

**UNIVERSITE MOHAMMED V**  
**FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE – RABAT**

ANNEE : 2012

THESE N° : 45

**ETUDE DE L'ABSORPTION DE L'AMLODIPINE A  
TRAVERS LA CHAMBRE D'USSING :  
CORRELATION EX-VIVO/IN-VITRO**

*Présentée et soutenue publiquement le : 20/04/2012*

PAR

**MR. MAYDOUNE ABDELHAMID**

*Né le 08 Février 1984 à Casablanca*

**Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie**

**MOTS CLES** : absorption, bioéquivalence, chambre d'Ussing, corrélation

**MEMBRES DE JURY**

**Mr. A. BOUKLOUZE**

Professeur des applications Pharmaceutiques

**Mr. Y. CHERRAH**

Professeur de Pharmacologie

**Mr. My.A. FAOUZI**

Professeur de Pharmacologie

**Mr. A. LAATIRIS**

Professeur de Pharmacie galénique

**PRESIDENT**

**RAPPORTEUR**

**JUGES**

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِمَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)



## UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI

### FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

#### **DOYENS HONORAIRES :**

- 1962 – 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ**  
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH  
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK  
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI  
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI  
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

#### **ADMINISTRATION :**

- Doyen : Professeur Najia HAJJAJ  
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines  
Professeur Mohammed JIDDANE  
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération  
Professeur Ali BENOMAR  
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie  
Professeur Yahia CHERRAH  
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT  
Conservateur : Ahmed ZAHIDI

#### **PROFESSEURS :**

##### **Février, Septembre, Décembre 1973**

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

##### **Janvier et Décembre 1976**

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

##### **Mars, Avril et Septembre 1980**

3. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie  
4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

##### **Mai et Octobre 1981**

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid Cardiologie  
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie  
7. Pr. HAMANI Ahmed\* Cardiologie  
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire  
9. Pr. SBIHI Ahmed Anesthésie –Réanimation  
10. Pr. TAOBANE Hamid\* Chirurgie Thoracique

### **Mai et Novembre 1982**

11. Pr. ABROUQ Ali\*
12. Pr. BENOMAR M'hammed
13. Pr. BENSOUA Mohamed
14. Pr. BENOSMAN Abdellatif
15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Oto-Rhino-Laryngologie  
Chirurgie-Cardio-Vasculaire  
Anatomie  
Chirurgie Thoracique  
Physiologie

### **Novembre 1983**

16. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir\*
17. Pr. BALAFREJ Amina
18. Pr. BELLAKHDAR Fouad
19. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
20. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-phtisiologie  
Pédiatrie  
Neurochirurgie  
Rhumatologie  
Cardiologie

### **Décembre 1984**

21. Pr. BOUCETTA Mohamed\*
22. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil
23. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
24. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
25. Pr. NAJI M'Barek \*
26. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie  
Radiothérapie  
Médecine Interne  
Anesthésie -Réanimation  
Immuno-Hématologie  
Chirurgie

### **Novembre et Décembre 1985**

27. Pr. BENJELLOUN Halima
28. Pr. BENSAID Younes
29. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
30. Pr. IHRAI Hssain \*
31. Pr. IRAQI Ghali
32. Pr. KZADRI Mohamed

Cardiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Neurologie  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale  
Pneumo-phtisiologie  
Oto-Rhino-laryngologie

### **Janvier, Février et Décembre 1987**

33. Pr. AJANA Ali
34. Pr. AMMAR Fanid
35. Pr. CHAHED OUZZANI Houria ép.TAOBANE
36. Pr. EL FASSY Fihri Mohamed Taoufiq
37. Pr. EL HAITEM Naïma
38. Pr. EL MANSOURI Abdellah\*
39. Pr. EL YAACOUBI Moradh
40. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
41. Pr. LACHKAR Hassan
42. Pr. OHAYON Victor\*

Radiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Gastro-Entérologie  
Pneumo-phtisiologie  
Cardiologie  
Chimie-Toxicologie Expertise  
Traumatologie Orthopédie  
Gastro-Entérologie  
Médecine Interne  
Médecine Interne

43. Pr. YAHYAOUI Mohamed

Neurologie

**Décembre 1988**

44. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib

Chirurgie Pédiatrique

45. Pr. DAFIRI Rachida

Radiologie

46. Pr. FAIK Mohamed

Urologie

47. Pr. HERMAS Mohamed

Traumatologie Orthopédie

48. Pr. TOLOUNE Farida\*

Médecine Interne

**Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990**

49. Pr. ADNAOUI Mohamed

Médecine Interne

50. Pr. AOUNI Mohamed

Médecine Interne

51. Pr. BENAMEUR Mohamed\*

Radiologie

52. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali

Cardiologie

53. Pr. CHAD Bouziane

Pathologie Chirurgicale

54. Pr. CHKOFF Rachid

Urologie

55. Pr. KHARBACH Aïcha

Gynécologie -Obstétrique

56. Pr. MANSOURI Fatima

Anatomie-Pathologique

57. Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Neurologie

58. Pr. SEDRATI Omar\*

Dermatologie

59. Pr. TAZI Saoud Anas

Anesthésie Réanimation

**Février Avril Juillet et Décembre 1991**

60. Pr. AL HAMANY Zaïtounia

Anatomie-Pathologique

61. Pr. ATMANI Mohamed\*

Anesthésie Réanimation

62. Pr. AZZOUZI Abderrahim

Anesthésie Réanimation

63. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM

Néphrologie

64. Pr. BELKOUCHI Abdelkader

Chirurgie Générale

65. Pr. BENABDELLAH Chahrazad

Hématologie

66. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif

Chirurgie Générale

67. Pr. BENSOUDA Yahia

Pharmacie galénique

68. Pr. BERRAHO Amina

Ophtalmologie

69. Pr. BEZZAD Rachid

Gynécologie Obstétrique

70. Pr. CHABRAOUI Layachi

Biochimie et Chimie

71. Pr. CHANA El Houssaine\*

Ophtalmologie

72. Pr. CHERRAH Yahia

Pharmacologie

73. Pr. CHOKAIRI Omar

Histologie Embryologie

74. Pr. FAJRI Ahmed\*

Psychiatrie

75. Pr. JANATI Idrissi Mohamed\*

Chirurgie Générale

76. Pr. KHATTAB Mohamed

Pédiatrie

77. Pr. NEJMI Maati

Anesthésie-Réanimation

78. Pr. OUAALINE Mohammed\*

Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène

79. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH

Pharmacologie

80. Pr. TAOUFIK Jamal

Chimie thérapeutique

**Décembre 1992**

- 81. Pr. AHALLAT Mohamed
- 82. Pr. BENOUDA Amina
- 83. Pr. BENSOUDA Adil
- 84. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
- 85. Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
- 86. Pr. CHRAIBI Chafiq
- 87. Pr. DAOUDI Rajae
- 88. Pr. DEHAYNI Mohamed\*
- 89. Pr. EL HADDOURY Mohamed
- 90. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
- 91. Pr. FELLAT Rokaya
- 92. Pr. GHAFIR Driss\*
- 93. Pr. JIDDANE Mohamed
- 94. Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
- 95. Pr. TAGHY Ahmed
- 96. Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale  
Microbiologie  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Gynécologie Obstétrique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Anesthésie Réanimation  
Neurochirurgie  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Anatomie  
Gynécologie Obstétrique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie

**Mars 1994**

- 97. Pr. AGNAOU Lahcen
- 98. Pr. AL BAROUDI Saad
- 99. Pr. BENCHERIFA Fatiha
- 100. Pr. BENJAAFAR Noureddine
- 101. Pr. BENJELLOUN Samir
- 102. Pr. BEN RAIS Nozha
- 103. Pr. CAOUI Malika
- 104. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
- 105. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT
- 106. Pr. EL AOUAD Rajae
- 107. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
- 108. Pr. EL HASSANI My Rachid
- 109. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur
- 110. Pr. EL KIRAT Abdelmajid\*
- 111. Pr. ERROUGANI Abdelkader
- 112. Pr. ESSAKALI Malika
- 113. Pr. ETTAYEBI Fouad
- 114. Pr. HADRI Larbi\*
- 115. Pr. HASSAM Badredine

Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Ophtalmologie  
Radiothérapie  
Chirurgie Générale  
Biophysique  
Biophysique  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Gynécologie Obstétrique  
Immunologie  
Traumato-Orthopédie  
Radiologie  
Médecine Interne  
Chirurgie Cardio- Vasculaire  
Chirurgie Générale  
Immunologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Médecine Interne  
Dermatologie

116. Pr. IFRINE Lahssan  
 117. Pr. JELTHI Ahmed  
 118. Pr. MAHFOUD Mustapha  
 119. Pr. MOUDENE Ahmed\*  
 120. Pr. OULBACHA Said  
 121. Pr. RHRAB Brahim  
 122. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR  
 123. Pr. SLAOUI Anas

Chirurgie Générale  
 Anatomie Pathologique  
 Traumatologie – Orthopédie  
 Traumatologie- Orthopédie  
 Chirurgie Générale  
 Gynécologie –Obstétrique  
 Dermatologie  
 Chirurgie Cardio-Vasculaire

### **Mars 1994**

124. Pr. ABBAR Mohamed\*  
 125. Pr. ABDELHAK M'barek  
 126. Pr. BELAIDI Halima  
 127. Pr. BRAHMI Rida Slimane  
 128. Pr. BENTAHILA Abdelali  
 129. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali  
 130. Pr. BERRADA Mohamed Saleh  
 131. Pr. CHAMI Ilham  
 132. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae  
 133. Pr. EL ABBADI Najia  
 134. Pr. HANINE Ahmed\*  
 135. Pr. JALIL Abdelouahed  
 136. Pr. LAKHDAR Amina  
 137. Pr. MOUANE Nezha

Urologie  
 Chirurgie – Pédiatrique  
 Neurologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Pédiatrie  
 Gynécologie – Obstétrique  
 Traumatologie – Orthopédie  
 Radiologie  
 Ophtalmologie  
 Neurochirurgie  
 Radiologie  
 Chirurgie Générale  
 Gynécologie Obstétrique  
 Pédiatrie

### **Mars 1995**

138. Pr. ABOUQUAL Redouane  
 139. Pr. AMRAOUI Mohamed  
 140. Pr. BAIDADA Abdelaziz  
 141. Pr. BARGACH Samir  
 142. Pr. BEDDOUCHE Amoqrane\*  
 143. Pr. BENZAOUZ Mustapha  
 144. Pr. CHAARI Jilali\*  
 145. Pr. DIMOU M'barek\*  
 146. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine\*  
 147. Pr. EL MESNAOUI Abbes  
 148. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila  
 149. Pr. FERHATI Driss  
 150. Pr. HASSOUNI Fadil  
 151. Pr. HDA Abdelhamid\*  
 152. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed  
 153. Pr. IBRAHIMY Wafaa  
 154. Pr. MANSOURI Aziz

Réanimation Médicale  
 Chirurgie Générale  
 Gynécologie Obstétrique  
 Gynécologie Obstétrique  
 Urologie  
 Gastro-Entérologie  
 Médecine Interne  
 Anesthésie Réanimation  
 Anesthésie Réanimation  
 Chirurgie Générale  
 Oto-Rhino-Laryngologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Médecine Préventive et Santé Publique  
 Cardiologie  
 Urologie  
 Ophtalmologie  
 Radiothérapie

155. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia  
 156. Pr. RZIN Abdelkader\*  
 157. Pr. SEFIANI Abdelaziz  
 158. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Ophtalmologie  
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
 Génétique  
 Réanimation Médicale

### **Décembre 1996**

159. Pr. AMIL Touriya\*  
 160. Pr. BELKACEM Rachid  
 161. Pr. BELMAHI Amin  
 162. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim  
 163. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan  
 164. Pr. EL MELLOUKI Ouafae\*  
 165. Pr. GAOUZI Ahmed  
 166. Pr. MAHFOUDI M'barek\*  
 167. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid  
 168. Pr. MOHAMMADI Mohamed  
 169. Pr. MOULINE Soumaya  
 170. Pr. OUADGHIRI Mohamed  
 171. Pr. OUZEDDOUN Naima  
 172. Pr. ZBIR EL Mehdi\*

Radiologie  
 Chirurgie Pédiatrie  
 Chirurgie réparatrice et plastique  
 Ophtalmologie  
 Chirurgie Générale  
 Parasitologie  
 Pédiatrie  
 Radiologie  
 Chirurgie Générale  
 Médecine Interne  
 Pneumo-ptisiologie  
 Traumatologie-Orthopédie  
 Néphrologie  
 Cardiologie

### **Novembre 1997**

173. Pr. ALAMI Mohamed Hassan  
 174. Pr. BEN AMAR Abdesselem  
 175. Pr. BEN SLIMANE Lounis  
 176. Pr. BIROUK Nazha  
 177. Pr. BOULAICH Mohamed  
 178. Pr. CHAOUIR Souad\*  
 179. Pr. DERRAZ Said  
 180. Pr. ERREIMI Naima  
 181. Pr. FELLAT Nadia  
 182. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra  
 183. Pr. HAIMEUR Charki\*  
 184. Pr. KANOUNI NAWAL  
 185. Pr. KOUTANI Abdellatif  
 186. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid  
 187. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ  
 188. Pr. NAZI M'barek\*  
 189. Pr. OUAHABI Hamid\*

Gynécologie-Obstétrique  
 Chirurgie Générale  
 Urologie  
 Neurologie  
 O.RL.  
 Radiologie  
 Neurochirurgie  
 Pédiatrie  
 Cardiologie  
 Radiologie  
 Anesthésie Réanimation  
 Physiologie  
 Urologie  
 Chirurgie Générale  
 Pédiatrie  
 Cardiologie  
 Neurologie



190. Pr. SAFI Lahcen\*  
191. Pr. TAOUFIQ Jallal  
192. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Anesthésie Réanimation  
Psychiatrie  
Gynécologie Obstétrique

### **Novembre 1998**

193. Pr. AFIFI RAJAA  
194. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali\*  
195. Pr. ALOUANE Mohammed\*  
196. Pr. BENOMAR ALI  
197. Pr. BOUGTAB Abdesslam  
198. Pr. ER RIHANI Hassan  
199. Pr. EZZAITOUNI Fatima  
200. Pr. KABBAJ Najat  
201. Pr. LAZRAK Khalid (M)

Gastro-Entérologie  
Pneumo-phtisiologie  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Neurologie  
Chirurgie Générale  
Oncologie Médicale  
Néphrologie  
Radiologie  
Traumatologie Orthopédie

### **Novembre 1998**

202. Pr. BENKIRANE Majid\*  
203. Pr. KHATOURI ALI\*  
204. Pr. LABRAIMI Ahmed\*

Hématologie  
Cardiologie  
Anatomie Pathologique

### **Janvier 2000**

205. Pr. ABID Ahmed\*  
206. Pr. AIT OUMAR Hassan  
207. Pr. BENCHERIF My Zahid  
208. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd  
209. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine  
210. Pr. CHAOUI Zineb  
211. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer  
212. Pr. ECHARRAB El Mahjoub  
213. Pr. EL FTOUH Mustapha  
214. Pr. EL MOSTARCHID Brahim\*  
215. Pr. EL OTMANY Azzedine  
216. Pr. GHANNAM Rachid  
217. Pr. HAMMANI Lahcen  
218. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim  
219. Pr. ISMAILI Hassane\*  
220. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss  
221. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim\*  
222. Pr. TACHINANTE Rajae  
223. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie  
Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Pédiatrie  
Pneumo-phtisiologie  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pneumo-phtisiologie  
Neurochirurgie  
Chirurgie Générale  
Cardiologie  
Radiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Traumatologie Orthopédie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine Interne

### **Novembre 2000**

- 224. Pr. AIDI Saadia
- 225. Pr. AIT OURHROUI Mohamed
- 226. Pr. AJANA Fatima Zohra
- 227. Pr. BENAMR Said
- 228. Pr. BENCHEKROUN Nabiha
- 229. Pr. CHERTI Mohammed
- 230. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
- 231. Pr. EL HASSANI Amine
- 232. Pr. EL IDGHIRI Hassan
- 233. Pr. EL KHADER Khalid
- 234. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah\*
- 235. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
- 236. Pr. HSSAIDA Rachid\*
- 237. Pr. LACHKAR Azzouz
- 238. Pr. LAHLOU Abdou
- 239. Pr. MAFTAH Mohamed\*
- 240. Pr. MAHASSINI Najat
- 241. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
- 242. Pr. NASSIH Mohamed\*
- 243. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Neurologie  
Dermatologie  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Générale  
Ophtalmologie  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Pédiatrie  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Urologie  
Rhumatologie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Anesthésie-Réanimation  
Urologie  
Traumatologie Orthopédie  
Neurochirurgie  
Anatomie Pathologique  
Pédiatrie  
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale  
Neurologie

### **Décembre 2001**

- 244. Pr. ABABOU Adil
- 245. Pr. AOUAD Aicha
- 246. Pr. BALKHI Hicham\*
- 247. Pr. BELMEKKI Mohammed
- 248. Pr. BENABDELJLIL Maria
- 249. Pr. BENAMAR Loubna
- 250. Pr. BENAMOR Jouda
- 251. Pr. BENELBARHDADI Imane
- 252. Pr. BENNANI Rajae
- 253. Pr. BENOUACHANE Thami
- 254. Pr. BENYOUSSEF Khalil
- 255. Pr. BERRADA Rachid
- 256. Pr. BEZZA Ahmed\*
- 257. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
- 258. Pr. BOUHOUCHE Rachida
- 259. Pr. BOUMDIN El Hassane\*
- 260. Pr. CHAT Latifa
- 261. Pr. CHELLAOUI Mounia
- 262. Pr. DAALI Mustapha\*

Anesthésie-Réanimation  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Ophtalmologie  
Neurologie  
Néphrologie  
Pneumo-phtisiologie  
Gastro-Entérologie  
Cardiologie  
Pédiatrie  
Dermatologie  
Gynécologie Obstétrique  
Rhumatologie  
Anatomie  
Cardiologie  
Radiologie  
Radiologie  
Radiologie  
Chirurgie Générale

263. Pr. DRISSI Sidi Mourad*	Radiologie
264. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira	Gynécologie Obstétrique
265. Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
266. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie
267. Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
268. Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophtalmologie
269. Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale
270. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil	Radiologie
271. Pr. ETTAIR Said	Pédiatrie
272. Pr. GAZZAZ Miloudi*	Neuro-Chirurgie
273. Pr. GOURINDA Hassan	Chirurgie-Pédiatrique
274. Pr. HRORA Abdelmalek	Chirurgie Générale
275. Pr. KABBAJ Saad	Anesthésie-Réanimation
276. Pr. KABIRI EL Hassane*	Chirurgie Thoracique
277. Pr. LAMRANI Moulay Omar	Traumatologie Orthopédie
278. Pr. LEKEHAL Brahim	Chirurgie Vasculaire Périphérique
279. Pr. MAHASSIN Fattouma*	Médecine Interne
280. Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
281. Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
282. Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
283. Pr. NABIL Samira	Gynécologie Obstétrique
284. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
285. Pr. OUALIM Zouhir*	Néphrologie
286. Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale
287. Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique
288. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia	Pédiatrie
289. Pr. TAZI MOUKHA Karim	Urologie

### **Décembre 2002**

290. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*	Anatomie Pathologique
291. Pr. AMEUR Ahmed *	Urologie
292. Pr. AMRI Rachida	Cardiologie
293. Pr. AOURARH Aziz*	Gastro-Entérologie
294. Pr. BAMOU Youssef *	Biochimie-Chimie
295. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
296. Pr. BENBOUAZZA Karima	Rhumatologie
297. Pr. BENZEKRI Laila	Dermatologie
298. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*	Gastro-Entérologie
299. Pr. BERNOUSSI Zakiya	Anatomie Pathologique
300. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya	Psychiatrie
301. Pr. CHOHO Abdelkrim *	Chirurgie Générale
302. Pr. CHKIRATE Bouchra	Pédiatrie
303. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair	Chirurgie Pédiatrique
304. Pr. EL ALJ Haj Ahmed	Urologie
305. Pr. EL BARNOUSSI Leila	Gynécologie Obstétrique

306. Pr. EL HAOURI Mohamed \*
307. Pr. EL MANSARI Omar\*
308. Pr. ES-SADEL Abdelhamid
309. Pr. FILALI ADIB Abdelhai
310. Pr. HADDOUR Leila
311. Pr. HAJJI Zakia
312. Pr. IKEN Ali
313. Pr. ISMAEL Farid
314. Pr. JAAFAR Abdeloihab\*
315. Pr. KRIOULE Yamina
316. Pr. LAGHMARI Mina
317. Pr. MABROUK Hfid\*
318. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss\*
319. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid\*
320. Pr. MOUSTAINE My Rachid
321. Pr. NAITLHO Abdelhamid\*
322. Pr. OUJILAL Abdelilah
323. Pr. RACHID Khalid \*
324. Pr. RAISS Mohamed
325. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha\*
326. Pr. RHOU Hakima
327. Pr. SIAH Samir \*
328. Pr. THIMOU Amal
329. Pr. ZENTAR Aziz\*
330. Pr. ZRARA Ibtisam\*

Dermatologie  
 Chirurgie Générale  
 Chirurgie Générale  
 Gynécologie Obstétrique  
 Cardiologie  
 Ophtalmologie  
 Urologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Pédiatrie  
 Ophtalmologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Cardiologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Médecine Interne  
 Oto-Rhino-Laryngologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Chirurgie Générale  
 Pneumophtisiologie  
 Néphrologie  
 Anesthésie Réanimation  
 Pédiatrie  
 Chirurgie Générale  
 Anatomie Pathologique

### **PROFESSEURS AGREGES:**

#### **Janvier 2004**

331. Pr. ABDELLAH El Hassan
332. Pr. AMRANI Mariam
333. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
334. Pr. BENKIRANE Ahmed\*
335. Pr. BENRAMDANE Larbi\*
336. Pr. BOUGHALEM Mohamed\*
337. Pr. BOULAADAS Malik
338. Pr. BOURAZZA Ahmed\*
339. Pr. CHAGAR Belkacem\*
340. Pr. CHERRADI Nadia
341. Pr. EL FENNI Jamal\*
342. Pr. EL HANCHI ZAKI
343. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
344. Pr. EL YOUNASSI Badreddine\*
345. Pr. HACHI Hafid
346. Pr. JABOUIRIK Fatima

Ophtalmologie  
 Anatomie Pathologique  
 Oto-Rhino-Laryngologie  
 Gastro-Entérologie  
 Chimie Analytique  
 Anesthésie Réanimation  
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
 Neurologie  
 Traumatologie Orthopédie  
 Anatomie Pathologique  
 Radiologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Pédiatrie  
 Cardiologie  
 Chirurgie Générale  
 Pédiatrie

