection volumes, as well as optimal flow rates, are limited by the size of the column. Ideally, if your sample is in the same solvent as your mobile phase, approximate volumes should range as follows:

Column ID	Volume (µL)
2.1 mm (30 -100 mm length)	1-3
3.0-3.2 mm (50-150 mm length)	2-12
4.6 mm (50-250 mm length)	8-40

Les débits à respecter pour chaque type de colonnes HPLC :

Column Inner Diameter (mm)	Column Length (mm)	Particle Diameter (μm)	Optimal Flow rate (mL/min)	Predicted Pressure for ACN (psi) @30C	Predicted Pressure for MeOH (psi) @30C
2.1	30	3	0.31	527	838
2.1	30	5	0.2	122	195
2.1	50	3	0.31	879	1396
2.1	50	5	0.2	204	324
2.1	100	3	0.31	1757	2792
2.1	100	5	0.2	408	649
3.0	50	3	0.65	903	1434
3.0	50	5	0.4	200	318
3.0	100	3	0.65	1806	2869
3.0	100	5	0.4	400	636
3.0	150	3	0.65	2708	4303
3.0	150	5	0.4	600	953
4.6	50	3	1.5	886	1408
4.6	50	5	1	213	338
4.6	100	3	1.5	1772	2816
4.6	100	5	1	425	676
4.6	150	3	1.5	2658	4224
4.6	150	5	1	638	1014
4.6	200	3	1.5	4431	7040
4.6	200	5	1	1063	1690

ANNEXE 3

Protocole GTI pour E-cig

Le système GTI (Glass Twin Imprinter) permet de séparer 2 fractions de particules avec un cut-off à 6.4 μm pour un flux d'air réglé à 60 L/min. Les particules inférieures à 6.4 μm sont donc collectées dans la partie basse du montage. Il convient de réaliser les essais en n=3 pour chaque conditions expérimentales.

Matériel :

- GTI
- Débitmètre DFM3 ou DFM4
- Tubes Falcon 50mL & 15mL
- Seringue type « AFNOR » de 50mL

- E-cigarette avec clearomiseur, et résistance
- Pipettes et multipipette + cônes
- E-liquide préparé à partir de Propylène glycol (PG), végétale glycerine (VG) ou végétol (PDO) et principes actifs (bronchodilatateurs, etc.)
- Seringue “Croustibat” de 3L

Méthode :

Préparation du E-liquide

Les dilutions se font volume à volume.

Faire 10 mL de mélange PG/VG à 80/20 soit 8mL de PG pour 2mL de VG ou utiliser du PDO seul.

Préparer ensuite 8 mL de e-liquide avec PA pour 3 essais soit 7mL de mélange e-liquide 80/20 pour 1mL de PA.

Mise en place du GTI

Installer le GTI en mettant 30 mL d'eau d.i. dans l'erenmayer du bas et 7 mL d'eau d.i. dans le ballon du haut (attention pour le GTI n°2 qui a un défaut, mettre seulement 3 mL d'eau d.i. dans le ballon du haut – Les éléments qui ne vont pas dans le GTI n°2 vont être remplacés par le verrier de MC2 Mr CHENU).



Régler le débit de la pompe à 65 ± 5 L/min (pour tenir compte de la perte de charge dans le montage à l'aide du débitmètre).

Génération de l'aérosol – Norme AFNOR

Le protocole de génération d'aérosols est en partie basé sur la directive AFNOR pour l'évaluation des e-cigarettes et doit être réalisé selon les étapes suivantes :

1. Chargez la batterie jusqu'à la charge complète.

3. Remplissez le réservoir avec le e-liquide préalablement préparé (**2 mL pour le GS Air 2 et 3 mL pour le GS Tank**). Attention à ne pas en faire couler dans le canal central du clearo.
5. Initiez l'e-cigarette avec 6 bouffées de seringue Croustibat. Pour chaque bouffée, qui devrait durer au moins 9 secondes, collectez l'aérosol généré **sous une Sorbonne** en marche. Attention à ne pas complètement coller l'embout de la E-cig la seringue. **L'airflow doit être ouvert au maximum.**
6. Pesez la E-cig après l'initiation.
7. Réalisez **2 bouffées** suivant les directives AFNOR avec la seringue AFNOR: durée de bouffée de 4 s, volume de bouffée de 55 mL, durée de bouffée de 30s. Pour chaque bouffée, collectez l'aérosol généré avec **le GTI** (éteindre la pompe du GTI entre 2 puffs). La e-cigarette doit être placée avec un angle de 30° afin de mimer l'inclinaison lors de puffs réels.
8. Pesez la E-cig après l'expérience
9. Collectez les 30 mL dans un Falcon de 50 mL et les 7 mL (ou 3mL pour le GTI n°2) dans un Falcon de 15 mL.