347. Pr. KARMANE Abdelouahed  
 348. Pr. KHABOUZE Samira  
 349. Pr. KHARMAZ Mohamed  
 350. Pr. LEZREK Mohammed\*  
 351. Pr. MOUGHIL Said  
 352. Pr. NAOUMI Asmae\*  
 353. Pr. SAADI Nozha  
 354. Pr. SASSENOU ISMAIL\*  
 355. Pr. TARIB Abdelilah\*  
 356. Pr. TIJAMI Fouad  
 357. Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Traumatologie Orthopédie  
 Urologie  
 Chirurgie Cardio-Vasculaire  
 Ophtalmologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Gastro-Entérologie  
 Pharmacie Clinique  
 Chirurgie Générale  
 Cardiologie

### **Janvier 2005**

358. Pr. ABBASSI Abdellah  
 359. Pr. AL KANDRY Sif Eddine\*  
 360. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid  
 361. Pr. ALLALI Fadoua  
 362. Pr. AMAR Yamama  
 363. Pr. AMAZOUZI Abdellah  
 364. Pr. AZIZ Nouredine\*  
 365. Pr. BAHIRI Rachid  
 366. Pr. BARKAT Amina  
 367. Pr. BENHALIMA Hanane  
 368. Pr. BENHARBIT Mohamed  
 369. Pr. BENYASS Aatif  
 370. Pr. BERNOUSSI Abdelghani  
 371. Pr. BOUKLATA Salwa  
 372. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed  
 373. Pr. DOUDOUH Abderrahim\*  
 374. Pr. EL HAMZAOUI Sakina  
 375. Pr. HAJJI Leila  
 376. Pr. HESSISSEN Leila  
 377. Pr. JIDAL Mohamed\*  
 378. Pr. KARIM Abdelouahed  
 379. Pr. KENDOUCI Mohamed\*  
 380. Pr. LAAROUSSI Mohamed  
 381. Pr. LYAGOUBI Mohammed  
 382. Pr. NIAMANE Radouane\*  
 383. Pr. RAGALA Abdelhak  
 384. Pr. SBIHI Souad  
 385. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam  
 386. Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Réparatrice et Plastique  
 Chirurgie Générale  
 Microbiologie  
 Rhumatologie  
 Néphrologie  
 Ophtalmologie  
 Radiologie  
 Rhumatologie  
 Pédiatrie  
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale  
 Ophtalmologie  
 Cardiologie  
 Ophtalmologie  
 Radiologie  
 Ophtalmologie  
 Biophysique  
 Microbiologie  
 Cardiologie  
 Pédiatrie  
 Radiologie  
 Ophtalmologie  
 Cardiologie  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Parasitologie  
 Rhumatologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Histo-Embryologie Cytogénétique  
 Ophtalmologie  
 Gynécologie Obstétrique

### **AVRIL 2006**

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen\*

Rhumatologie

424. Pr. AFIFI Yasser  
 425. Pr. AKJOUJ Said\*  
 426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra  
 427. Pr. BELMEKKI Abdelkader\*  
 428. Pr. BENCHEIKH Razika  
 429. Pr. BIYI Abdelhamid\*  
 430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine  
 431. Pr. BOULAHYA Abdellatif\*  
 432. Pr. CHEIKHAOUI Younes  
 433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas  
 434. Pr. DOGHMI Nawal  
 435. Pr. ESSAMRI Wafaa  
 436. Pr. FELLAT Ibtissam  
 437. Pr. FAROUDY Mamoun  
 438. Pr. GHADOUANE Mohammed\*  
 439. Pr. HARMOUCHE Hicham  
 440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed\*  
 441. Pr. IDRIS LAHLOU Amine  
 442. Pr. JROUNDI Laila  
 443. Pr. KARMOUNI Tariq  
 444. Pr. KILI Amina  
 445. Pr. KISRA Hassan  
 446. Pr. KISRA Mounir  
 447. Pr. KHARCHAFI Aziz\*  
 448. Pr. LAATIRIS Abdelkader\*  
 449. Pr. LMIMOUNI Badreddine\*  
 450. Pr. MANSOURI Hamid\*  
 451. Pr. NAZIH Naoual  
 452. Pr. OUANASS Abderrazzak  
 453. Pr. SAFI Soumaya\*  
 454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra  
 455. Pr. SEFIANI Sana  
 456. Pr. SOUALHI Mouna  
 457. Pr. TELLAL Saida\*  
 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Dermatologie  
 Radiologie  
 Dermatologie  
 Hématologie  
 O.R.L  
 Biophysique  
 Chirurgie - Pédiatrique  
 Chirurgie Cardio – Vasculaire  
 Chirurgie Cardio – Vasculaire  
 Gynécologie Obstétrique  
 Cardiologie  
 Gastro-entérologie  
 Cardiologie  
 Anesthésie Réanimation  
 Urologie  
 Médecine Interne  
 Anesthésie Réanimation  
 Microbiologie  
 Radiologie  
 Urologie  
 Pédiatrie  
 Psychiatrie  
 Chirurgie – Pédiatrique  
 Médecine Interne  
 Pharmacie Galénique  
 Parasitologie  
 Radiothérapie  
 O.R.L  
 Psychiatrie  
 Endocrinologie  
 Psychiatrie  
 Anatomie Pathologique  
 Pneumo – Phtisiologie  
 Biochimie  
 Pneumo – Phtisiologie

### **Octobre 2007**

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila  
 459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid  
 460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid  
 461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar \*  
 462. Pr. BAITE Abdelouahed \*  
 463. Pr. TOUATI Zakia  
 464. Pr. OUZZIF Ez zohra \*  
 465. Pr. BALOUCH Lhousaine \*

Anatomie pathologique  
 Anesthésie réanimation  
 Anesthésier réanimation  
 Anesthésie réanimation  
 Anesthésie réanimation  
 Cardiologie  
 Biochimie  
 Biochimie

466. Pr. SELKANE Chakir *	Chirurgie cardio vasculaire
467. Pr. EL BEKKALI Youssef *	Chirurgie cardio vasculaire
468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *	Chirurgie cardio vasculaire
469. Pr. EL ABSI Mohamed	Chirurgie générale
470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *	Chirurgie générale
471. Pr. ACHOUR Abdessamad *	Chirurgie générale
472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*	Chirurgie générale
473. Pr. GHARIB Noureddine	Chirurgie plastique
474. Pr. TABERKANET Mustafa *	Chirurgie vasculaire périphérique
475. Pr. ISMAILI Nadia	Dermatologie
476. Pr. MASRAR Azlarab	Hématologie biologique
477. Pr. RABHI Monsef *	Médecine interne
478. Pr. MRABET Mustapha *	Médecine préventive santé publique et hygiène
479. Pr. SEKHSOKH Yessine *	Microbiologie
480. Pr. SEFFAR Myriame	Microbiologie
481. Pr. LOUZI Lhoussain *	Microbiologie
482. Pr. MRANI Saad *	Virologie
483. Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
484. Pr. ICHOU Mohamed *	Oncologie médicale
485. Pr. TACHFOUTI Samira	Ophtalmologie
486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophtalmologie
487. Pr. MELLAL Zakaria	Ophtalmologie
488. Pr. AMMAR Haddou *	ORL
489. Pr. AOUI Sarra	Parasitologie
490. Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie
491. Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
492. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
493. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib*	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

### **Mars 2009**

Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen*	Anesthésie Réanimation

Pr. BOUHSAIN Sanae \*  
Pr. OUKERRAJ Latifa  
Pr. LAMSAOURI Jamal \*  
Pr. MARMADE Lahcen  
Pr. AMAHZOUNE Brahim\*  
Pr. AIT ALI Abdelmounaim \*  
Pr. BOUNAIM Ahmed \*  
Pr. EL MALKI Hadj Omar  
Pr. MSSROURI Rahal  
Pr. CHTATA Hassan Toufik \*  
Pr. BOUI Mohammed \*  
Pr. KABBAJ Nawal  
Pr. FATHI Khalid  
Pr. MESSAOUDI Nezha \*  
Pr. CHAKOUR Mohammed \*  
Pr. DOGHMI Kamal \*  
Pr. ABOUZAHIR Ali\*  
Pr. ENNIBI Khalid \*  
Pr. EL OUENNASS Mostapha  
Pr. ZOUHAIR Said\*  
Pr. L'kassimi Hachemi\*  
Pr. AKHADDAR Ali \*  
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia  
Pr. AGADR Aomar \*  
Pr. KARBOUBI Lamya  
Pr. MESKINI Toufik  
Pr. KABIRI Meryem  
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani \*  
Pr. BASSOU Driss \*  
Pr. ALLALI Nazik  
Pr. NASSAR Ittimade  
Pr. HASSIKOU Hasna \*  
Pr. AMINE Bouchra  
Pr. BOUSSOUGA Mostapha \*  
Pr. KADI Said \*

Biochimie  
Cardiologie  
Chimie Thérapeutique  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Chirurgie Cardio-vasculaire  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Dermatologie  
Gastro-entérologie  
Gynécologie obstétrique  
Hématologie biologique  
Hématologie biologique  
Hématologie clinique  
Médecine interne  
Médecine interne  
Microbiologie  
Microbiologie  
Microbiologie  
Neuro-chirurgie  
Neurologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Pneumo-phtisiologie  
Radiologie  
Radiologie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Rhumatologie  
Traumatologie orthopédique  
Traumatologie orthopédique

### **Octobre 2010**

Pr. AMEZIANE Taoufiq\*  
Pr. ERRABIH Ikram  
Pr. CHERRADI Ghizlan  
Pr. MOSADIK Ahlam  
Pr. ALILOU Mustapha  
Pr. KANOUNI Lamya  
Pr. EL KHARRAS Abdennasser\*  
Pr. DARBI Abdellatif\*

Médecine interne  
Gastro entérologie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie réanimation  
Radiothérapie  
Radiologie  
Radiologie



Pr. EL HAFIDI Naima  
Pr. MALIH Mohamed\*  
Pr. BOUSSIF Mohamed\*  
Pr. EL MAZOUZ Samir  
Pr. DENDANE Mohammed Anouar  
Pr. EL SAYEGH Hachem  
Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
Pr. RAISSOUNI Zakaria\*  
Pr. BOUAITY Brahim\*  
Pr. LEZREK Mounir  
Pr. NAZIH Mouna\*  
Pr. LAMALMI Najat  
Pr. ZOUAIDIA Fouad  
Pr. BELAGUID Abdelaziz  
Pr. DAMI Abdellah\*  
Pr. CHADLI Mariama\*

Pédiatrie  
Pédiatrie  
Médecine aérologique  
Chirurgie plastique et réparatrice  
Chirurgie pédiatrique  
Urologie  
Chirurgie générale  
Traumatologie orthopédie  
ORL  
Ophtalmologie  
Hématologie  
Anatomie pathologique  
Anatomie pathologique  
Physiologie  
Biochimie chimie  
Microbiologie

## **ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES** **PROFESSEURS**

1. Pr. ABOUDRAR Saadia
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima
3. Pr. ALAOUI KATIM
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
5. Pr. ANSAR M'hammed
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed
9. Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia
10. Pr. DAKKA Taoufiq
11. Pr. DRAOUI Mustapha
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen
13. Pr. ETTAIB Abdelkader
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbas
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine
17. Pr. KABBAJ Ouafae
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine
19. Pr. REDHA Ahlam
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
21. Pr. TOUATI Driss
22. Pr. ZAHIDI Ahmed
23. Pr. ZELLOU Amina

Physiologie  
Biochimie  
Pharmacologie  
Histologie-Embryologie  
Chimie Organique et Pharmacie Chimique  
Applications Pharmaceutiques  
Génétique Humaine  
Microbiologie  
Biochimie  
Physiologie  
Chimie Analytique  
Pharmacognosie  
Zootechnie  
Pharmacologie  
Chimie Organique  
Biotechnologie  
Biochimie  
Biologie  
Biochimie  
Chimie Organique  
Pharmacognosie  
Pharmacologie  
Chimie Organique

*\* Enseignants Militaires*

# Dédicaces

A mes chers parents

En témoignage de ma profonde affection et ma gratitude pour votre et vos sacrifices.

Votre amour, vos encouragements et vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours. Vous m'avez toujours incité à aller de l'avant.

Aucune dédicace ne saurait exprimer à sa juste valeur, l'ampleur de l'affection et de l'admiration que j'éprouve pour vous.

Que ce travail puisse être le fruit de vos efforts et le début de mes récompenses envers vous.

Que dieu puisse vous procure santé' bonheur et longue vie.

A mes chers frères et sœur

Qui ont toujours été près de moi, à travers ce travail je tiens à vous remercier pour vos conseils, vos instructions lors de mon cursus étudiantin, je vous souhaite une vie pleine de sucé et bonheur.

A mes amis

Pour tous les souvenirs qu'on a passé, je vous remercie pour votre soutien.

# Remerciement

A notre Maître et président de thèse,  
Monsieur le Professeur A. BOUKLOUZE  
Professeur des Applications Pharmaceutiques

Vous nous avez fait le très grand honneur de bien vouloir accepter la présidence de ce jury de thèse.

Tout au long de nos études, lors de notre formation théorique et pratique, nous avons eu la chance de bénéficier de vos grandes connaissances et de votre grande expérience.

Nous vous en remercions et vous assurons de notre très sincère gratitude et de notre plus profond respect.

A notre Maître et Rapporteur de thèse,  
Monsieur le Professeur Y. CHERRAH  
Professeur de Pharmacologie

Nous sommes très heureux de l'honneur que vous avez fait en nous confiant ce travail.

Vos compétences professionnelles, vos conseils, votre sérieux, votre rigueur de travail et votre paternalisme ont bien marqué mon parcours d'études.

Nous vous présentons à travers ce travail mes vives reconnaissances et tout le respect qu'on vous doit.

A notre Maître et juge de thèse,  
Monsieur le professeur *MY. A. Faouzi*  
*Professeur de Pharmacologie*

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.

Nous vous remercions pour la patience dont vous avez toujours su témoigner à l'égard de mon travail, et dont vous avez su encore faire preuve à l'égard de ce dernier.

Nous vous prions de trouver ici l'expression de nos sincères et profonds remerciements.

Notre maître et juge de thèse,  
Monsieur le Professeur A. LAATIRIS  
Professeur de Pharmacie Galénique

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger dans ce jury.

Je vous remercie aussi de votre enseignement durant mes études.

Veillez trouver ici l'expression de toute ma reconnaissance.



À NOTRE MAITRE

LE PROFESSEUR B.MEDDAH

Professeur assistante en Pharmacologie

Veillez trouver dans ici le témoignage de mes sincères remerciement, Pour, l'intérêt que vous avez porté à mon travail, votre sérieux, vos précieux conseils, votre disponibilité, le partage de vos connaissances, votre encouragement, votre gentillesse et votre modestie que j'ai pu apprécier.

Nous vous prions de bien vouloir, accepter mon plus profond respect et ma plus vive reconnaissance.

Personnel de l'animalerie centrale  
de la Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat

Je tiens à remercier à travers cette thèse Mr Lafrouhi Ahmed et Mr Asri Mohamed de leur disponibilité et de leur coopération.

## Plan

Introduction générale .....	1
Partie théorique .....	3
A. Physiologie de l'intestin .....	4
I. Généralité .....	4
II. Structure de l'épithélium intestinale.....	7
III. Jonctions cellulaires .....	9
IV. Transport membranaires.....	10
B. Biodisponibilité et absorption.....	11
I. Absorption .....	11
1. Voie d'administration.....	11
2. Voie orale.....	12
a. Mécanisme du passage transmembranaire .....	13
b. Facteurs influencent l'absorption des médicaments.....	15
II. Biodisponibilité.....	19
1. Définition .....	19
2. Calcul.....	19
C. Bioéquivalence.....	22
I. Définition .....	22
II. Etudes de la bioéquivalence.....	22

D. Test de dissolution in-vitro.....	24
I. Définition.....	24
II. Contexte .....	24
III. La dissolution.....	25
IV. Paramètres de la méthode de dissolution in vitro .....	26
1. Principe actif .....	28
2. Forme galénique.....	28
3. Choix du milieu.....	29
E. Chambre d’Ussing.....	30
I. Introduction.....	30
II. Objectifs .....	31
III. Description de la technique.....	31
IV. Protocole standard et réactifs.....	35
V. Paramètres étudiés.....	36
VI. Application de la méthode .....	39
VII. Avantages et inconvénients.....	40
F. La corrélation .....	41
I. Définitions.....	41
II. Niveaux de corrélation.....	41
III. La corrélation ex vivo/in vivo.....	43

Partie pratique .....	44
I. Introduction .....	45
II. Matériels et méthodes.....	45
1. Matériels .....	45
2. Méthodes.....	48
III. Résultats et Discussion .....	50
1. Validation de la méthode de dosage par HPLC .....	50
2. Optimisation de la chambre d'Ussing.....	55
3. Résultats de la chambre d'Ussing.....	56
4. Discussion.....	59
5. Corrélation.....	63
IV. Conclusion .....	68
Conclusion générale .....	69

Résumé

Références bibliographiques

Annexes

## **Liste des abréviations**

AUC: Area Under the Curve

BCS : Système de Classification Biopharmaceutique

BHE: Barrière Hémato-Encéphalique

ddp : différence de potentiel

EMA: Européen Medicines Evaluation Agency

EV: ExtraVasculaire

FDA: Food and Drug Administration

Icc : courant court circuit

ICH : Conférence Internationale d'Harmonisation

IV: IntraVeineuse

IVIVC: In Vitro-In Vivo Correlation.

MDR: MultiDrug Resistance

PA: Principe Actif

Papp : Perméabilité apparente

PGP : GlycoProtéine P

rpm : rotation par minutes

SUPAC : Changements Post-Approbation

USP : Pharmacopée Américaine.

## **Liste des tableaux**

Tableau 1 : Paramètres de dissolution de l'appareil 1 et 2.

Tableau 2 : Liste des spécialités commercialisées de l'amlodipine étudiées

Tableau 3 : Données utilisées pour démontrer la linéarité de la procédure d'analyse

Tableau 4 : Résultats de l'absorption de l'amlodipine des différentes spécialités à travers la chambre d'Ussing en  $\mu\text{g/ml}$

Tableau 5 : Résultats du flux muqueux-séreux de l'amlodipine des différentes spécialités à travers la chambre d'Ussing exprimés en  $\text{nmol/cm}^2/\text{h}$

Tableau 6 : Résultats de la perméabilité de l'amlodipine des différentes spécialités à travers la chambre d'Ussing exprimés en  $\text{nmol/cm}^2/\text{s}$

Tableau 7 : Résultats de l'analyse statistique

Tableau 8 : Résultats de la perméabilité de l'amlodipine des différentes spécialités à travers la chambre d'Ussing exprimés en  $\text{cm}^2/\text{s}$

Tableau 9 : Résultats du test de dissolution de l'amlodipine des différentes spécialités exprimés en pourcentage de libération du principe actif

Tableau 10 : Données des perméabilités et pourcentage de libération du principe actif pour chaque spécialité

## Listes des figures

Figure 1 : Structures anatomiques responsables d'un accroissement de la surface réelle d'absorption de la muqueuse intestinale.

Figure 2 : Les 4 tuniques du tube digestif.

Figure 3 : Paroi interne de l'intestin adulte : Migration des cellules épithéliales depuis leur "naissance" au fond de la crypte (cellules souches jusqu'à leur disparition au sommet de la villosité).

Figure 4 : Classification des jonctions cellulaires.

Figure 5 : Les quatre types de transports membranaires.

Figure 6 : Différentes voies d'administration des médicaments.

Figure 7 : Tableau des substrats, inhibiteurs et inducteurs de la P-gp.

Figure 8 : Biodisponibilité absolue d'un médicament.

Figure 9 : Biodisponibilité relative d'un médicament.

figure10 : Les paramètres mesurés entre princeps et génériques.

Figure 11 : Photo de la chambre d'Ussing : ancienne conception année 1951

Figure 12 : différentes techniques d'étude du passage des xénobiotiques à travers la membrane biologique.

Figure 13 : Photo de la nouvelle chambre d'Ussing de la FMPR

Figure 14: Schéma simplifié de la chambre d'Ussing

Figure 15 : Courbes de validation du dosage de l'amlodipine par HPLC dans la phase mobile et dans la solution Ringer



Figure 16 : Profils d'absorption des comprimés d'amlodipine 10 mg des génériques et princeps au à travers la chambre d'ussing en fonction du temps

Figure 17 : Profils du flux des comprimés d'amlodipine 10 mg des génériques et princeps travers la chambre d'ussing au en fonction du temps

Figure 18 : Profils de la perméabilité des comprimés d'amlodipine 10 mg des génériques et princeps au à travers la chambre d'ussing en fonction du temps

Figure 19 : représentation de la quantité absorbée cumulative des génériques et princeps à 4h

Figure 20 : Représentation du flux des génériques et princeps jusqu'à 4h

Figure 21 : Profils de dissolution des comprimés d'amlodipine 5 mg des génériques et princeps à par test de dissolution en fonction du temps

Figure 22 : Les courbes de corrélations des génériques et des princeps

# INTRODUCTION GENERALE

L'absorption des médicaments est une étape primordiale de sa biodisponibilité après l'étape biopharmaceutique de la libération du principe actif (PA) dans le sang. L'absorption détermine la quantité du PA qui passe dans la circulation générale par la suite vers son site d'action ainsi son effet thérapeutique.

Ce phénomène dépend de plusieurs facteurs extrinsèques et intrinsèques du médicament et représente un facteur limitant dans les études de la bioéquivalence des médicaments génériques.

Cependant, ce phénomène peut être étudié par des essais in vitro, ex vivo et par des essais cliniques.

Actuellement, au Maroc, la loi n'exige pas les études la bioéquivalence par les essais cliniques néanmoins le test in-vitro de dissolution est acceptable pour démontrer la similarité de profil de libération du principe actif entre princeps et générique.

Les limites du test de dissolution consiste au manque de des données sur l'absorption à travers la membrane biologique vers la circulation générale, qu'est une phase importante pour savoir la concentration plasmatique efficace, de ce fait on peut faire des tests par la chambre d'Ussing, cette technique fournit un système physiologique pour étudier l'absorption des médicaments à travers divers tissus épithéliaux, elle permet aussi la comparaison de l'absorption des molécules ou formulations à travers un segment d'un tissu biologique.

Dans notre travail, on va présenter une étude de l'absorption de l'amlodipine, ce choix de molécule s'est arrêté sur la base de sa perméabilité et sa solubilité car elle appartient à la classe 1 selon la classification biopharmaceutique système, cette étude est complétée par la comparaison d'absorption entre différentes spécialités princeps et génériques par la chambre d'Ussing. La perméabilité intestinale exprimée en  $\text{cm}^2/\text{s}$  sera corrélée avec le pourcentage dissous dans la libération in-vitro.

# PARTIE THEORIQUE

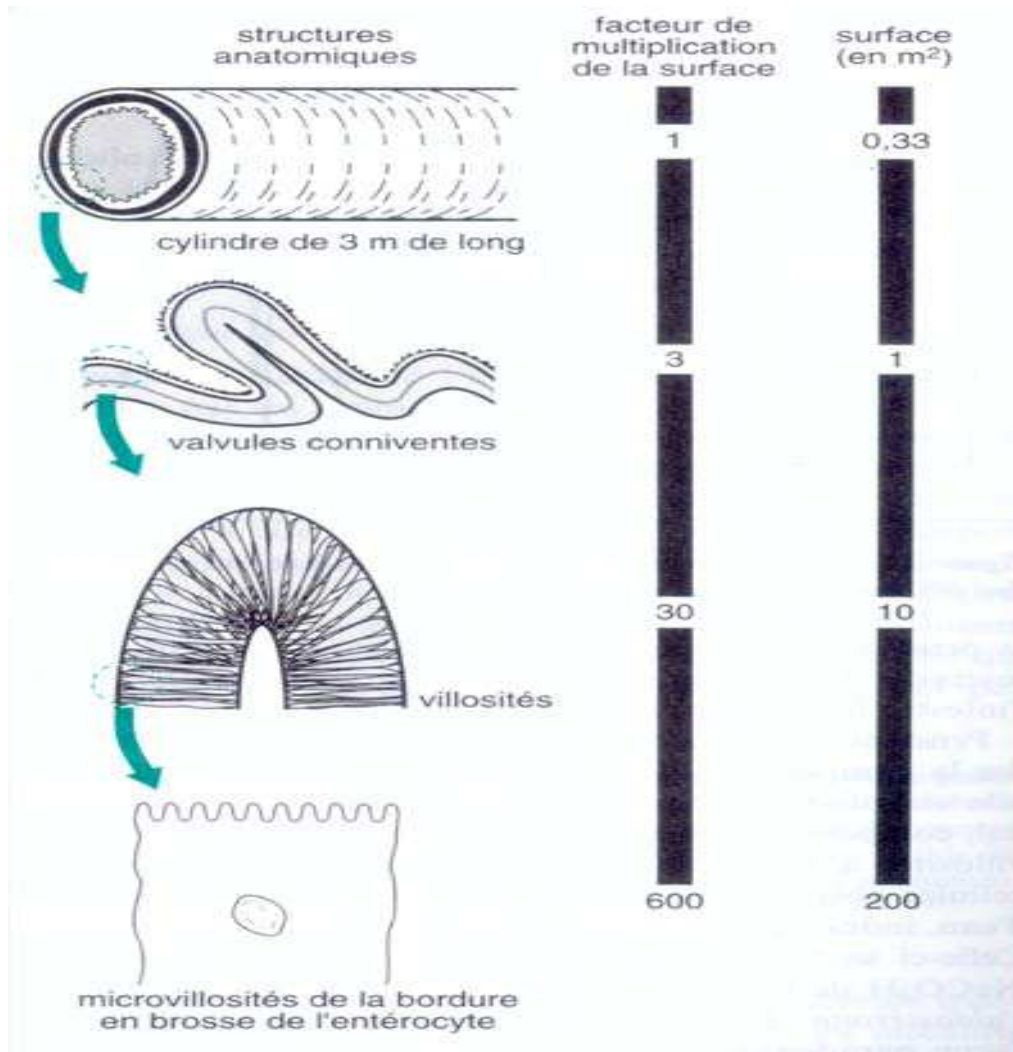
# A. Physiologie de l'intestin

## I. Généralités

La fonction primordiale de l'appareil digestif est le transfert vers la circulation générale des nutriments (après transformation), de l'eau et des électrolytes apportés par l'alimentation (source d'énergie) et aussi les médicaments. L'appareil digestif se divise en deux grands groupes : le tube digestif, lieu où s'accomplissent toutes les fonctions du système (ingestion, digestion, absorption, défécation) et les organes digestifs annexes, (la langue, les dents et un certain nombre de grosses glandes digestives) qui concourent chacun à leur manière à la dégradation des aliments. Le tube digestif a pour organes la bouche, le pharynx, l'œsophage, l'estomac, l'intestin grêle et le gros intestin qui se termine par l'anus, ces organes ont pratiquement la même structure de paroi, il diffère dans quelques régions, la paroi du tube digestif se compose de quatre couches : d'abord la muqueuse - en contact avec la lumière intestinale - est formée de nombreux replis qui augmentent énormément la surface en fonction des régions, elle est maximale au niveau de l'intestin grêle où se fait l'absorption et minimale dans l'œsophage qui sert seulement de voie de passage, ensuite la sous-muqueuse responsable de la distensibilité et de l'élasticité du tube digestif, elle contient les vaisseaux sanguins et lymphatiques, après on trouve la musculature externe qui assure le brassage et la propulsion du contenu et enfin il y a la séreuse dont la sécrétion séreuse lubrifie est facilitée le glissement entre les organes digestifs et les organes voisins.[1,2]

On s'intéresse à l'intestin grêle lieu où la majeure partie de l'absorption des nutriments et médicaments est réalisée. L'intestin grêle mesure environ entre 4 et 7 mètres et en moyenne 6 mètres et est composé de trois parties : le duodénum (25-30 centimètres), le jéjunum (2.5 mètres) et l'iléon (3.5 mètres). Il reçoit le chyme ; mélange plus ou moins visqueux des aliments et des différents sucs et sécrétions issus de l'estomac. Le jéjunum de par sa constitution et sa taille favorise les surfaces d'échanges entre la lumière intestinale et le sang. Sa surface d'échange couvre environ 200 à 300 m<sup>2</sup>. En effet la paroi de l'intestin n'est pas lisse mais son épithélium forme de villosités intestinales, qui sont des replis du chorion de la muqueuse ainsi la présence des microvillosités au niveau du pôle apical des entérocytes

(bordure en brosse), font augmenter considérablement la surface d'échange dans le processus d'absorption intestinale. [3]



**Figure 1 : Structures anatomiques responsables d'un accroissement de la surface réelle d'absorption de la muqueuse intestinale [4]**

Le gros intestin, fait suite de l'intestin grêle et qui est subdivisé en quatre parties successives: le coecum, l'appendice, le colon et le rectum. Il contribue à l'absorption de l'eau, de certains électrolytes et métabolites produits par la flore bactérienne. [3]

Une coupe transversale de l'intestin depuis la lumière jusqu'à la cavité abdominale nous a montré que l'intestin est composé de quatre tuniques concentriques :

- La muqueuse
- La musculaire muqueuse
- La sous muqueuse
- La musculuse (deux couches de fibres musculuses circulaire et longitudinale)
- Séreuse [3]

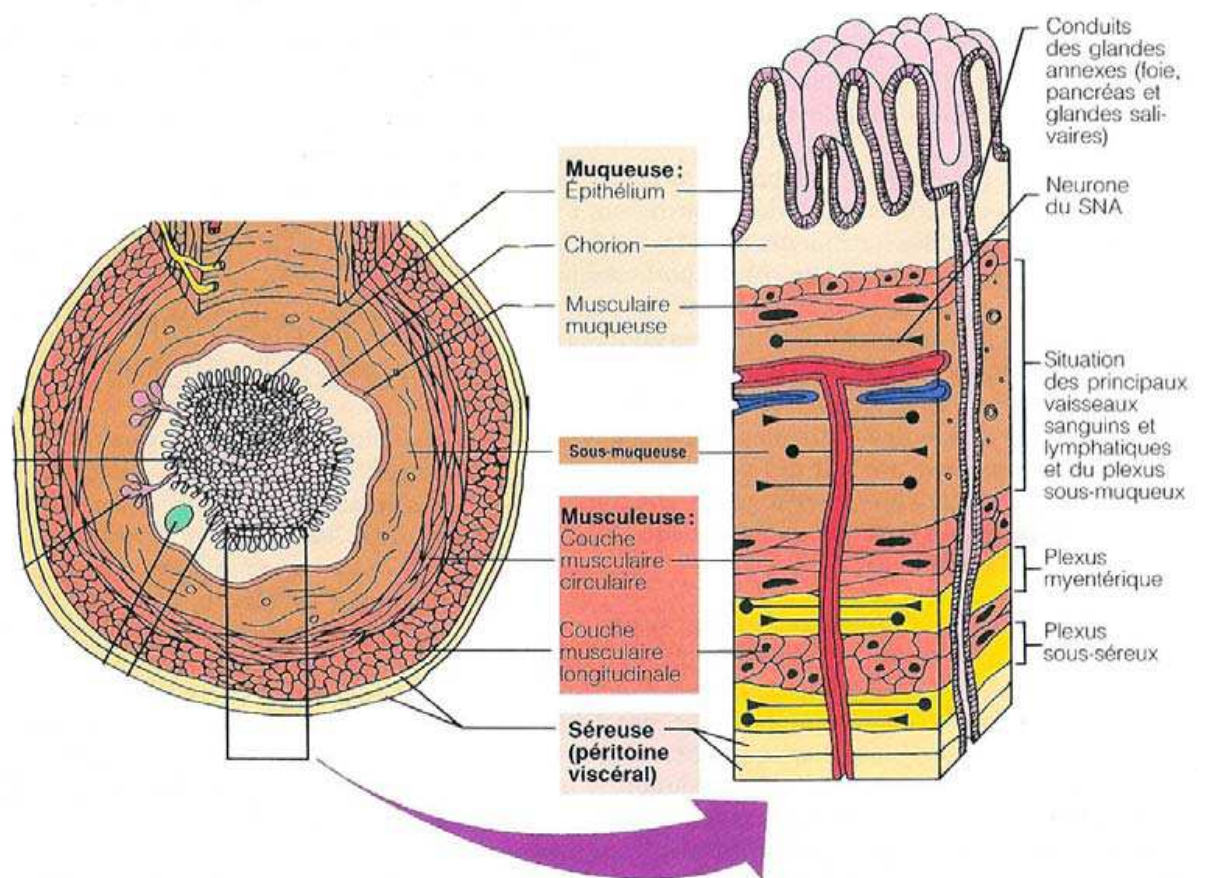


Figure 2 : Les 4 tuniques du tube digestif [5]

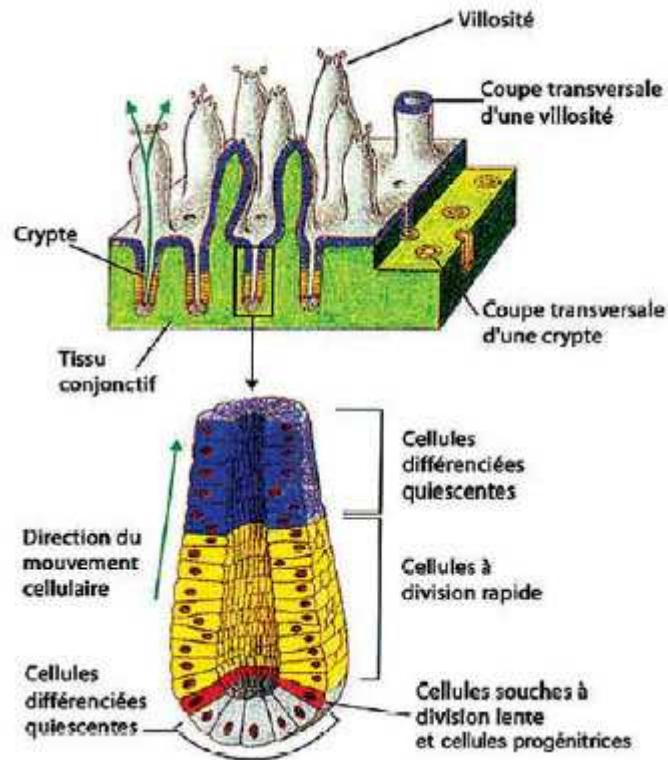
## **II. Structure de l'épithélium intestinal**

### **1. La muqueuse intestinale**

Le passage des molécules et autres ions dans le sang s'effectue au niveau de la muqueuse intestinale. L'épithélium constitue la principale barrière de perméabilité sélective avec la lumière intestinale. Il est composé de plusieurs types de cellules, certaines servent à l'absorption et d'autres à la sécrétion (cellules entérocytes, cellules caliciformes, cellules intermédiaires, cellules neuroendocrines intestinales, cellules M, cellules de Paneth). Ces cellules sont produites dans les cryptes et se déplacent au cours du renouvellement cellulaire jusqu'à l'extrémité des villosités. Les produits captés par ces cellules dans la lumière intestinale passent ensuite dans le sang grâce à la présence d'un réseau capillaire complexe au contact des villosités. [3]

Il existe dans le système gastro-intestinal plusieurs types d'épithélium qui peuvent être répartis en 3 catégories : lâches, modérément lâches ou modérément serrés. La barrière intestinale est un épithélium monocouche prismatique. Ce type d'épithélium se distingue par une polarité des cellules (les deux extrémités sont différentes d'un point de vue biochimique et morphologique). Les cellules intestinales présentent un pôle apical du côté luminal et un pôle basolatéral qui repose sur une membrane basale. Cette dernière est une matrice extracellulaire faisant l'interface entre l'épithélium et le tissu conjonctif. Sa perméabilité régule les échanges entre les deux tissus et permet la cohésion de l'épithélium. [3]





**Figure 3 : Paroi interne de l'intestin adulte : Migration des cellules épithéliales depuis leur "naissance" au fond de la crypte (cellules souches jusqu'à leur disparition au sommet de la villosité [6]**

## **2. Membranes basales**

Les membranes basales, composées de protéines (Collagène, Laminine, Entactine, Perlécane) sont présentes dans tous les types d'épithélium. Elles sont en forme de treillis et leur taille se situe entre 40 et 120 nm. Leur principale fonction est de séparer les épithéliums des tissus conjonctifs. La lame basale joue un rôle important dans la régénération cellulaire dans le cas où l'épithélium serait endommagé. [3]

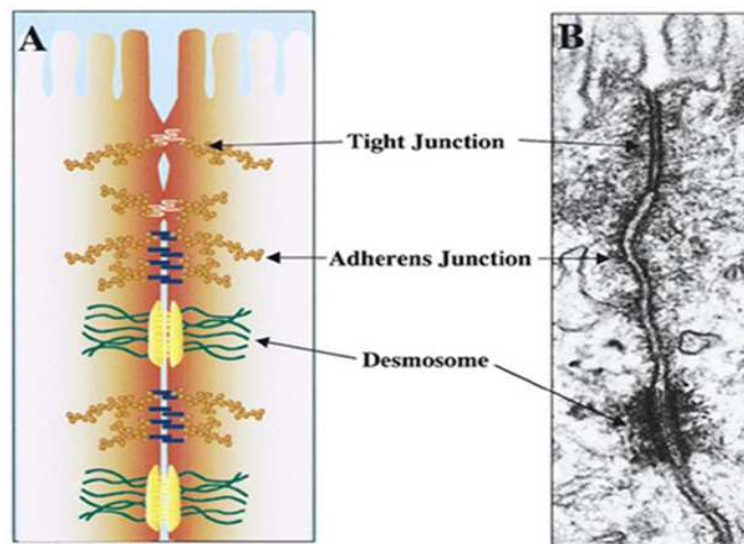
### III. Jonctions cellulaires :

Il existe plusieurs types de jonctions pour une même cellule :

**Jonctions serrées (étanches):** situées au pôle apical, parmi ces rôles: l'assurance de la soudure des cellules et la polarité cellulaire.

**Jonctions d'ancrage :** Elles sont sous deux types : Adhérentes et desmosomes, et hemidesmosomes. Cette jonction a comme rôle l'attachement étroit des cellules entre elles et avec la lame basale en utilisant le cytosquelette.

**Jonctions communicantes :** elles assurent le passage des molécules hydrosolubles entre les cellules adjacentes grâce à des canaux formés par des protéines entre les deux cytoplasmes de deux cellules par des protéines dont le diamètre est inférieur à 2nm. Ces jonctions peuvent s'ouvrir et se fermer selon le pH et le taux de concentration d'ions  $Ca^{2+}$ . [3] [4]



*Cell 2003;112:535-546  
Copyright 2004 from Elsevier 57*

**Figure 4 : classification des jonctions cellulaires [7]**

#### IV. Transport transmembranaire [3]

L'instauration du gradient chimique et électrochimique par transport différentiel entre le pôle apical et basal de la cellule est indispensable au transport transcellulaire alors que la jonction intercellulaire assure le transport para-cellulaire.

**Transport paracellulaire:** Il s'agit d'un transport à travers le complexe de jonction intercellulaire.

**Transport transcellulaire :** c'est une interaction morphologique, physique ou chimique avec la membrane de la cellule. Pour l'interaction morphologique, il s'agit de la pinocytose. Ce transport concerne surtout les grosses molécules. Pour l'interaction physique, il s'agit de la diffusion passive à travers les pores ou par dissolution dans la membrane (il s'agit d'un passage du milieu plus concentré à un milieu moins concentré). L'interaction chimique concerne surtout le transport actif et la diffusion facilitée.

**Transport de l'eau et des électrolytes :** Le transport de l'eau à travers l'épithélium intestinal se fait par un mécanisme passif et suit les mouvements d'ions et de nutriments afin de maintenir l'équilibre osmotique.

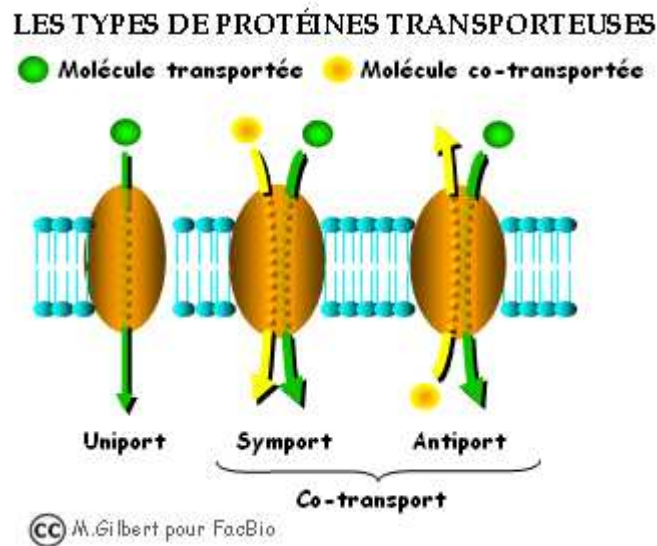


Figure 5 : Les quatre types de transports membranaires [8]

## **B. Absorption et Biodisponibilité**

### **I. Absorption**

L'absorption correspond à l'ensemble des phénomènes intervenant dans le transfert du principe actif médicamenteux depuis son site d'administration jusqu'à la circulation sanguine.  
[9]

#### **1. Voies d'administration**

**Il existe plusieurs voies d'administration des médicaments dont on peut citer les suivantes :**

- Voie orale ou per os
- Voie intraveineuse
- Voie sublinguale
- Voie rectale
- Voie sous-cutanée
- Voie cutanée ou transdermique
- Voie intramusculaire.
- Voie nasale
- Voie inhalée

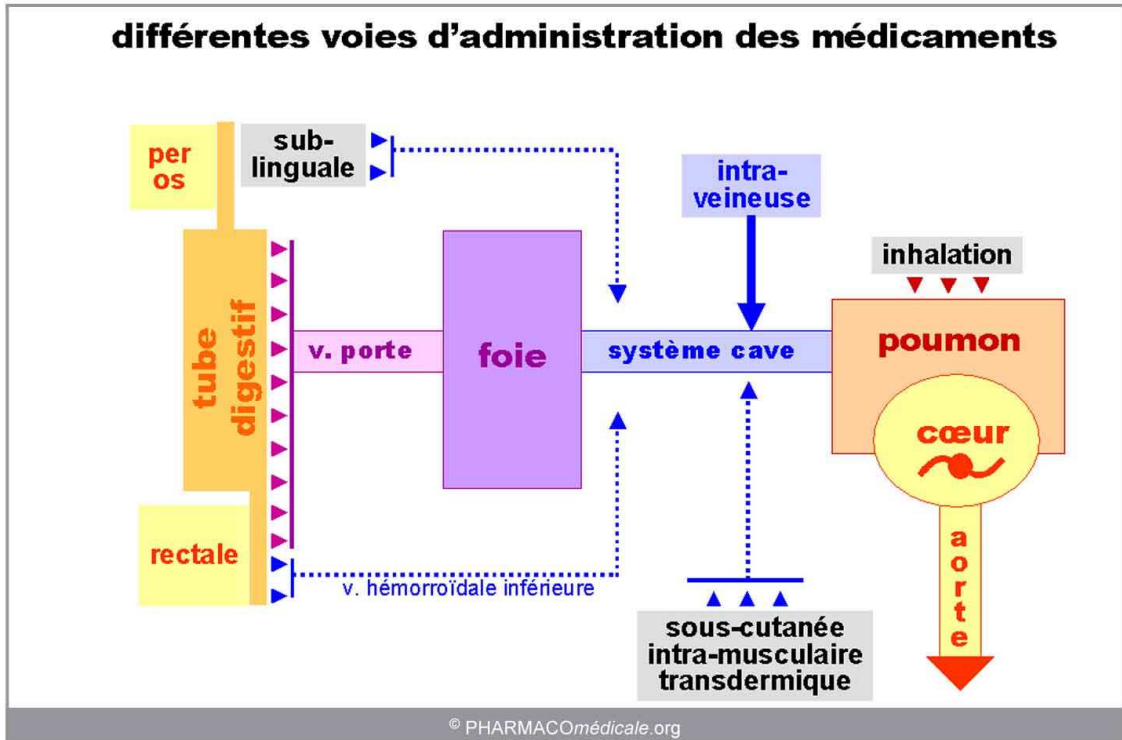


Figure 6 : Différentes voies d'administration des médicaments [10]

## 2. Voie orale

Dans notre travail, on va s'intéresser à la voie orale, puisqu'elle représente la voie la plus importante.

L'ingestion orale est le mode d'administration le plus commun d'un médicament. Ce dernier une fois ingéré, se trouve dans un premier lieu au niveau de l'estomac où il y a une barrière épaisse, une faible surface de contact, faible vascularisation, un pH acide[10] (1,5 à 3, le pH gastrique dépend du taux de production des ions H<sup>+</sup> (qui peut être multiplié par 20 pendant le repas), de l'action tampon ou non des aliments (protéines) et des facteurs de dilution avec les autres composants du suc gastrique [11]) qui favorise l'absorption des acides faibles et une vidange gastrique rapide, ainsi le rôle de l'estomac dans l'absorption est modeste. Après le médicament passe dans le duodénum où, il y'a un pH moins acide, surface plus importante et bile pour dissoudre les principes actifs, ensuite il arrive dans l'intestin grêle avec, une surface

plus importante (villosités), une vascularisation importante, une barrière plus fine, un PH (5 à 8) favorisant l'absorption des bases faibles, une très importante sécrétions biliaires, des biotransformations par les enzymes et la flore bactérienne. Ainsi l'intestin grêle est le site le plus important de l'absorption des médicaments. [10]

#### **a. Mécanismes de passage transmembranaire**

Les médicaments peuvent traverser les membranes soit par des processus passifs ou par des mécanismes impliquant la participation active des composants de la membrane.