OPTION : Pour plus de précision, les 7 mL de la chambre haute peuvent être placés dans une fiole jaugée de 10 mL et complétés à l'eau D.I et les 30 mL de la chambre basse peuvent être placés dans une fiole jaugée de 50 mL et complétés à l'eau D.I.

Conserver les échantillons à température ambiante à l'abris de la lumière avant analyse (spectrophotomètre ou HPLC).

Si nécessaire conserver du E-liquide de départ et le E-liquide restant dans le tank à la fin.

Entre chaque essai, démonter le GTI et placer les différentes pièces dans un grand bécber plastique rempli d'eau chaude avec du liquide vaisselle. Laisser tremper, nettoyer au goupillon puis rincer à l'eau claire et à l'eau d.i et/ou à l'éthanol. Pré sécher à l'air comprimé. La verrerie peut être séchée si nécessaire à l'étuve (80°C). Nettoyer de la même manière la seringue de 50cc et les différents éléments de la E-cig (la mèche doit être nettoyée à l'alcool). La seringue et les éléments de la E-cig peuvent aussi être séchés à l'air comprimé.

L'ISPB - Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon 1 n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

L'ISPB - Faculté de Pharmacie de Lyon est engagé dans une démarche de lutte contre le plagiat. De ce fait, une sensibilisation des étudiants et encadrants des thèses a été réalisée avec notamment l'incitation à l'utilisation d'une méthode de recherche de similitudes.

CHAABANE Maissa

Drug Vaping : Etude de la libération de principes actifs bronchodilatateurs (salbutamol hémisulfate, bromure d'ipratropium, sulfate de terbutaline) par des ENDS (système électronique de délivrance de nicotine) et comparaison à un nébuliseur pneumatique.

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2023, 105 p

RESUME

En France, en 2016 les maladies respiratoires chroniques sont la troisième cause de décès après les maladies cardiovasculaires, les bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) sont quant à elles la troisième cause de mortalité dans le monde.

Ces maladies nécessitent un traitement par bronchodilatateurs, corticostéroïdes ou antibiotiques. Pour administrer ces traitements, il est souvent nécessaire d'utiliser des nébuliseurs ou des inhalateurs. Malgré leurs évolutions, les nébuliseurs et les inhalateurs restent peu pratiques à utiliser, les nébuliseurs sont encombrants et inconfortables pour le patient.

Il est donc nécessaire d'étudier de nouveaux modes d'administration pour ces traitements pour améliorer la qualité de vie du patient ainsi que son observance.

L'une des nouvelles idées innovantes pour délivrer ces traitements est l'utilisation de la cigarette électronique en tant que dispositif médical. Cette étude a permis de tester deux types de cigarettes électroniques qui sont la JUUL® et la ZIP USONICIG® pour la libération de trois principes actifs bronchodilatateurs (salbutamol hémisulfate, bromure d'ipratropium, sulfate de terbutaline) et de comparer cette libération à celle d'un nébuliseur pneumatique. Cet écrit fait par des résultats obtenus qui sont différents en fonction des cigarettes électroniques et principes actifs. Cependant, ces derniers sont encourageants quant à l'évolution possible du mode d'administration de ces traitements. et notamment à l'utilisation de la cigarette électronique à cet effet.

MOTS CLES

Drug vaping
Cigarette électronique
Nébulisation
Dispositif médical
Bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO)
Asthme
Bronchodilatateur
Libération

JURY

M. Pailler-Mattei Cyril (PR)
M. Pourchez Jérémie, Directeur de recherche du Centre d'Ingénierie et Santé de l'Ecole des Mines de Saint-Etienne.
M. Pailler-Mattei Cyril (PR)
Mme.Levigoureux Elise (MCU-PH)
M.Armoiry Xavier (PU-PH)

DATE DE SOUTENANCE

Mercredi 25 Janvier 2023