La diffusion passive représente le mécanisme le plus important par lequel les molécules de principe actif passent à travers les membranes lorsque ces molécules ne sont pas chargées électriquement. Tels que l'urée, éthanol. [12,13]

La vitesse de diffusion dépend notamment du coefficient de partage lipide/eau, du gradient de concentration, de la surface membranaire, de l'épaisseur de la membrane et du coefficient de diffusion du médicament dans la membrane. [12]

Plus le coefficient de partage est grand, plus la concentration du médicament grande est dans la membrane et plus sa diffusion est rapide. [12]

Pour des composés ionisables, les concentrations à l'équilibre dépendront des différences de pH de part et d'autre de la membrane et du gradient électrochimique de l'ion.

La plupart des membranes biologiques sont relativement perméables à l'eau, soit par diffusion, soit par des canaux qui résultent des différences hydrostatiques ou osmotiques à travers la membrane. La majorité des membranes cellulaires permet le passage uniquement de l'eau, de l'urée et d'autres petites molécules solubles dans l'eau par ce mécanisme. Les médicaments ne traverseront pas la membrane par ce mécanisme si leur poids moléculaire est plus grand que 100-200 Da [13]. Exemple : vancomycine a un poids moléculaire peu élevé (3300) il est eu absorbé par l'intestin [14].

Signalons que la plupart des principes actifs sont des acides faibles ou des bases faibles qui sont présents en solution sous forme ionisée ou non ionisée. Les molécules non ionisées sont plus liposolubles et diffusent plus facilement à travers la membrane cellulaire, telle que la

chlorpromazine, tandis que les molécules ionisées, plus hydrosolubles sont habituellement incapables de pénétrer dans la membrane cellulaire à cause de leur faible solubilité lipidique, tel que la noradrénaline. [15]

Donc la distribution transmembranaire d'un principe actif ionisable est déterminée par sa constante d'acidité (pKa) et par le gradient de pH transmembranaire.

Prenons pour illustrer l'effet du pH sur la résorption d'un principe actif de type acide faible dont le pKa = 4,4 entre l'estomac (pH = 1,4) et le plasma (pH = 7,4). On suppose que la membrane gastrique se comporte comme une simple barrière lipidique qui est perméable uniquement à la forme liposoluble et non ionisée du principe actif acide. Au pH de l'estomac, l'acide est sous forme non ionisée (HA) et pourra donc traverser la membrane. Une fois dans le plasma, l'acide est sous sa forme ionisée (A-) et incapable de retraverser la membrane. Une base faible ( $BH^+ \leftrightarrow B + H^+$ ) aura le comportement inverse. [12]

Exemple : l'acétylsalicylique (pKa = 3.5 ...) est facilement et bien résorbée au niveau de l'estomac. [15]

Lorsque des molécules, telles que les molécules ionisées ou lipo-insolubles, ne peuvent pas traverser la membrane, leur transfert peut être effectué par un processus de diffusion passive facilitée et par transport actif.

La diffusion passive facilitée est un processus de transport impliquant un transporteur qui opère selon un gradient de concentration, sans dépense d'énergie. C'est un processus spécifique qui semble jouer un rôle mineur dans le transport du médicament. [12]

Exemple : glucose [16]

Le transport actif est également un processus de transport impliquant un transporteur mais par lequel les molécules se déplacent contre un gradient de concentration et où de l'énergie est demandée (ATP). Ce mode de transport peut expliquer l'excrétion rénale et biliaire de nombreux médicaments [12]. Exemple : les acides aminés. [16]

## **b. Facteurs influençant l'absorption des médicaments**

### **Le sujet :**

- Vidange gastrique

La vidange gastrique règle la vitesse à laquelle le médicament est transporté jusqu'à l'intestin grêle. Tout facteur susceptible de ralentir ou d'augmenter la vidange gastrique modifie la vitesse de résorption des médicaments, tel que l'exercice physique, l'alimentation, position corporelle et les interactions médicamenteuses ; quand la prise de médicament est associée à un repas, le passage dans l'intestin est retardé. [17]

- motilité intestinale

Lorsque la motilité intestinale est élevée le temps de contact est réduit par conséquent l'absorption est faible et vice-versa (tous les laxatifs altèrent la biodisponibilité des médicaments co-administrés per os). [18]

- Alimentation :

La consommation d'aliments simultanément à l'ingestion de médicaments peut influencer le processus de résorption. En effet, la prise d'un repas entraîne des modifications physiologiques : augmentation du débit sanguin splanchnique, diminution de la vidange gastrique, stimulation de la sécrétion biliaire.

Il est difficile d'établir des règles générales permettant de prévoir l'influence de la nourriture sur la résorption d'un médicament.

Certains médicaments présentent une meilleure résorption lors d'une prise en cours du repas (Ex : la griséofulvine).

Les boissons chaudes augmentent l'absorption car elles augmentent la vitesse de dissolution et de vasodilatation (meilleur drainage du compartiment gastrique vers compartiment sanguin)

Les laitages peuvent former des complexes avec des médicaments (exemple : tétracyclines, et fluoroquinolones...). [19]



- Age

Au cours du vieillissement, il y a :

Une diminution de la sécrétion en acide gastrique

Une diminution de la vitesse de la vidange gastrique

Une diminution de la motilité gastro-intestinale

Une diminution du débit sanguin. [20]

- Traitements associés

Les interactions médicamenteuses peuvent se produire lors d'administration simultanée de plusieurs médicaments, pouvant modifier soit le pH gastro-intestinal soit la vidange gastrique et motilité intestinale. [21]

- Pathologies

Certaines pathologies peuvent modifier le pH gastro-intestinal, la vidange gastrique et la motilité intestinale .exemple : cas d'ulcère gastrique, on aura diminution de l'absorption des médicaments par diminution de la vidange gastrique [22].

- PH digestif

Certains aliments, médicaments ou pathologies peuvent modifier le pH

- Secrétions gastriques :

La P-glycoprotéine (P-gp) est une protéine de la membrane cellulaire exprimée chez l'homme par le gène MDR (multidrug resistance). Elle est présente notamment au niveau de l'intestin (au pôle apical des cellules de l'épithélium, à l'extrémité au contact du lumen), et des cellules endothéliales des capillaires sanguins de la barrière hémato-encéphalique (BHE). C'est un transporteur membranaire qui participe à la protection du milieu intra-cellulaire en rejetant à l'extérieur de la cellule des molécules présentes dans le milieu intra-cellulaire. La P-gp a une fonction de détoxification et de protection située dans des zones " frontières " : intestin, BHE pour la protection du système nerveux central. La glycoprotéine transporte une large variété de substrats qui ont en commun d'être hydrophobes, neutres ou chargés positivement, et ont une masse moléculaire située entre 200 et 1800 Da [23]. Parmi les médicaments transportés

par cette protéine, on trouve des agents anticancéreux, des médicaments cardiaques, des b-bloquants, des inhibiteurs de la protéase VIH, des antibiotiques, des immunosuppresseurs et des analgésiques opioïdes. [24]

<b>Substrats</b>	Losartan	Phénobarbital	Saquinavir
<b>Anticancéreux</b>	Lovastatine	Ranitidine	
Amsacrine	Mibéfradil	Terfénadine	<b>Antifongiques</b>
Colchicine	Phénytoïne		Itraconazole
Docétaxel	Quinine		Kétoconazole
Etoposide	Talinolol		
Imatinib	Vérapamil	<b>Inhibiteurs</b>	
Irinotécan		<b>Anticancéreux</b>	
Ivermectine	<b>Antiviraux</b>	Etoposide	<b>Opioides</b>
Paclitaxel	Amprénavir	Ivermectine	Lopéramide
Téniposide	Indinavir	Tamoxifène	Méthadone
Topotécan	Lopinavir	Vinblastine	
Vinblastine	Nelfinavir	Vincristine	<b>Immunosuppresseurs</b>
Vincristine	Ritonavir		Ciclosporine
Vinorelbine	Saquinavir	<b>Antibiotiques</b>	Tacrolimus
Vindésine	Zidovudine	Azithromycine	
		Clarithromycine	<b>Antidépresseurs</b>
<b>Antibiotiques</b>	<b>Opioides</b>	Doxorubicine	Fluoxétine
Actinomycine	Lopéramide	Erythromycine	Paroxétine
Azithromycine	Méthadone		Sertraline
Ciprofloxacine	Morphine	<b>Cardiovasculaires</b>	
Dactinomycine		Acébutolol	<b>Autres</b>
Daurorubicine	<b>Immunosuppresseurs</b>	Amiodarone	Bromocriptine
Doxorubicine	Ciclosporine	Atorvastatine	Fexofénadine
Epirubicine	Sirolimus	Céliprolol	Jus de pamplemousse
Erythromycine	Tacrolimus	Dipyridamole	Méfloquine
Lévofloxacine		Féلودipine	Progesterone
Mitomycine	<b>Hormones</b>	Lovastatine	Spirolactone
Mitoxantrone	Cortisol	Mibéfradil	Terfénadine
Rifampicine	Dexaméthasone	Nicardipine	
Sparfloxacine	Estradiol	Nifédipine	<b>Inducteurs</b>
Tétracycline	Hydrocortisone	Quinine	Dexaméthasone
	Prednisolone	Simvastatine	Efavirenz
<b>Cardiovasculaires</b>	<b>Autres</b>	Talinolol	Millepertuis
Acébutolol	Cimétidine	Vérapamil	Résépine
Atorvastatine	Dompéridone		Rifampicine
Céliprolol	Fexofénadine	<b>Antiviraux</b>	
Digitoxine	Méfloquine	Indinavir	
Digoxine	Undansétron	Nelfinavir	
Diltiazem		Ritonavir	

Tableau 2. Substrats, inhibiteurs et inducteurs de la P-gp.

Figure 7 : tableau des substrats, inhibiteurs et inducteurs de la P-gp [24]

## Le médicament

- Caractères physico-chimiques

Les médicaments présentent en générale, soit un caractère acide faible ou base faible, ils seront donc susceptibles de s'ioniser en fonction du pH du milieu, et de leur pKA, selon l'équation H/H d'Henderson-Hasselbalch, par conséquent conditionne leur site d'absorption. Les médicaments bases faibles seront ionisés en milieu gastrique et peu ionisés en milieu

intestinal, ce qui favorisera la résorption dans l'intestin, à l'inverse les acides faibles ou non ionisés seront bien absorbés au niveau gastrique.

Exemple : L'aspirine (acide acétylsalicylique) est un médicament acide faible, en milieu acide, dans l'estomac l'aspirine sera faiblement ionisée, cet état de faible ou de non ionisation va lui permettre une bonne résorption au niveau gastrique. [19]

- Hydro/liposolubilité [19]

A cause de la nature lipoprotéique des membranes biologiques, la résorption par transport passif n'aura lieu que pour les molécules liposolubles, cependant son seuil ou degré d'hydro solubilité doit être conservé pour assurer la dissolution du médicament dans la phase aqueuse intra cellulaire.

Les substances peu hydrosolubles sont faiblement résorbées au niveau digestif car la quantité se trouvant en solution est très limitée, donc l'hydro solubilité est un facteur limitant de la dissolution des médicaments au milieu digestif.

Exemple : L'huile de paraffine n'est pas résorbée après prise par voie orale.

- Taille et morphologie de la molécule

La vitesse de transfert d'un médicament est inversement proportionnelle à sa masse molaire : plus l'agitation moléculaire est importante, plus la probabilité d'un transfert rapide à l'intestin de l'organisme est grande, cette agitation diminue avec l'augmentation de la taille des molécules médicamenteuses [19]. Exemple : L-DOPA 17. [23]

- La forme galénique

Elle joue un rôle important dans les différentes phases qui conduisent à la solubilisation du médicament, condition indispensable à sa résorption. Exemple de la phénacétine qui montre que, pour cette molécule, la quantité de médicament et la vitesse de résorption de la

phénacétine dépendent fortement de la taille des particules (ou granulométrie) constituant le comprimé administré. [23]

## **II. Biodisponibilité**

### **1) Définition de la biodisponibilité [24]**

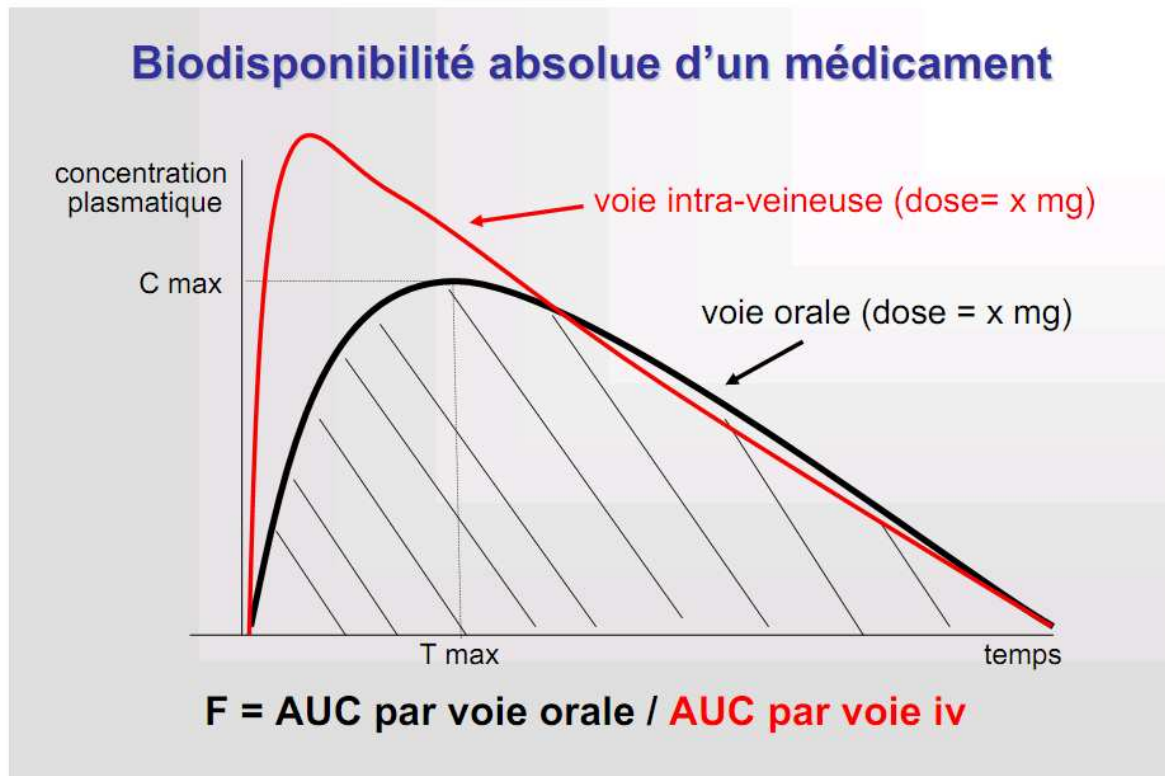
Selon l'European Medicines Evaluation Agency (EMA) la biodisponibilité se définit comme étant la vitesse et l'étendue avec lesquelles la substance active ou sa fraction active est absorbée à partir de sa formulation pharmaceutique et devient disponible au site d'action. Étant donné que le site d'action n'est généralement pas identifié, la biodisponibilité est redéfinie comme étant la vitesse et l'étendue avec lesquelles la substance ou sa fraction active gagne la circulation générale. La biodisponibilité est dénotée par la lettre F; elle s'exprime par un pourcentage (F%). On distingue deux types de biodisponibilité :

La biodisponibilité absolue : c'est le pourcentage de la dose administrée (de 0 à 100%), qui atteint la circulation générale. Son estimation implique la comparaison des aires sous la courbe des concentrations obtenues après une administration extravasculaire (EV) avec celle qui est obtenue avec une voie intraveineuse (IV) qui sert de référence (car présumée être de 100% ce qui est généralement le cas).

La biodisponibilité relative : elle implique la comparaison des aires sous la courbe des concentrations de deux formulations (ou de deux voies d'administration pour la même formulation) sans faire référence à la voie IV.

### **2) Calcul de la biodisponibilité [24]**

La biodisponibilité absolue : on compare l'évolution dans le temps des concentrations plasmatiques d'un médicament après une administration d'une même dose par voie intraveineuse (i.v.) et par une voie extravasculaire (e.x). A partir des courbes représentant l'évolution des concentrations plasmatiques en fonction du temps, on calcule les aires sous la courbe (Area under the curve = AUC) pour les deux formes d'administration.



**Figure 8 : Biodisponibilité absolue d'un médicament [25]**

$$F\% = \frac{AUC_{ev}}{AUC_{iv}} \times \frac{dose_{iv}}{dose_{ev}} \times 100$$

**F : Biodisponibilité**

**AUC : Aire sous la courbe**

**Ev : Extravasculaire**

**Iv : intravasculaire**

En générale les doses sont identiques.

La biodisponibilité relative : on compare aussi les aires sous la courbe entre une forme test et la forme de référence (ref).

$$F\% = \frac{AUC \text{ med T}}{AUC \text{ ref}} \times \frac{\text{dose ref}}{\text{dose med T}} \times 100$$

AUC med T: aire sous la courbe du médicament testé (générique par ex)

AUC ref : aire sous la courbe de la référence ou (princeps)

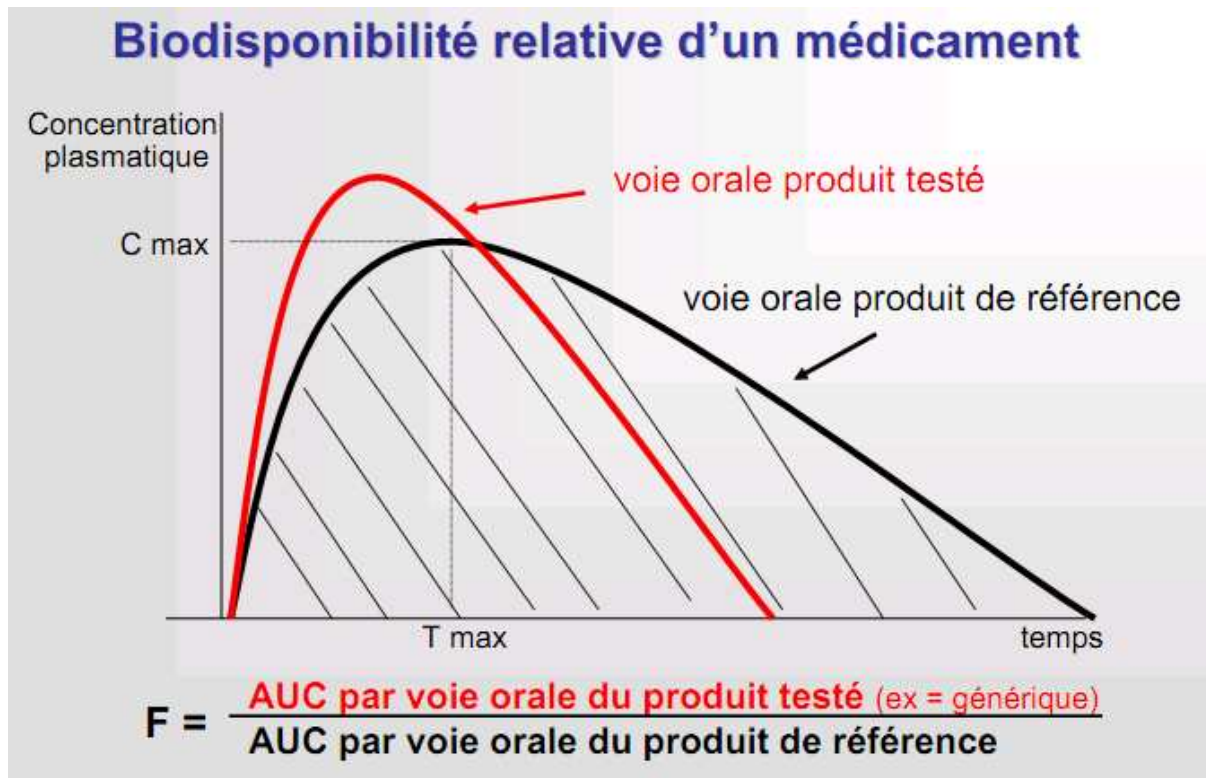


Figure 9 : Biodisponibilité relative d'un médicament [25]

## **C. Bioéquivalence**

### **I. Définition de la bioéquivalence**

La Bioéquivalence est l'absence d'une différence significative de la biodisponibilité d'un principe actif à partir d'une forme pharmaceutique équivalente, administrée à la même dose dans des conditions similaires au cours d'une étude appropriée. [26]

La bioéquivalence correspond à l'équivalence des biodisponibilités des médicaments comparés. [26]

La notion de la bioéquivalence tolère pour ces critères une certaine différence entre une substance de référence et un générique dans la limite d'un intervalle défini par les autorités de santé. [27]

### **II. Etudes de la bioéquivalence.**

#### **1) Etudes cliniques :**

Sont des études randomisées menées selon un plan croisé à 2 séquences séparées d'une période de Wash out, portant sur des groupes homogènes de sujets en bonne santé, volontaires, jeunes (18 à 55 ans), ne prenant aucun médicament, de taille et de poids normaux, non fumeurs (maîtrise de la variabilité interindividuelle), au minimum 12 sujets par étude [27].

Un générique est considéré comme bioéquivalent au princeps si les valeurs des dosages des prélèvements exprimant la quantité et la vitesse de passage du principe actif au niveau systémique (AUC, Cmax, Tmax) ne diffèrent pas plus de 20 à 25 % ( $0,8 < \text{AUC Générique}/\text{AUC princeps} < 1,25$ ). L'importance de la variation de la biodisponibilité dépend de la nature et des paramètres cinétiques du principe actif. [28]

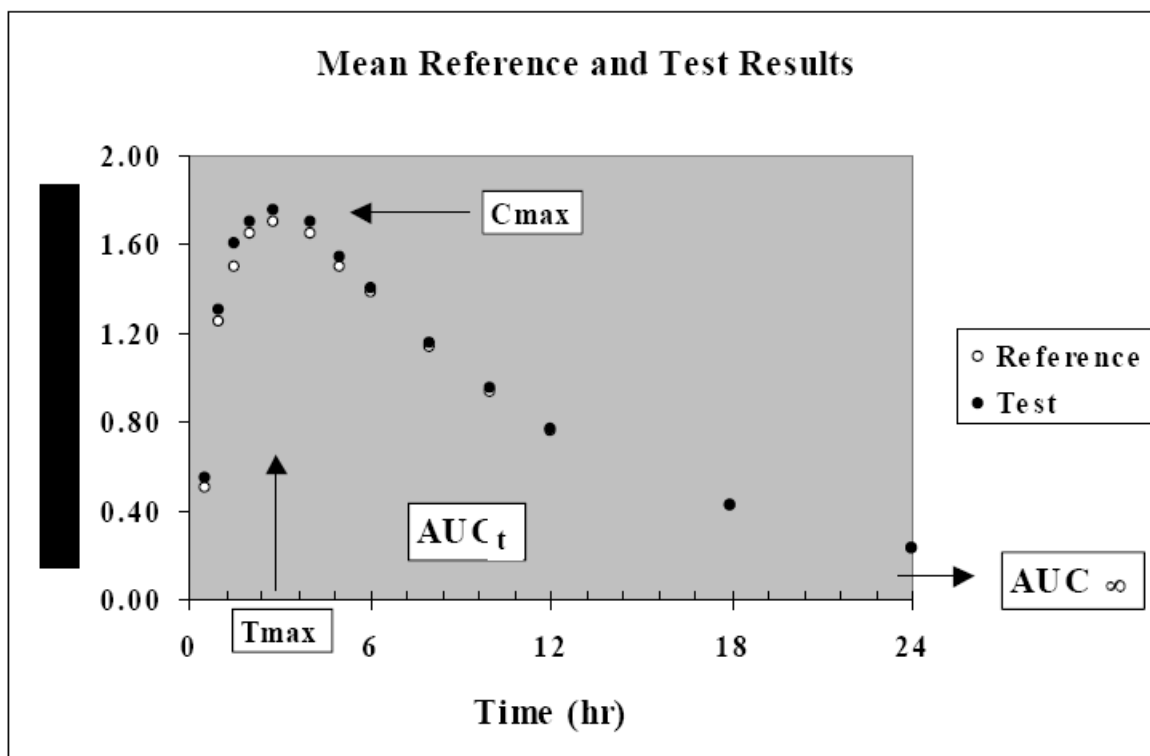


figure 10 : Les paramètres mesurés entre princeps et génériques [27]

### 2) Etudes ex-vivo : [29]

On trouve plusieurs méthodes d'études de la bioéquivalence parmi-elle figure la chambre d'Ussing où on compare le passage du principe actif entre princeps et génériques à travers un tissu d'intestin monté entre deux compartiments, on mesure la quantité de principe actif passé au niveau du compartiment séreux. [30,31]

### 3) Etudes in-vitro : [32,33]

Il s'agit d'une comparaison des profils de dissolution entre princeps et génériques. Le test de comparaison le plus utilisés est celui des méthodes mathématiques modèle indépendants (méthodes des facteurs de relative différence  $f_1$  et de similarité  $f_2$ ) qui 'est adopté par la FDA (Food and Drug Administration) et l'Agence Européenne du Médicament (EMA) comme un critère pour mettre en évidence la similarité entre deux profils in vitro. [32,33]



## D. Test de dissolution

### I. Définition [34]

L'essai de dissolution est un test pharmacotéchnique destiné à déterminer la plus ou moins grande aptitude des formes galéniques à laisser passer en solution, dans un milieu déterminé, le ou les principes actifs qu'elles contiennent. Le passage en solution est apprécié par le dosage du principe actif dans des échantillons prélevés du milieu de dissolution à des intervalles de temps différents.

Les formes pharmaceutiques concernées par les essais de dissolutions sont les formes orales solides à libération immédiate ou modifiée, les dispositifs transdermiques, les microparticules injectables, les capsules molles, les suppositoires et ovules.

### II. Contexte [35]

Essais de dissolution est une exigence réglementaire pour certaines formes galéniques orales solides et est utilisé dans toutes les phases du développement pour la libération du produit et le test de stabilité. Il est un test analytique clé pour la détection des changements physiques dans un principe actif et dans le produit formulé.

Le test de dissolution peut être utilisé dans :

- La préformulation pour l'étude de plusieurs propriétés telles que la solubilité, la vitesse de dissolution.
- Le développement pour permettre d'optimiser la formulation et s'assurer que la libération du principe actif est complète à partir de la forme galénique.
- Comparaison des profils de dissolution
- Contrôle de qualité.
- La corrélation in-vivo/in-vitro.

Les directives de la FDA sur le test de dissolution pour les formes orales solides à libération prolongée incluent l'utilisation des directives du Système de classification biopharmaceutique (BCS) pour les tests de dissolution, qui est basé sur la solubilité et la perméabilité du principe actif. Selon les lignes directrices BCS, le test de dissolution in vitro peut être un outil utile pour prévoir les performances in vivo des médicaments et de réduire potentiellement le nombre des études de biodisponibilité / bioéquivalence nécessaires. Les directives de la FDA sur les changements post-approbation (SUPAC) pour des formes galéniques orales à libération immédiate recommandent l'utilisation du test de dissolution in vitro. Le test doit être robuste et reproductible et mettre en évidence ou de discriminer des changements significatifs dans la performance du produit.

La technique de dissolution spécifique employée est déterminée par les caractéristiques de la forme galénique et la voie d'administration prévue. Pour les formes solides, les méthodologies standards de test de dissolution au niveau de l'industrie sont celles de la pharmacopée américaine (USP) Appareil 1 (panier) et l'appareil 2 (palette). Les comprimés, à libération immédiate, modifiée et à libération prolongée sont généralement testés dans des bains de dissolution classique avec l'appareil à palette tournante tandis que les gélules flottantes sont analysées généralement avec l'appareil à paniers. Autres techniques et équipement de dissolution incluent USP 3 (cylindres à mouvement alternatif), USP 4 (flux continu de cellules), USP 5 (palette-sur-disque), USP 6 (cylindre) et de l'USP 7 (détenteurs alternatif). Le développement d'une procédure de dissolution consiste à sélectionner le milieu de dissolution, le type d'appareil et l'hydrodynamique (vitesse d'agitation) approprié pour le produit.

### **III. La dissolution [35]**

Pour que la plupart des formes galéniques soient efficaces, le principe actif doit être absorbé dans la circulation systémique afin qu'il puisse être transporté à son site d'activité. Ce

processus contribue à la biodisponibilité des substances médicamenteuses et comprend deux étapes: la dissolution et l'absorption (ou perméabilité).

La dissolution est le moyen d'extraction du principe actif de la matrice de la forme solide en solution dans le tractus gastro-intestinal. L'absorption est une étape du transport de la substance médicamenteuse de la lumière gastro-intestinale dans la circulation systémique.

Le test de dissolution est une méthode *in vitro* qui caractérise la manière dont un principe actif est extrait hors d'une forme solide. Elle peut indiquer l'efficacité de dissolution *in vivo*, mais ne fournit aucune information sur l'absorption de la substance médicamenteuse. Les données pharmacocinétiques complètent et fournissent des informations supplémentaires concernant le taux d'absorption du principe actif.

Le choix des conditions *in vitro* appropriés qui simulent les conditions *in vivo* peut conduire à la génération avec succès la corrélation IVIVC ou à moins, les relations *in vitro-in vivo* (IVIVR). Les conditions optimales pour des fins de contrôle qualité peuvent ne pas être applicables pour l'établissement de IVIVC donc il peut être nécessaire d'utiliser deux essais de dissolution pour répondre à différents objectifs tels que les besoins de développement ou d'exigences réglementaires.

#### **IV. Paramètres de la méthode de dissolution *in vitro* [35]**

Une approche logique et systématique tenant compte à la fois des principes scientifiques et réglementaires, doit être suivie lors de l'élaboration d'une méthode de dissolution. Le tableau regroupe les paramètres et conditions communes qui sont évalués au cours de la méthode développement.

Tableau 1 : paramètres de dissolution de l'appareil 1 et 2.

Milieu	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide (HCl 0,1 à 0,001 N)</li> <li>• Tampons: Acétate (pH 4.1 au 5.5, 0,05 M), phosphate (pH 5,8 à 8,0, 0,05 M)</li> <li>• Fluide simulé: Gastrique nourri et à jeun, intestin nourri et à jeun</li> </ul>
Volume du milieu	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 900 ml, 500 ml (pour les dosages faibles)</li> <li>• 1000 ml, 2 L ou 4 L (pour la saturation Sink)</li> <li>• 200 ml ou plus petits volumes (comme justifiée)</li> </ul>
Surfactants	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Polysorbate (Tween™) 20 – 80</li> <li>• Polyoxyethylene sorbitan</li> <li>• N,N-dimethyldodecylamine-N-oxide</li> <li>• Hexadecyltrimethylammonium bromide</li> <li>• Sodium dodecyl sulfate (SDS)</li> <li>• Triton™ X</li> </ul>
Vitesse	<p>palette</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 50 rpm (de préférence pour BCS)</li> <li>• 75 rpm (pour éliminer la variabilité)</li> <li>• 25 rpm (pour des suspensions)</li> <li>• 100 rpm (justification des besoins IR, commune pour ER)</li> </ul> <p>panier</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 50 - 100 rpm</li> </ul>
Température	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 37 °C ± 0.5 °C</li> </ul>

Une méthode robuste de dissolution doit être exempte d'artefacts, rapporte une variation faible à modérée, a une bonne forme de profil et doit être contestée pour relever les résultats de qualité critique. Une fois le milieu et l'appareil sont choisis, la méthode doit encore être optimisée pour des paramètres tels que vitesse d'agitation, la force ionique et concentration en tensioactif, le cas échéant. La méthode finale devrait distinguer entre les formulations possédant encore une reproductibilité et une robustesse suffisantes. Typiquement, le pourcentage de dissolution du PA (jusqu'à 100%) par rapport au temps est tracé. Les profils de dissolution des formes galéniques avec des différences connues de formulation, de fabrication ou de biodisponibilité peuvent aider à identifier un ensemble des milieux et des conditions hydrodynamiques.

### **1. Principe actif [35]**

Les études des propriétés du principe actif (classement BCS, le pKa, la stabilité, la solubilité en fonction du pH / concentration de tensioactif, la taille des particules, et le polymorphisme) qui sont susceptibles d'affecter le comportement en dissolution in vitro doivent être évalués dans le cadre du développement de la méthode.

### **2. Forme galénique [35]**

Les principales propriétés de l'unité du dosage, y compris le type de la forme galénique (comprimé, gélule), le nombre prévu des puissances et le mécanisme de la libération souhaité ainsi que les informations de formulation spécifiques telles que les excipients, les lubrifiants, les désintégrants, la teneur en humidité, le revêtement de surface et des problèmes de stabilité connus (friabilité) sont tous des facteurs importants à considérer. Des variables de fabrication telle que le temps de lubrification du mélange, la force de compression, l'ordre d'addition d'excipient ou PA, les paramètres de séchage et les paramètres de revêtement sont également essentielles pour comprendre les différences de libération de PA entre les formulations.

### **3. Choix du milieu [35]**

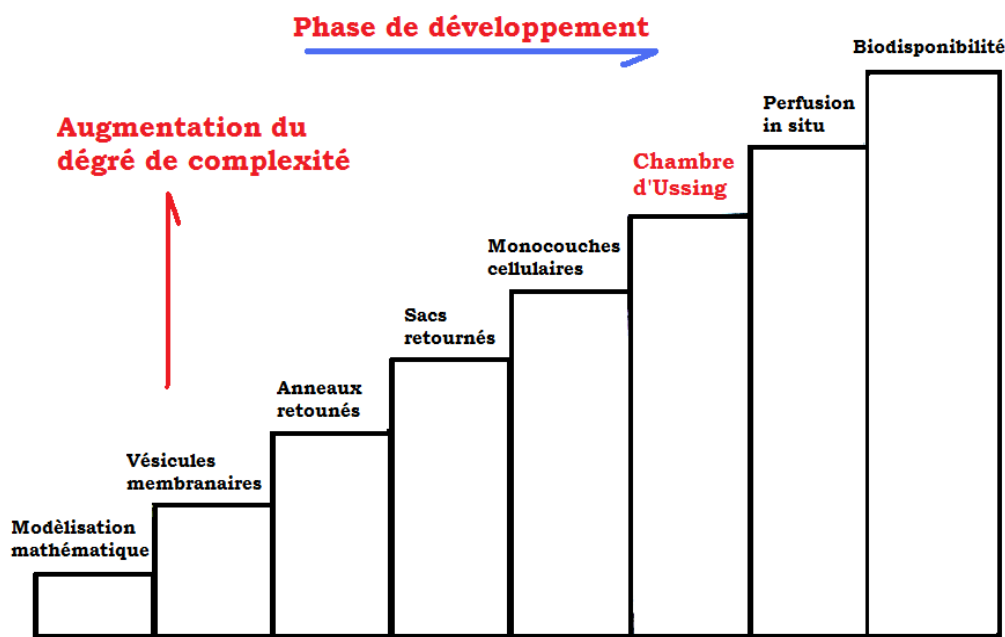
Le choix du milieu est fonction de la solubilité du PA et de la visée thérapeutique (mode d'absorption intestinal ou gastrique), Il faut respecter la condition SINK pour la solubilité du PA dans le volume retenu pour le test ( $cc < 30\%$  de la concentration à saturation). L'usage de l'eau en tant que milieu de dissolution pour les PA solubles n'est pas très conseillé à cause de la source d'eau qui peut influencer le pH et la tension de surface, lesquels peuvent à leur tour influencer sur le PA et les ingrédients.

## **E. Chambre d'Ussing**

### **I. Introduction**

La chambre d'Ussing est une technique *ex vivo*, étudiant le transport transépithélial des électrolytes et molécules à travers les membranes biologiques. La méthode a été mise au point par H.USSING<sup>1</sup> et K.ZERAHN en 1951 qui étudiaient les échanges ioniques à travers la peau de grenouille. [36] Elle présente des avantages par rapport à la culture cellulaire, anneaux retournés et vésicules membranaires.

Aujourd'hui, la méthode de la chambre d'Ussing a été appliquée pratiquement à tous les épithéliums animales, cellules humaines, biopsies, y compris l'appareil reproducteur, exocrines / endocrinien conduits, intestin, voies respiratoires, des yeux et du plexus choroïde. [37]



**Figure 12 : différents technique d'étude du passage des xénobiotiques à travers la membrane biologique.**

## II. Objectifs :

Etude d'un principe actif en fonction :

- de son action sur les propriétés de l'épithélium
- de son mécanisme de transport
- de sa relation concentration passage
- de sa comparaison avec des molécules de référence

## III. Description de la méthode

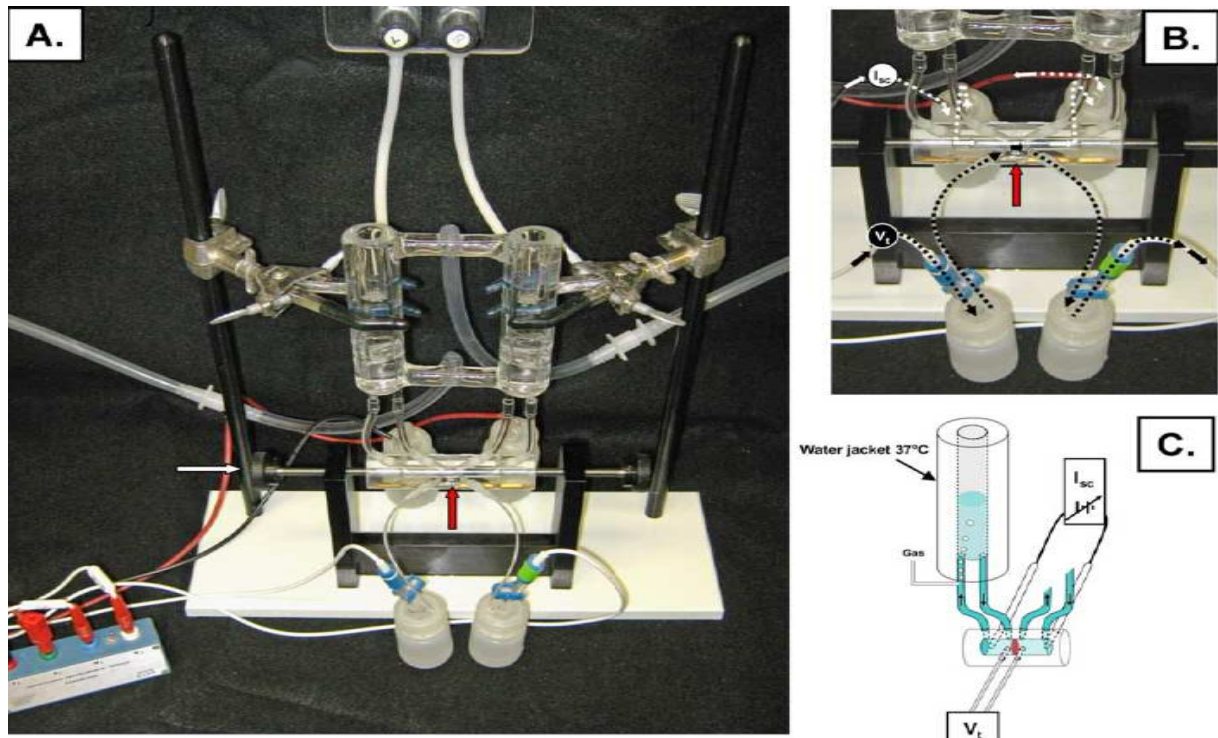
La chambre d'Ussing était développée par le biologiste danois Hans H. Ussing pour comprendre le phénomène de transport actif de NaCl. Il a utilisé la peau de grenouille comme un modèle, car il avait la capacité de déplacer NaCl à partir de la surface de la peau dans l'interstitiel, contre plus de différence de concentration 100 fois, et pour différencier entre le transport actif du passif il a annulé la différence de potentiel de part et d'autre de la



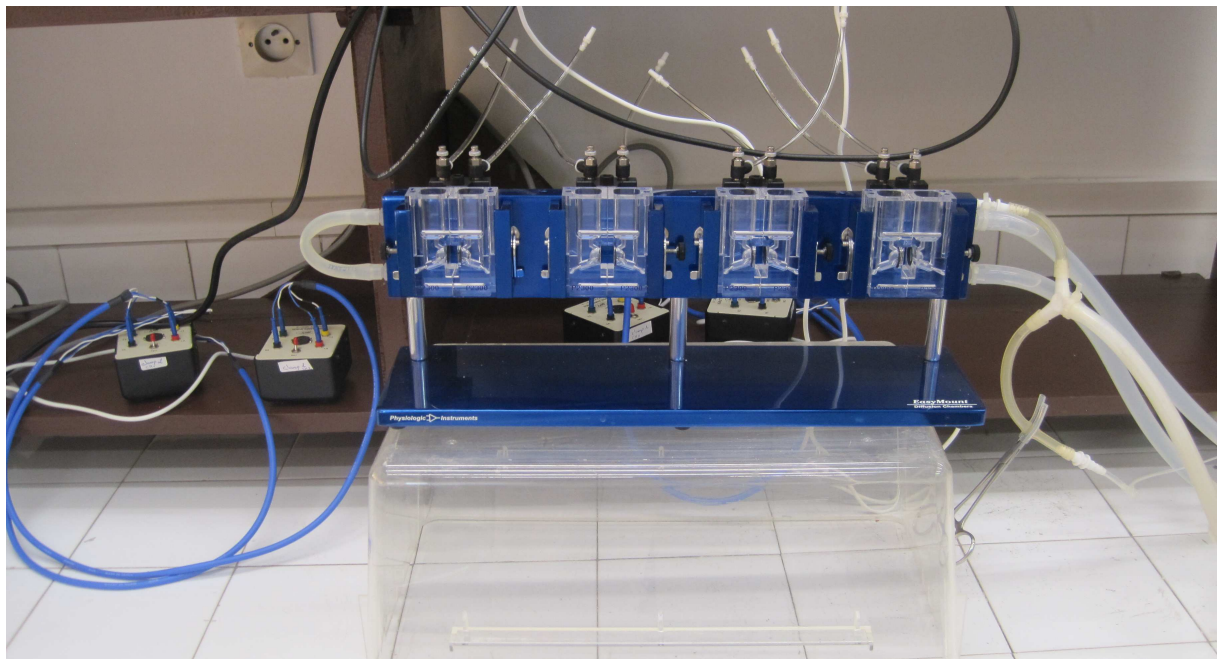
membrane, de manière à supprimer le transport passif des ions pour observer uniquement le flux net actif, image du courant résultant dans les conditions de court-circuit.

Les études en chambre d'Ussing de la muqueuse intestinale ont fourni un grand nombre d'observations pour comprendre les processus de transports transépithéliaux vers une base moléculaire. [37]

A l'origine, les chambres d'Ussing étaient de taille imposante. Certaines de ces chambres sont encore utilisées aujourd'hui (40 à 12 ml de solution de chaque côté de la membrane). La chambre d'Ussing a subi plusieurs modifications et améliorations jusqu'à aujourd'hui pour pouvoir être utilisée sur différents types de tissus notamment des tissus intestinaux. Ces modifications concernent principalement la miniaturisation et l'optimisation de la circulation des fluides à l'intérieur de la chambre. Par exemple la contenance des réservoirs est passée de 40 ml pour les premières chambres à quelques millilitres (de 1 à 4 ml) pour les chambres actuelles. Cependant même si la mécanique a changé, le principe général reste identique.[3]



**Figure 12 :** Photo de la chambre d'Ussing ancienne conception année 1951 [37]



**Figure 13 :** Photo de la chambre d'Ussing de la Faculté de Médecine et Pharmacie de Rabat.

Pour les modèles de la chambre d'Ussing utilisant des segments intestinales, la section intestinale est ouverte et orientée comme une feuille plate pour séparer les deux moitiés de la chambre. La préparation intestinale est située verticalement telle que la couche muqueuse (également désignée sous le nom de la couche apicale ou luminale) fait face à un compartiment de chambre, tandis que la couche séreuse (également désignée sous le nom de la couche basolaterale) fait face à l'autre compartiment de la chambre. Ce système est chauffé par un bain-marie à la température corporelle. Pour les tampons physiologiques, le gaz est un mélange de 95% d'O<sub>2</sub> et de CO<sub>2</sub> de 5% (également connu comme "carbogène") qui oxygène les solutions à un niveau assez élevé de pO<sub>2</sub> (> 400 mmHg) qui est nécessaire pour surmonter le manque d'hémoglobine par l'approvisionnement en sang artériel. Le carbogène fournit également une pCO<sub>2</sub> à peu près équivalente à celle du sang veineux, qui maintient la concentration des bicarbonates HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> au pH physiologique 7.4. La circulation du gaz est généralement fixée à des bulles individuelles à peine perceptibles à l'œil nu afin de réduire l'agitation de chaque côté de la muqueuse sans endommager les tissus. Dans ce type de conception de chambre d'Ussing, il est important de niveler les deux compartiments de sorte que la pression hydrostatique de chaque côté soit identique. La muqueuse intestinale ou monocouche épithéliale présente un potentiel de tension spontanée transépithélial (V<sub>t</sub>), qui pour l'intestin de la souris est typiquement dans la gamme de 1 à 20 mV. La différence de potentiel d.d.p. est mesurée par l'intermédiaire de deux électrodes au calomel reliées à un millivoltmètre. Le tissu est un court-circuité grâce à deux électrodes en platine reliées à un générateur de courant couplé à un microampèremètre. Le «voltage clamp system » constitué du générateur de courant couplé à un micro ampèremètre et au millivoltmètre permet en permanence de mesurer et de moduler les paramètres électriques du tissu.

Le système du voltage clamp permet d'imposer en permanence une d.d.p. de valeur connus. Lorsque cette valeur est maintenue à 0 mV le courant lu est alors égal au courant court circuit I<sub>cc</sub>. En fixant différentes valeurs de d.d.p, et en mesurant le courant correspondant I<sub>i</sub>, on peut établir la courbe I<sub>i</sub> = f(v<sub>i</sub>). Cette courbe, qui doit suivre la loi d'ohm permet de déduire la conductance (G) du tissu. Celle-ci sera exprimée en millisiemens par cm<sup>2</sup> (mS/cm<sup>2</sup>). Un

Siemens correspond à la conductance d'un circuit qui sous 1 volt, laisse passer un courant de 1 A. [37]

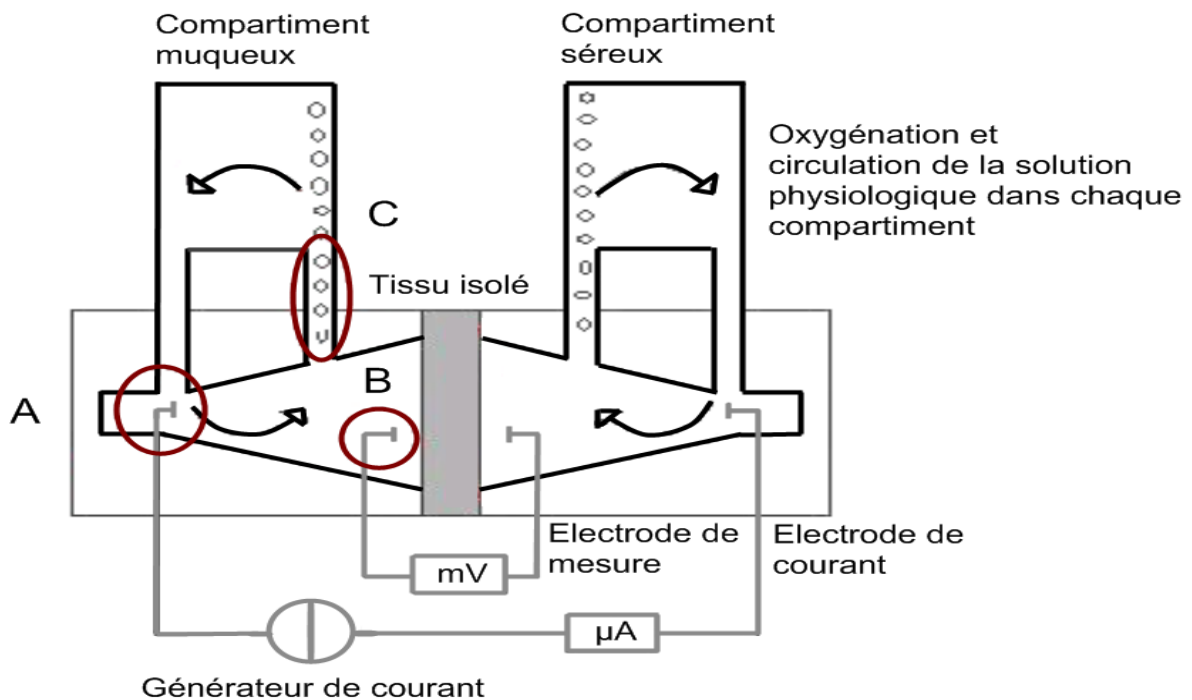


Figure 14 : schéma simplifié de la chambre d'ussing [39]

#### IV. Protocole standard et réactifs [37]

La solution qui remplit les deux compartiments de la chambre d'Ussing est typiquement une solution physiologique de type Ringer(en mM): NaCl 115, 25 NaHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 2,4 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1,2 CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub> 1,2, 0,4 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 mM de glucose à pH 7,4 avec O<sub>2</sub> à 95%: 5% de CO<sub>2</sub> à 37 ° C.

Après le sacrifice, l'intestin du rat est enlevé par dissection. Des précautions doivent être prises pour éviter d'endommager l'épithélium, où le réseau artériel-neurale pénètre la musculature intestinale à la sous-muqueuse. La section intestinale est ouverte longitudinalement le long de la ligne mésentérique ; sera situé dans l'ouverture de la chambre. Après on prélève un segment de l'intestin grêle (jéjunum) que l'on débarrasse de sa couche musculaire lisse externe (strippé) on l'ouvre de telle sorte qu'on obtienne deux faces, une face

muqueuse et une face séreuse, on monte cette membrane entre les deux demi-chambres et on ferme.

## **V. Paramètres étudiés [39]**

La chambre d'Ussing permet d'étudier quantitativement à travers une membrane biologique le passage d'une substance de concentration connue. On introduit la substance à étudier dans un des deux compartiments et on effectue dans l'autre compartiment des prélèvements séquentiels de volume connu qui seront ultérieurement analysés.

La chambre d'Ussing permet simultanément de mesurer en permanence les paramètres électriques caractéristiques de la préparation épithéliale : la différence de potentiel (d.d.p) et le courant de court-circuit ( $I_{cc}$ ) grâce à un appareillage appelé clamp de voltage.

### **1) Tension transépithéliale ( $V_b$ ) ou d.d.p**

En circuit ouvert, la d.d.p du tissu intestinal (exprimée en millivolts) reflète l'asymétrie des charges électriques de part et d'autre du tissu. Elle est mesurée par un millivoltmètre grâce à deux électrodes au calomel reliées aux deux demi-chambres par deux ponts d'agar saturés en KCl.

### **2) Courant de court-circuit ( $I_{cc}$ )**

La d.d.p spontanée tissulaire est annulée en fermant le circuit à l'aide d'électrodes en argent connectés à un micro ampèremètre et reliées aux demi-chambres par deux autres ponts d'agar.

On mesure ainsi un courant de court-circuit ( $I_{cc}$ ) qui est exprimé en micro-ampères par unité de surface tissulaire exposée.

### **3) Conductance (G)**

La conductance tissulaire (G) est une grandeur qui caractérise la perméabilité hydroélectrique du tissu et son intégrité physique. Elle est mesurée expérimentalement grâce au clamp de voltage en imposant une ddp de valeur connue. Lorsque cette valeur  $U_0$  est maintenue à 0 mV, le courant mesuré est alors égal au courant de base  $I_{cc}$ .

En imposant, par ailleurs, une ddp à 1 mV ( $U_i = 1 \text{ mV}$ ), on mesure le courant appelé  $I_i$  qui nous permet de mesurer la conductance tissulaire en permanence durant l'expérience en appliquant la loi d'Ohm.

$$\Delta U = (1/G) \times \Delta I$$

$$U_i - U_o = (1/G) \times (I_i - I_{cc})$$

$$\text{D'où } G = (I_i - I_{cc}) / (U_i - U_o)$$

$$\text{Pour } U_i - U_o = 1, \quad G = I_i - I_{cc}$$

#### **4) Le flux transépithéliale**

Le passage intestinal des électrolytes est quantifié en termes de flux (J) de la manière suivante :

$$J = (\Delta Q / \Delta t \cdot \Delta A)$$

Où :

J = le flux exprimé en quantité de substance transportée par unité de surface intestinale exposée et par unité de temps  $\text{nM/cm}^2/\text{h}$ .

$\Delta Q$  = la différence des quantités de la substance à étudier en un intervalle de temps

$\Delta t$  = l'intervalle de temps

A = la surface intestinale exposée

Après installation du système, un temps de stabilisation variable selon le tissu est nécessaire pour que le flux devienne constant.

L' $I_{cc}$  ou courant de court circuit encore nommé courant de base représente la somme des flux ioniques nets au travers de la préparation intestinale.

Ce sont principalement, les flux nets de sodium, de chlorure et de bicarbonate.

$$\mathbf{J} = \mathbf{J}_{\text{net}}^{\text{Na}^+} + \mathbf{J}_{\text{net}}^{\text{Cl}^-} - \mathbf{J}_{\text{résiduel}}$$

Par convention, une augmentation de la valeur du courant de court-circuit traduit une absorption de cation(s) et/ou une sécrétion d'anion(s) par l'enterocyte.

Dans la pratique, le flux unidirectionnel (muqueux-séreux :  $J_i$  ms, ou séreux-muqueux :  $J_i$  sm) d'un ion ou d'une molécule (i) c'est à dire la quantité de produit (i) en nanomoles passée à travers la membrane de  $1\text{cm}^2$  de surface en 1 heure est déterminée en dosant le perméant dans le compartiment receveur à distant intervalle de temps ( $t_2 - t_1$ ) selon la formule suivante :

$$\mathbf{J}_i \text{ ms} = [(\mathbf{Q}t_2 - \mathbf{Q}t_1) / (\mathbf{A} \times (t_2 - t_1))]$$

$$= (\Delta \mathbf{Q} / \Delta t) \times 1/\mathbf{A}$$

D'où :

$J_i$  ms = flux unidirectionnel muqueux-séreux

$Q_{t_2}$  = quantité de i dans le compartiment récepteur au temps  $t_2$

$Q_{t_1}$  = quantité de i dans le compartiment récepteur au temps  $t_1$

A = surface du tissu exposé au passage du produit en  $\text{cm}^2$

$t_1$  = temps de départ de la mesure du flux en heure

$t_2$  = temps de fin de la mesure du flux en heure

Il est exprimé :

– pour un soluté en  $\text{nM} / \text{cm}^2 / \text{h}$  ;

– pour un ion en  $(\mu\text{A}/\text{cm}^2/\text{h})$ ; ou en  $(\mu\text{Eq}/\text{cm}^2/\text{h})$ .

Le flux est fonction de la concentration du produit (i) dans le compartiment donneur. Pour comparer les capacités de passage entre des molécules il faut s'affranchir de la valeur de la concentration (C) en calculant la perméabilité. Certains auteurs l'expriment en terme de perméabilité apparente ( $P_{\text{app}}$ ) parce qu'un tissu ou même une monocouche cellulaire ne peut

être assimilé(e) à une membrane isotope et idéale dont la structure est invariante dans le temps et dans l'espace.

### 5) La perméabilité apparente

La perméabilité apparente ( $P_{app}$ ) est évaluée à partir du flux mesuré à l'état stationnaire. Elle est exprimée en cm par secondes (cm/s) (5,9). On peut écrire :

$$P_{app} = J_i / C$$

$$P_{app} = (\Delta Q / \Delta t) * 1/A.C$$

D'où :

$P_{app}$  = la perméabilité apparente en *cm par secondes*

C = la concentration initiale en produit (i) du milieu donneur en nanomole/cm<sup>3</sup>.

$J_i$  = le flux mesuré en nanomoles / cm<sup>2</sup> / hr

A = la surface exposée du tissu en cm<sup>2</sup> .

## VI. Applications [39]

### 1. Pharmacocinétique

- passage des médicaments, nutriments, xénobiotiques à travers les barrières biologiques.
- Métabolisme des médicaments, et xénobiotiques.
- Passage des protéines.

### 2. Diagnostic clinique

- Mucoviscidose, Maladies pulmonaires obstructives chroniques.
- Malabsorption des nutriments.
- Étiologie des diarrhées.



### **3. Toxicologie et Environnement**

Passage des pesticides et xénobiotiques à travers les barrières biologiques et les cuticules des plantes, fruits, légumes, insectes... etc.

## **VII. Avantages et inconvénients [40]**

L'avantage de cette méthode est que les quantités de composés utilisées sont faibles et les échantillons recueillis ne sont pas contaminés. Le manque d'innervation et de vascularisation et la perte de viabilité au cours de l'expérience représentent les points négatifs de cette méthode. Un autre inconvénient est le changement morphologique et fonctionnel du tissu au cours du prélèvement et du montage dans les chambres.

## F. La corrélation

### I. DÉFINITIONS [41]

Le terme de La corrélation est fréquemment employé dans les sciences pharmaceutiques et annexes pour décrire la relation qui existe entre les variables. Mathématiquement, la corrélation désigne l'association entre les données quantitatives ou d'une relation entre des variables mesurables. Du point de vue biopharmaceutique, la corrélation pourrait être appelée la relation entre les caractéristiques appropriées de libération in vitro et les paramètres de biodisponibilité in vivo. Deux définitions d'IVIVC ont été proposées par l'USP et par la FDA.

#### 1) Définition de la pharmacopée américaine (USP)

L'établissement d'un lien rationnel entre une propriété biologique, ou d'un paramètre provenant d'une propriété biologique produit par une forme galénique et une propriété physico-chimique ou caractéristique de la même forme galénique.

#### 2) Définition de Food and Drug Administration (FDA)

L'IVIVC est un modèle mathématique prédictif décrivant la relation entre une propriété d'une forme galénique in-vitro et d'une pertinente réponse in vivo. Généralement, la propriété in-vitro est le taux ou le degré de dissolution ou de libération du médicament tandis que la réponse in vivo est la concentration plasmatique du médicament ou la quantité de médicament absorbée.

### II. Niveaux de corrélation [41,42]

Cinq niveaux de corrélation ont été définis dans les orientations IVIVC FDA. La notion de niveau de corrélation est basée sur la capacité de la corrélation de refléter la concentration plasmatique complète du médicament en fonction du temps qui va résulter de l'administration de la forme galénique donnée.

### **1) Niveau de Corrélation A**

C'est le plus haut niveau de corrélation. Il représente une relation point à point entre la vitesse de dissolution in vitro et le taux de passage de la drogue d'une forme galénique in-vivo. Généralement, le taux du médicament absorbé peut être calculé au moyen des techniques selon le modèle, comme Wagner-Nelson procédure ou de Loo-Riegelman. L'objectif de niveau A est de définir une relation directe entre les données in vivo de telle façon que la mesure de la vitesse de dissolution in vitro seule est suffisante pour déterminer le taux biopharmaceutique de la libération de la forme galénique .

### **2) Niveau de corrélation B**

Un niveau B utilise les principes de l'analyse des statistiques. Dans ce niveau de corrélation, le temps de dissolution in vitro du produit est comparée soit avec le temps de séjour in vivo soit avec le temps de dissolution in vivo. Bien que la corrélation de niveau B utilise toutes les données in vitro et in vivo, il n'est pas considéré comme une corrélation point à point.

### **3) Niveau de corrélation C**

Dans ce niveau de corrélation, un point de temps de dissolution (T50%, T90%, etc) est comparé à un paramètre pharmacocinétique telles qu'ASC, Tmax ou Cmax. Par conséquent, il représente un point unique de corrélation et les doses ne reflètent pas la forme entière de la courbe de concentration plasmatique de la drogue, qui est effectivement un facteur crucial pour une bonne indication de la performance des produits à libération modifiée. C'est le plus faible niveau de corrélation comme relation partielle entre l'absorption et la dissolution.

#### **Multiples au niveau de corrélation C**

Un niveau multiple de corrélation C concerne un ou plusieurs paramètres pharmacocinétiques d'intérêt (Cmax, l'AUC, ou tout autre paramètre approprié) corrélé à la quantité de médicament dissous à différents moments du profil de dissolution. Un niveau de corrélation C utilise plusieurs points pour justifier une dispensation de la bioéquivalence, à condition que la corrélation ait été établie au cours du profil de dissolution entière avec un ou plusieurs paramètres pharmacocinétiques d'intérêt.

#### **4) Niveau D de corrélation**

Le niveau de corrélation D est un ordre de classement et d'analyse qualitative et n'est pas considéré comme utile à des fins réglementaires. Ce n'est pas une corrélation formelle mais sert comme une aide à l'élaboration d'une procédure de formulation ou de la transformation.

### **III. Corrélation ex-vivo/in-vitro**

Dans les études ex-vivo, on mesure des paramètres cinétiques comme l'absorption, la perméabilité, par conséquent, on peut appliquer le modèle de la corrélation in-vivo/in-vitro dans la corrélation ex-vivo/in-vitro.

# PARTIE PRATIQUE

## I. Introduction

Les études ex-vivo présente l'étape préliminaire des études de la bioéquivalence. Suite aux résultats d'une étude sur l'amlodipine qui ont montré une différence de profil entre le princeps et les génériques [33], concernant la libération du principe actif et vu la criticité de cette classe thérapeutique, il était judicieux de contrôler l'étape après la dissolution, à savoir l'absorption intestinale des comprimés de l'amlodipine.

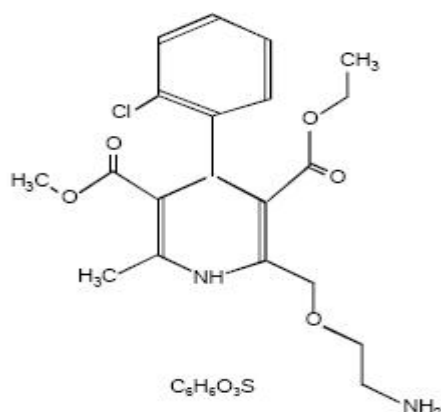
Le but de ce travail est d'étudier l'absorption de l'amlodipine à travers la chambre d'Ussing, puis corrélés les résultats de la perméabilité avec celle du pourcentage de libération du principe actif par le dissolutest

## II. Matériels et méthodes

### 1) Matériels

#### a. Matières premières.

Amlodipine : Bésilate d'amlodipine est une poudre blanche ou presque blanche avec un poids moléculaire de 567,1. Il est légèrement soluble dans l'eau, assez soluble dans l'éthanol facilement soluble dans le méthanol et sa formule développée est la suivante: [43,44]



L'amlodipine de bésilate est formulé sous forme de comprimés blancs à blanc cassé équivalant à 5 et 10 mg d'amlodipine pour administration orale. [44]

Nous avons travaillé avec l'étalon d'amlodipine.

Les spécialités pharmaceutiques d'amlodipine 10mg sont celles mises sur le marché marocain dont un princeps et 6 génériques.

Table 2 : Liste des spécialités commercialisées de l'amlodipine étudiées

Spécialité pharmaceutique	Nature	Laboratoires	N° de lot	Date de péremption
Amlor <sup>®</sup>	Princeps	Pfizer	B390511	05/2014
Amlodipine win <sup>®</sup>	Générique	Maphar	0002	04/2013
Amcard <sup>®</sup>	Générique	Genpharma	AML01042	06/2013
Amovas <sup>®</sup>	Générique	Polymédic	0503110	01/2013
Calcinib <sup>®</sup>	Générique	Pharmaceutical institut	013	09/2013
Dipicor <sup>®</sup>	Générique	Aphric-phar	77	05/2014
Anglor <sup>®</sup>	Générique	Bottu	13301	08/2013

## b. Réactifs

Dans notre thèse on a utilisé :

- Acide chlorhydrique (37%);
- Eau distillée ultra pure Milli Q (qualité HPLC) ;
- Acétonitrile qualité HPLC grade ;
- Acide orthophosphorique ;

- Phosphate disodique ;
- Chlorure de magnésium;
- Chlorure de calcium ;
- Dipotassium hydrogénophosphate;
- Potassium dihydrogénophosphate ;
- Hydrogénocarbonate de sodium ;
- Chlorure de sodium ;
- Glucose;
- Thiopental;

**c. Appareillage**

- Chambre d'Ussing (société WPI, Royaume Uni). Le clamp est équipé de 4 chambres, entouré par un revêtement métallique où circule l'eau chaude pour assurer la température 37°C.
- Appareil HPLC (chromatographie liquide haute performance) de marque DIONEX équipé d'une pompe quaternaire, d'un passeur automatique thermostaté, d'un four pour colonne et d'un détecteur à barrette de diode (DAD)
- Une balance de précision;
- Un pH mètre ;
- Un agitateur magnétique à plaque chauffante ;
- Un bain thermostaté ;



#### **d. Matériel biologique**

On a prélevé un tissu d'intestin des rats mâles Wistar pesant 300-400 g (provenant de l'élevage de l'animalerie centrale de la faculté de médecine et de pharmacie) qu'ont été mis en cage dans des conditions standard du laboratoire avec l'eau de breuvage et de la nourriture régulièrement fourni, dans un cycle de 12-h/12-h lumière/obscurité, à une température de 21-23°C. Les animaux ont été traités en conformité avec les directives de la Communauté européenne sur la base de la déclaration d'Helsinki concernant les soins et l'utilisation des animaux de laboratoire et tous les efforts ont été faits pour minimiser la souffrance animale et le nombre d'animaux utilisés.

### **2) Méthodes**

#### **a. Analyses par chromatographie liquide haute performance.**

Nous avons mis au point une méthode de dosage qu'on a validée.

Conditions chromatographiques

- Colonne Waters RP 18 (250 x 4.6 m) (5 id)
- Phase mobile : Tampon phosphate (phosphate disodique 25mM ajusté au pH 4,5 par l'acide orthophosphorique)/Acétonitrile : 60/40 : v/v).
- Le débit est fixé à 1ml/min.
- La colonne est maintenue à température de 25°C,
- La détection est effectuée à une longueur d'onde de 237 nm.
- Volume injecté est de 40 µl

#### **b. La Chambre d'Ussing**

On a étudié l'absorption de l'amlodipine sur des rats Wistar . Les rats sont mis à jeun la veille de l'expérience, les rats seront par la suite sacrifiés par une forte dose de Thiopental sodique (60 mg/kg). Le jéjunum prélevé sera strippé (enlever les graisses, les plaques de Peyer) on le coupe à partir de la ligne mésentérique, on pose les segments dans des inserts de façon que la

couche muqueuse fait face à une demi-chambre (compartiment muqueux) et la couche séreuse face à l'autre demi-chambre (compartiment séreux).

Les deux compartiments sont remplis par 4ml de la solution Ringer (NaCl 115, 25 NaHCO<sub>3</sub>-, 2,4 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1,2 CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub> 1,2, 0,4 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 10 mM de glucose à pH 7,4 qu'on ajusté par l'acide orthophosphorique, ils sont oxygénés par le carbogène (95% de O<sub>2</sub> et 5% CO<sub>2</sub>), la chambre est maintenue à 37°C dans un bain-marie thermostaté, la surface de l'intestin est égale 0.5cm<sup>2</sup>.

On fait broyer un comprimé et on le solubilise dans 20 ml de la solution HCl 0.01N, après 45 min de solubilisation on filtre (0.45µm).

Au début on enlève 400µl de la solution du Ringer du compartiment muqueux et on remplace par 400µl de la solution préparée de l'amlodipine. Après on fait prélever 400µl du compartiment séreux et on remplace par 400 µl de la solution de Ringer à des intervalles de temps réguliers 30 min, 1h, 2h, 3h et 4h.

### **c. Analyse statistique**

L'analyse statistique a été faite par le logiciel SPSS avec le test ANOVA (analyse des variances) et test de Bonferroni.

Les valeurs ont été exprimés en moyenne +/- écartypes pour les variables quantitatives de la perméabilité. n=4 ou n=3

La significativité des résultats est exprimé à p<0.05.

## **III. Résultats et discussion**

### **1. Validation de la méthode de dosage par HPLC**

La validation a été réalisée suivant « le guide de validation analytique » publié dans la revue STP Pharma Pratique [45] et les lignes directrices de l'ICH Q2 [46]. Elle permet de vérifier la linéarité, les seuils de détection et de quantification, la fidélité, l'exactitude et la sélectivité de la méthode du dosage.

Le traitement statistique des résultats a été effectué à l'aide du logiciel Excel.

La linéarité a été établie au moyen de la courbe d'étalonnage en utilisant des sections standard de référence de l'amlodipine dans un domaine de concentrations de 0.31 ; 0.62 ; 1.25 ; 2.5 et 5 µg/ml d'amlodipine qui correspond respectivement à 50% , 75%, 100%, 125% et 150% de la concentration théorique. La linéarité a été évaluée par les résultats de 15 injections.

L'exactitude a été évaluée par les résultats de l'injection de trois solutions de chacune des concentrations 0.31, 0.62, 1.25, 2.5, 5 µg/ml d'amlodipine bésilate. (n = 15)

La répétabilité a été déterminée avec 6 injections de la solution à 1.25 µg/ml d'amlodipine bésilate de la série du 1<sup>er</sup> jour. Pour la fidélité intermédiaire, nous avons étudiée sur un ensemble de données brutes de 3 séries possédant chacune 6 mesures (réalise dans des jours différents) d'une solution à 1.25 µg/ml d'amlodipine bésilate ce qui correspond à 100% de concentration théorique.

#### **a. Linéarité**

La linéarité permet de démontrer qu'il existe une relation linéaire entre les concentrations en amlodipine et les aires.

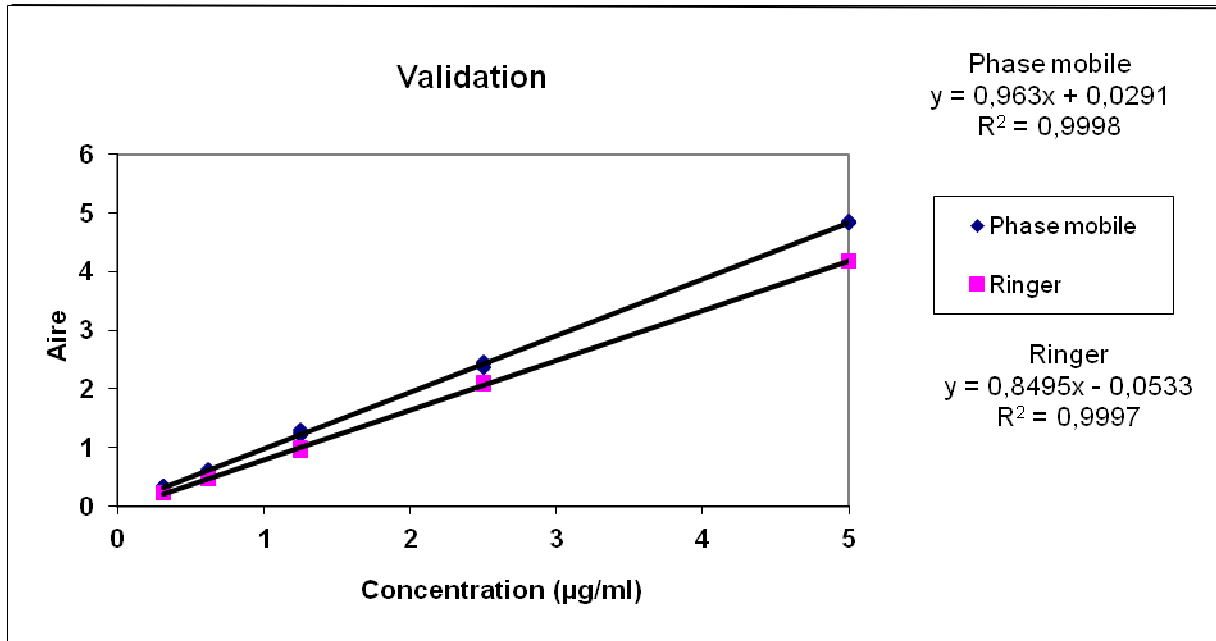
A partir d'une solution mère de 1mg/ml on a préparé cinq concentrations 5 ; 2.5 ; 1.25 ; 0.62 ; 0.31 µg/ml par la phase mobile et cinq d'autres dans le Ringer

La linéarité a été évaluée à partir de 5 concentrations (5 ; 2,5 ; 1,25 ; 0,62 ; 0,31 µg/ml) avec 3 répétitions indépendantes pour chacune de ces valeurs.

Table 3 : données utilisées pour démontrer la linéarité de la procédure d'analyse

Essai	Concentration (µg/ml)	aires sous la courbe	
		Phase mobile	Ringer
j1	0,31	0,33	0,22
j2	0,31	0,33	0,225
j3	0,31	0,33	0,23
j1	0,62	0,61	0,465
J2	0,62	0,61	0,47
j3	0,62	0,62	0,48

j1	1,25	1,29	0,96
j2	1,25	1,22	0,96
j3	1,25	1,25	0,99
j1	2,5	2,44	2,09
j2	2,5	2,45	2,11
j3	2,5	2,38	2,11
j1	5	4,86	4,18
j2	5	4,84	4,19
j3	5	4,84	4,19



**Figure 15 : courbes d'étalonnage de l'amplodipine dans la phase mobile et dans la solution Ringer**

$Y = 0.963X + 0.0291$  pour la phase mobile

$Y = 0.8495X - 0.0533$  en solution Ringer

Où : X est la concentration en  $\mu\text{g/ml}$

Y est l'aire sous la courbe.

On constate que les aires obtenues dans la solution Ringer sont inférieures à ceux de la phase mobile, cela est dû à la composition de la solution Ringer en sels qui fait intervenir la force ionique ce qui conduit à une interférence avec celle de la phase mobile.

Les coefficients de corrélation  $R^2$  dans la phase mobile et le Ringer sont respectivement de 0.9998 et 0.9997.

- Test de l'existence d'une pente significative (F1)

La dépendance linéaire est testée par le F de Fisher au seuil de confiance de 95%. Si le test n'est pas significatif, la pente est égale à zéro. Par contre, si celui-ci est significatif, la pente est différente de 0. Si le F calculé est supérieur au F de la table au degré de liberté (1, N-2) N étant le nombre total d'observation (ici 15), le test est significatif.

F calculé (phase mobile et Ringer) = 12987 ;

F (0,05 ; 1 ; 13) = 4,67

Comme 1298 est supérieur à 4,67, la pente est significative, c'est-à-dire différente de 0. ( $p < 0.05$ )

- Test de validité de l'ajustement de la droite

Le test de validité de la droite d'ajustement est réalisé par un test de F Fisher. Si le critère F calculé est inférieur au F de la table aux degrés de liberté (0,05 ; k-2 ; N-K), le test n'est pas significatif. La dispersion due à l'ajustement de la droite est considérée comme validé.

F calculé (phase mobile) = -4,0074 ; F calculé en (Ringer) = -3,4799

F (0,05 ; 3 ; 10) = 3,71 en phase mobile et en solution Ringer.

Puisque -4,0074 est inférieur à 3,71 et aussi -3,4799 est inférieur à 3,71, le test est donc significatif et l'ajustement est considéré comme valide. ( $p > 0,05$ )

- Test d'existence de l'ordonnée à l'origine

Un test de Student est effectué pour déterminer si la droite de régression passe par l'origine. Si le critère calculé est supérieur au t de la table de Student à (N-2) degrés de liberté, le test est significatif et la valeur de l'ordonnée à l'origine est considérée comme statistiquement différente de 0.

Pour la phase mobile :

$$t \text{ calculé} = 0,000$$

$$t(13) = 2,160$$

$$t \text{ calculé} < t \text{ tabulé} ; p > 0,05$$

L'ordonnée à l'origine n'est pas significativement différente de 0 au seuil de probabilité  $\alpha=5\%$ .

Pour la solution Ringer

$$t \text{ calculé} = 2,6088$$

$$t(13) = 2,1600$$

$$T \text{ calculé} > t \text{ tabulé} ; p > 0,05$$

L'ordonnée à l'origine est significativement différente de 0 au seuil de probabilité  $\alpha=5\%$ .

### **b. Exactitude**

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur de la concentration réelle d'un échantillon reconstitué et la valeur de concentration mesurée par dosage.

L'étude est effectuée sur l'ensemble des meures brutes. Cet ensemble est transformé en un ensemble de rendements : la concentration calculée est divisée par la concentration réelle, multipliée par cent.

L'intervalle de confiance du recouvrement moyen en phase mobile IC est [100,7 ; 105,1]. On peut conclure que la méthode est exacte.

L'intervalle de confiance du recouvrement moyen dans la solution de Ringer est de :[98,8 ; 102,5]. On peut conclure que la méthode est exacte.

### **c. La fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire).**

La fidélité de la méthode du dosage est exprimée par le coefficient de variation (CV %) obtenu en effectuant le rapport entre l'écart-type et la moyenne des réponses. La méthode est considérée comme fidèle si le CV est inférieur à 2%.

La répétabilité en phase mobile, le CV est 1,9%.

La répétabilité en solution Ringer, CV est 1,3%.

Le CV de la fidélité intermédiaire, en phase mobile est 2,3.

Le CV de la fidélité intermédiaire, en solution Ringer est 2,8.

La méthode est considérée comme fidèle.

### **d. Seuils de détection et de quantification**

Les seuils de détection et de quantification sont estimés respectivement à 0.048 $\mu$ g/ml et 0.19  $\mu$ g/ml.

## **2. Optimisation de la chambre d'Ussing**

Avant qu'on ait commencé l'étude, on a effectué en premier lieu des essais pour savoir la concentration d'amlodipine à utiliser, on a dissous un comprimé d'amlodipine de 10 mg dans 20 ml de la solution Ringer on a mis les quantités 0.4, 0.8, 1.2 et 1.6 ml de cette solution d'amlodipine dans le compartiment muqueux ,chacune dans une chambre de la chambre d'Ussing (après qu'on enlève une quantité égale de la solution Ringer) et ainsi on va avoir les concentration 50 $\mu$ g/ml, 100  $\mu$ g/ml et 150  $\mu$ g/ml, 200 $\mu$ g/ml dans chaque compartiment muqueux, après on prélève 0.4ml de chaque compartiment séreux (après on rajoute une quantité égale de solution Ringer) à des intervalles de temps de 0.5, 1, 2, 3, et 4h pour chaque concentration, à la fin on les a dosé par HPLC et on a eu des concentrations détectables. En deuxième lieu on a effectué des dissolutions des différents comprimés en utilisant le test de

dissolution avec les conditions de la pharmacopée américaine, (0.01N d'HCl, 500 ml et 75 rpm), après 45 minutes on a fait des prélèvements de chaque bol du dissolutest qu'on dépose dans le compartiment muqueux pour étudier le passage du principe actif à travers l'intestin mais malheureusement on a pas trouvé assez de concentrations détectables dans la HPLC.

Au terme de ces résultats on a opté de travailler avec concentration 50µg/ml dose qui a été déjà testé lors des études préliminaires, afin d'éviter de saturer le tissu d'intestin.

On solubilise un comprimé de 10 mg pour chaque spécialité dans 20 ml d'HCl, on agite pendant 45 minutes et avant de mettre la solution de la chambre d'Ussing on a dosé par HPLC pour contrôler le pourcentage de dissolution de chaque solution. après dosage par HPLC le pourcentage de dissolution de l'amlodipine a dépassé 85%.

### 3. Résultats de la chambre d'Ussing

Les résultats de l'absorption, de flux et de la perméabilité sont présentés des les tableaux suivants.

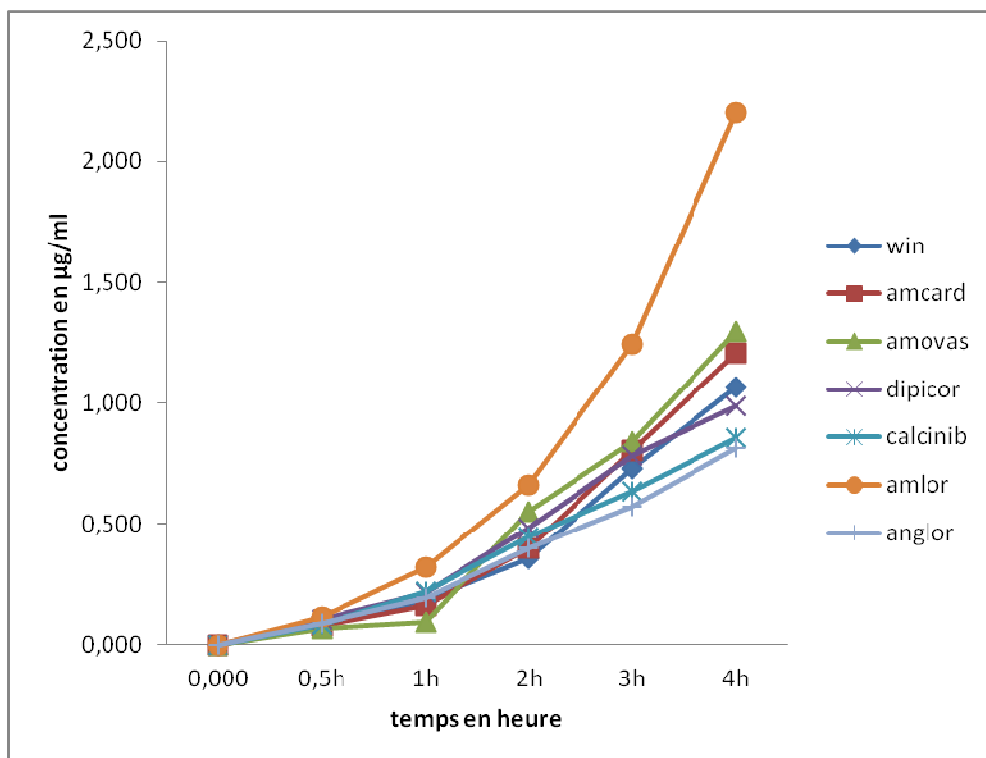
#### a. Résultats de l'absorption en µg/ml

Tableau 4 : Résultats de l'absorption de l'amlodipine des différentes spécialités à travers la chambre d'Ussing

	prineps			Génériques			
	Amlor <sup>®**</sup>	Amcard <sup>®*</sup>	Amovas <sup>®*</sup>	Dipicor <sup>®*</sup>	Calcinib <sup>®**</sup>	Amlodipine	
						Win <sup>®*</sup>	Anglor <sup>®**</sup>
30min	0,117	0,080	0,069	0,105	0,085	0,080	0,090
1h	0,323	0,163	0,094	0,215	0,217	0,186	0,195
2h	0,663	0,400	0,550	0,485	0,447	0,356	0,399
3h	1,244	0,802	0,842	0,783	0,637	0,729	0,573
4h	2,201	1,207	1,298	0,985	0,855	1,068	0,812

\* n=3 ; \*\* n=4





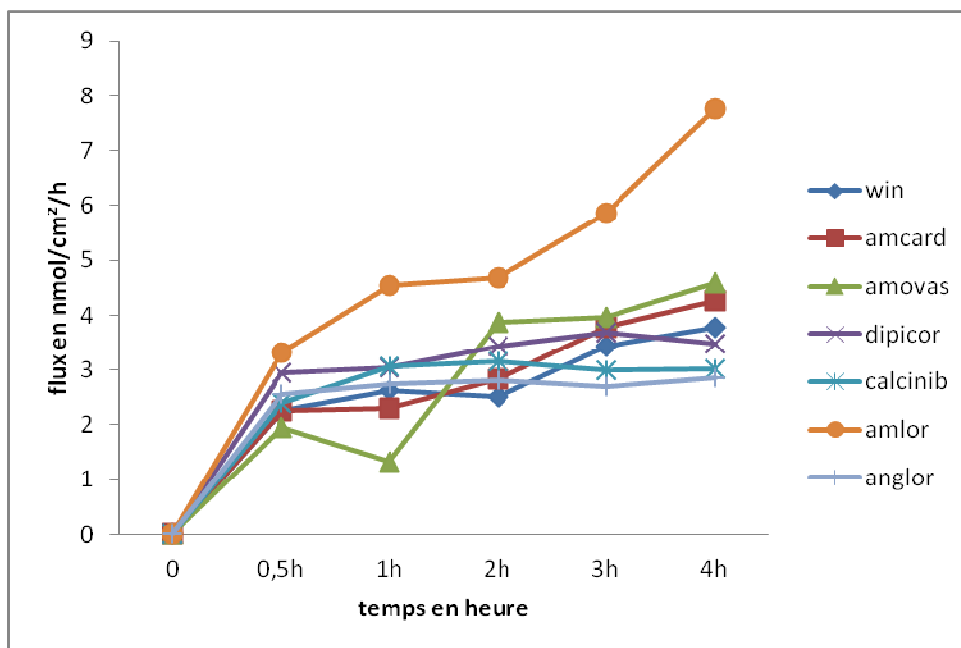
**Figure 16 : profils d'absorption des comprimés d'amlodipine 10 mg des génériques et princeps à travers la chambre d'ussing en fonction du temps**

**b. Résultats du flux muqueux séreux (Jms) en nmol/cm<sup>2</sup>/h.**

$$J_{ms} = J_i \text{ ms} = [(Q_{t_2} - Q_{t_1}) / (A \times (t_2 - t_1))]$$

**Tableau 5 : Résultats du flux de l'amlodipine des différentes spécialités à travers la chambre d'Ussing exprimés en nmol/cm<sup>2</sup>/h**

	Princeps		Génériques				Amlodipine	
	amlor <sup>®</sup>	amcard <sup>®</sup>	amovas <sup>®</sup>	dipicor <sup>®</sup>	calcinib <sup>®</sup>	win <sup>®</sup>	anglor <sup>®</sup>	
0,5h	3,315	2,246	1,958	2,955	2,385	2,257	2,551	
1h	4,550	2,294	1,321	3,032	3,068	2,620	2,748	
2h	4,674	2,825	3,880	3,420	3,153	2,508	2,813	
3h	5,851	3,769	3,962	3,683	2,995	3,427	2,694	
4h	7,762	4,256	4,579	3,473	3,017	3,768	2,864	



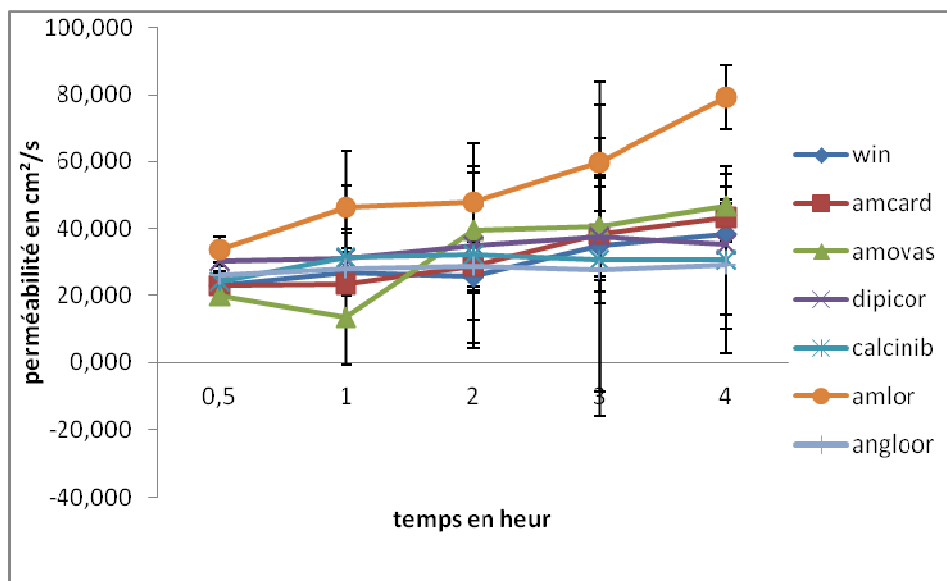
**Figure 17 : profils du flux des comprimés d’amlodipine 10 mg des génériques et princeps à travers la chambre d’ussing en fonction du temps**

**c. Résultats de la perméabilité en cm<sup>2</sup>/s**

$$P_{app} = J_i / C$$

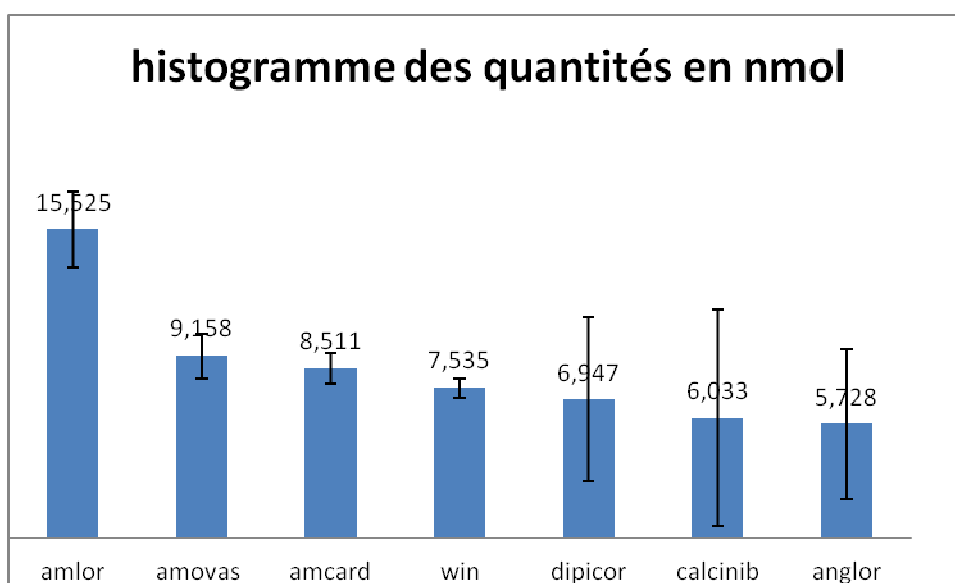
**Tableau 6 : Résultats de la perméabilité de l’amlodipine des différentes spécialités à travers la chambre d’Ussing exprimés en nmol/cm<sup>2</sup>/s**

	0,5h	1h	2h	3h	4h
amlor®	33,835 ± 3,861	46,443 ± 6,481	47,713 ± 0,924	59,73 ± 7,442	79,237 ± 9,723
amcard®	22,929 ± 3,593	23,415 ± 3,385	28,832 ± 7,229	38,478 ± 1,368	43,44 ± 3,993
amovas®	19,991 ± 12,057	13,481 ± 10,85	39,602 ± 11,218	14,672 ± 14,672	46,74 ± 23,237
dipicor®	30,162 ± 3,076	30,952 ± 7,887	34,91 ± 30,476	37,595 ± 46,263	35,456 ± 21,028
calcinib®	24,342 ± 2,025	31,314 ± 31,819	32,188 ± 26,452	30,57 ± 46,505	30,794 ± 27,89
amlodipine					
win®	23,042 ± 0,783	26,748 ± 6,171	25,604 ± 12,788	34,981 ± 10,271	38,46 ± 2,438
anglor®	26,037 ± 2,91	28,051 ± 6,257	28,719 ± 7,819	27,499 ± 9,827	29,235 ± 19,233

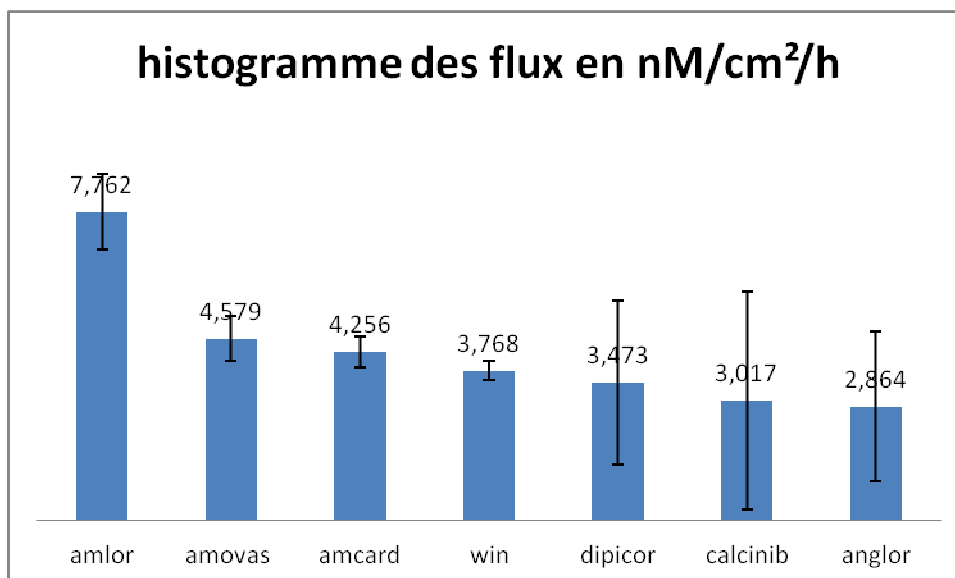


**Figure 18 : profils de la perméabilité des comprimés d’amlodipine 10 mg des génériques et princeps à travers la chambre d’ussing en fonction du temps**

**1) Discussion**



**Figure 19 : qunatité absorbée des génériques et princeps jusqu’à 4h**



**Figure 20 : flux des génériques et princeps jusqu'à 4h**

L'intestin chez les rats diffère de celui l'homme par l'absence des valvules conniventes et par sa petite longueur [47]. Le tissu d'intestin des rongeurs présente le modèle de l'étude de l'absorption des médicaments à travers la chambre d'Ussing.

L'amlodipine présente une bonne solubilité et une bonne perméabilité, car il appartient à la classe 1 dans la classification BCS [48]. L'amlodipine n'est pas influencé par le mécanisme d'efflux par la glycoprotéine P, vu qu'il n'est pas un substrat de cette protéine membranaire [23]. A partir de ces données l'amlodipine passe facilement l'intestin.

A partir de la concentration 50 µg/ml soit la quantité 32.671 nmol qu'on a déposée dans le compartiment muqueux, on a trouvé au bout de quatre heure une concentration maximale de 2.202 µg/ml dans le compartiment séreux. Cet ordre de concentration est trouvé dans autre travail réalisé sur le passage de mitotane à travers la chambre d'Ussing (comparaison entre le mitotane poudre et en émulsion) [31].

On constate que la quantité absorbée de l'amlodipine au bout de quatre heure est de 15.525nmol pour Amlor, alors que pour les autres spécialités elle est de 9.158 pour Amovas, 8.511 pour amcard, 7,353 pour amlodipine Win, 6,947 pour Dipicor, 6,033 pour Calcinib, et 5,727 pour Anglor. On voit que la quantité diffusée d'Amlor est supérieure à deux fois celle

d'amlodipine Win, Dipicor, Calcinib, Anglor, presque égale à deux fois celle d'Amcard, et Amovas[30,31].

### Etude statistique des résultats de la perméabilité.

L'étude statistique a été réalisée par le logiciel SPSS, test d'ANOVA pour l'étude des variances et test de Bonferroni pour la comparaison multiple. Les résultats sont présents ci-dessous

#### ANOVA

Table 7 : tableau des résultats statistiques

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	2294,110	6	382,352	4,114	,004
Intra-groupes	2602,261	28	92,938		
Total	4896,371	34			

#### Bonferroni

#### Comparaison multiple

Princeps générique	Différence de moyennes (I-J)	Erreur standard	Signification	Intervalle de confiance à 95%	
				Borne inférieure	Borne supérieure
Amlor* Amlodipine Win*	23,62460*	6,09714	,012	3,2577	43,9915
Amcard*	21,97280*	6,09714	,025	1,6059	42,3397
Amovas*	21,33480*	6,09714	,033	,9679	41,7017
Dipicor*	19,57660	6,09714	,070	-,7903	39,9435
Calcinib*	23,55000*	6,09714	,013	3,1831	43,9169
Anglor*	25,48340*	6,09714	,005	5,1165	45,8503

D'après ces résultats on trouve qu'il y a une différence significative entre le princeps et les génériques, alors que entre il n'y a pas de différence. (La différence moyenne est significative au niveau 0.05).

Cette différence de perméabilité est peut être due au procédé de fabrication soit.

Dans un travail réalisé dans une autre thèse [33], on a trouvé que la libération de l'amlodipine dans le dissolutest présente un profil similaire entre génériques étudiés et le princeps sauf Amovas\* qui présente une vitesse de libération retardée.

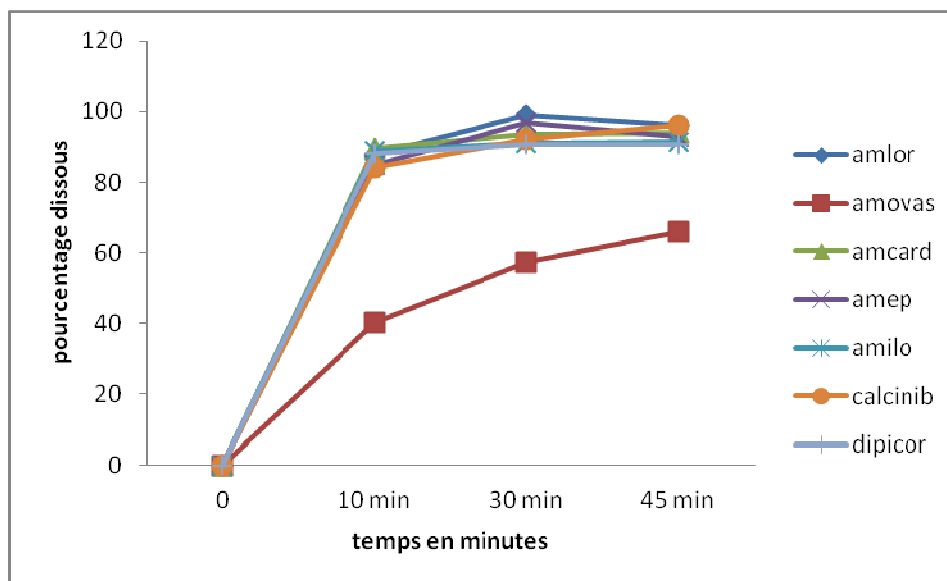
#### 4. Corrélation

Pour cette corrélation on va adopter une corrélation niveau A qu'est une corrélation point à point, entre les données de l'absorption de l'amlodipine par la chambre d'Ussing, et les données de libération de l'amlodipine obtenus dans un travail réalisé ultérieurement par le test de dissolution

##### 1) Résultats du test de dissolution

Tableau 9 : Résultats du test de dissolution de l'amlodipine des différentes spécialités exprimés en pourcentage dissous

	Amlor <sup>®</sup>	Amovas <sup>®</sup>	Amcard <sup>®</sup>	Amep <sup>®</sup>	Amilo <sup>®</sup>	Calcinib <sup>®</sup>	Dipicor <sup>®</sup>
10 min	87,84	40,25	89,46	84,76	88,77	84,11	88,17
30 min	99,07	57,14	93,52	96,98	91,14	92,28	90,77
45 min	96,06	66,04	94,1	92,74	91,33	95,97	90,75



**Figure 21 : profils de dissolution des comprimés d’amlodipine 5 mg des génériques et princeps par le test de dissolution en fonction du temps**

On a transformé les courbes de cinétique de la perméabilité et du pourcentage dissous sous formes de droites  $y = ax + b$  à l’aide du logiciel Excel pour tirer des concentrations en différents temps. On a défini pour la corrélation les temps 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 minutes.

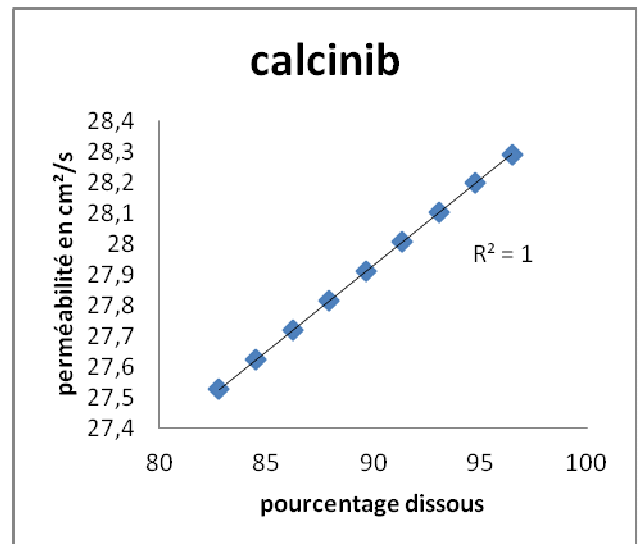
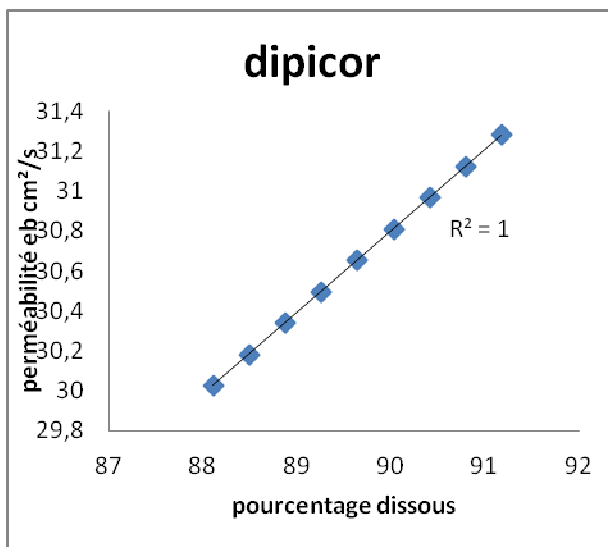
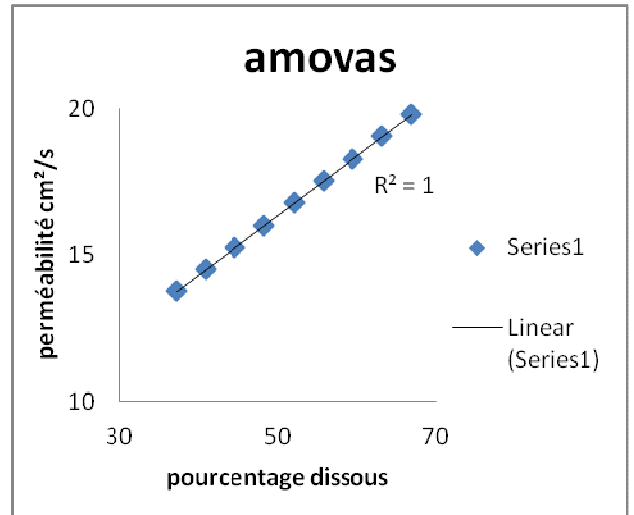
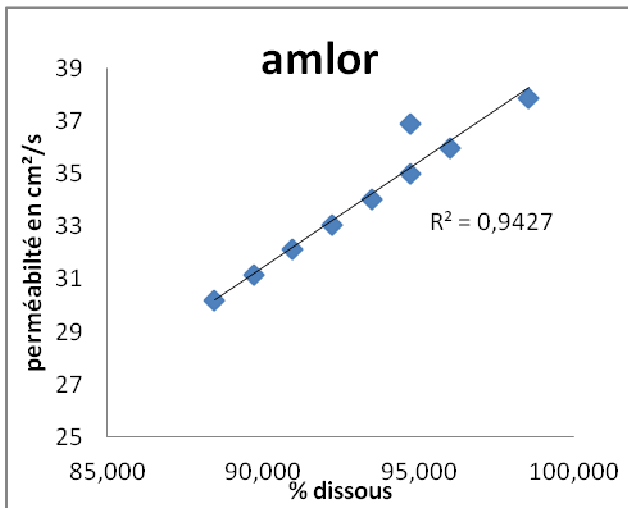
	test de dissolution	chambre d'Ussing
Amlor <sup>®</sup>	$y=0,253x+87,169$	$y=0,192x+29,238$
Amovas <sup>®</sup>	$y = 0,743x+33,434$	$y = 0,151x+12,99$
Amcard <sup>®</sup>	$y = 0136x+88,496$	$y = 0,105x+18,143$
Calcinib <sup>®</sup>	$y = 0,343x + 81,079$	$y = 0,0191x + 27,431$
Dipicor <sup>®</sup>	$y = 0,077x + 87,722$	$y = 0,031x+ 29,87$

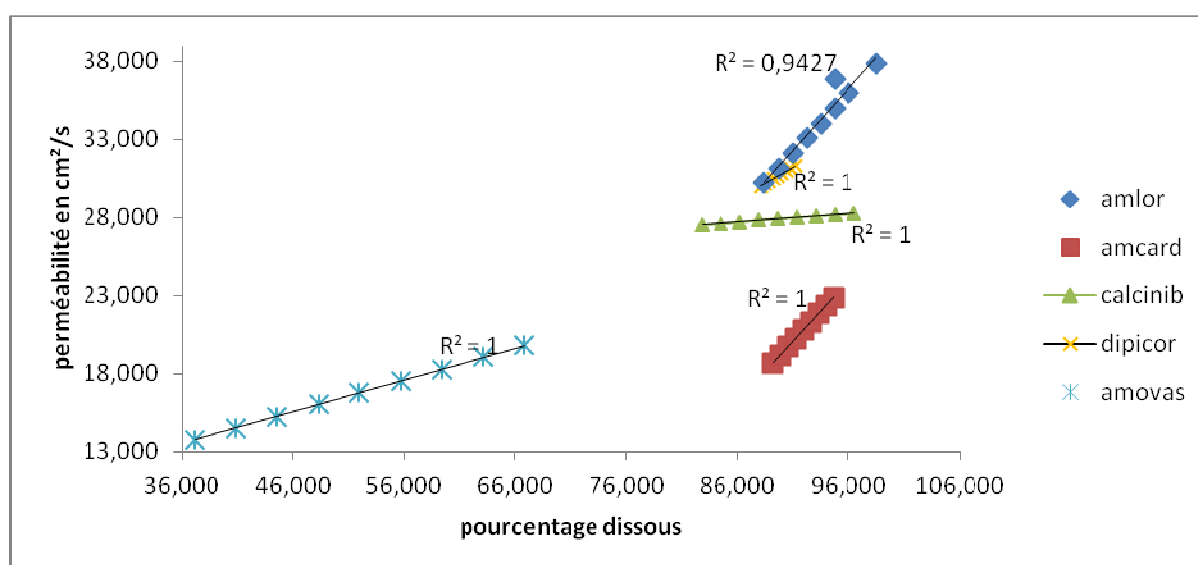
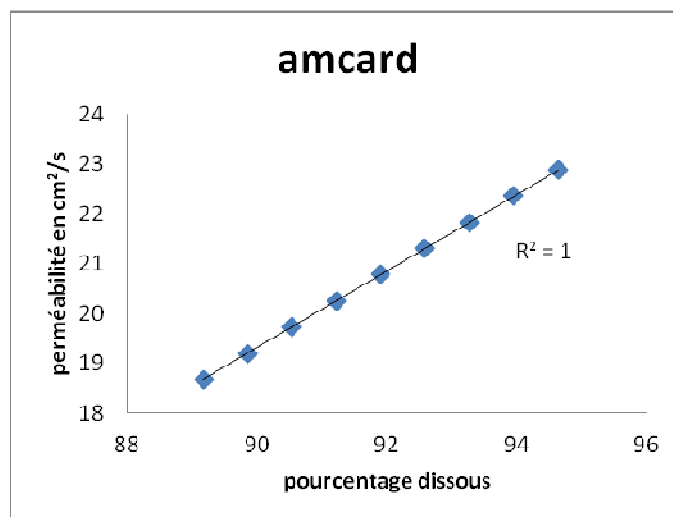
Les résultats qu'on a trouvés pour chaque spécialité présentés dans le tableau.

Tableau 10 : données des perméabilités et pourcentage dissous pour chaque spécialité

	temps en minutes	5	10	15	20	25	30	35	40	45
Amlor®	% dissous	30,197	31,155	32,114	33,072	34,030	34,989	35,947	36,906	37,864
	Perméabilité	88,431	89,694	90,956	92,219	93,482	94,744	96,007	94,744	98,532
Amcard®	% dissous	18,670	19,196	19,723	20,250	20,777	21,304	21,831	22,357	22,884
	Perméabilité	89,178	89,860	90,542	91,224	91,905	92,587	93,269	93,951	94,633
Calcib®	% dissous	27,527	27,623	27,718	27,814	27,910	28,005	28,101	28,197	28,292
	Perméabilité	82,792	84,505	86,218	87,931	89,645	91,358	93,071	94,784	96,497
Dipicor®	% dissous	30,027	30,183	30,340	30,496	30,653	30,809	30,966	31,122	31,279
	Perméabilité	88,106	88,489	88,873	89,257	89,641	90,025	90,408	90,792	91,176
Amovas®	% dissous	13,747	14,503	15,260	16,016	16,772	17,529	18,285	19,041	19,798
	Perméabilité	37,148	40,861	44,574	48,288	52,001	55,714	59,428	63,141	66,855







**Figure 22 : les courbes de corrélations des génériques et des princeps**

On trouve que la corrélation est de 94.27% pour Amlor<sup>®</sup> et 100% pour Amovas\*, Amcard\*, Calcinib\*, et Dipicor\*, ce qui veut dire qu'il existe une forte corrélation entre les données de la perméabilité à travers la chambre d'Ussing et les données de pourcentage de libération dans le test de dissolution. D'après ces résultats on peut dire que le test de la chambre d'Ussing est valide. [49,50]

## 5. Conclusion

L'étude de l'absorption est réalisée par la chambre d'Ussing, c'est une technique qui permet de travailler avec des membranes biologiques intestinales, ainsi d'étudier le passage des médicaments à travers ces membranes et savoir la quantité absorbée, chose qui n'est réalisable par le dissolutest.

Au bout de quatre heures, on a trouvé que l'amlodipine contenu dans des comprimés à 10 mg, montre une différence d'absorption entre les différentes spécialités. On a constaté que le princeps a une bonne perméabilité et qu'est le double par rapport aux génériques qui ont entre eux une perméabilité semblable, ces résultats ont montré une corrélation de l'ordre de 94.27% pour Amlor et 100% pour les génériques par rapport avec les de la libération au niveau du dissolutest. Au terme de ces résultats on peut dire que cette technique peut être utilisée dans les études d'absorption des médicaments, ce qui va permettre dans l'avenir à penser de réaliser des tests de bioéquivalence avec cette technique mais pour cela il faut des études plus approfondies pour l'approuver.

## Conclusion générale

Le présent travail s'inscrit dans le cadre des recherches pour les études d'absorption des médicaments, nous avons réalisé une étude de l'absorption de l'amlodipine, sous forme de comprimés à 10 mg à travers la chambre d'Ussing, au sein du laboratoire de pharmacologie et toxicologie à la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, on 'a comparé l'absorption entre princeps et génériques qui a montré que le princeps au bout de quatre heures a une perméabilité supérieure à celle des génériques testés. Nous avons montré que les données obtenues avec la chambre sont bien corrélées avec celles obtenues avec le test de dissolution.

Les perspectives de ce travail sont intéressantes car la chambre d'Ussing va nous permettre de faire des tests de bioéquivalence en comparant la perméabilité entre princeps et générique, cette technique va fournir un précieux temps ainsi on peut réduire les essais cliniques, mais pour cela il faut faire d'autres études comme par exemple à partir du dissolutest on prélève et on met dans la chambre d'Ussing et doser les échantillons par HPLC couplé au spectrophotomètre de masse et aussi réaliser des études de corrélation in-vivo/ex-vivo/in-vitro.

## Résumé

**Titre :** Etude comparative de l'absorption de l'amlodipine à travers la chambre d'Ussing :  
corrélation ex-vivo/in-vitro

**Auteur :** MAYDOUNE ABDELHAMID.

**Mots clés :** absorption, bioéquivalence, chambre d'Ussing, corrélation.

Introduction : les études de la biodisponibilité occupent une importance primordiale dans l'évaluation et le contrôle qualité des génériques.

But : Le but de ce travail est de valider une étude de l'absorption de l'amlodipine à travers la chambre d'Ussing, puis comparer la perméabilité entre princeps et des génériques, et à la fin corréler ces résultats avec celles de dissolution par le test de dissolution.

Méthode : Il s'agit d'une étude de l'absorption de l'amlodipine sous forme de comprimés à 10 mg à travers un tissu d'intestin monté entre deux compartiments muqueux et séreux, dans les conditions optimales pour maintenir la viabilité du tissu intestinale (oxygénation, température, milieu physiologique). Le comprimé est dissous dans 20 ml d'HCl à 0.01N et le dosage est fait par chromatographie liquide haute performance (HPLC).

Résultats : au bout de quatre heures, la quantité absorbée de l'amlodipine est de 15.525 nmol pour Amlor<sup>®</sup> alors qu'il est de 9.158 ; 8.511 ; 7.353 ; 6.947 ; 6.033 ; 5.727 nmol pour Amovas<sup>®</sup>, Amcard<sup>®</sup>, Amlodipine Win<sup>®</sup>, Dipicor<sup>®</sup>, Calcinib<sup>®</sup>, Anglor<sup>®</sup> respectivement.

Conclusion : Ces résultats montrent que la méthode d'étude d'absorption par la chambre d'Ussing est fiable, ce qui mène à proposer dans l'avenir l'intégration de cette technique dans les études de la bioéquivalence.

## Abstract

**Title:** Comparative study of amlodipine absorption through the chamber Ussing: correlation ex-vivo/in-vitro

**Author:** MAYDOUNE ABDELHAMID.

**Keywords:** absorption, bioequivalence, Ussing chamber, correlation.

**Introduction:** Studies of bioavailability is of primary importance in the evaluation and quality control of generic.

**Purpose:** The purpose of this study is to validate a study of amlodipine absorption through the Ussing chamber, and then compare the permeability between originator and generic, and at the end correlate these results with those of dissolution the dissolution test.

**Method:** This is a study of the absorption of amlodipine tablets 10 mg through a tissue of intestine mounted between two serous and mucosal compartments, under the optimal conditions to maintain tissue viability intestinal (oxygenation, temperature, physiological medium). The tablet is dissolved in 20 ml of 0.01N HCl and the determination was made by high performance liquid chromatography (HPLC).

**Results:** After four hours, the absorbed amount of amlodipine is 15,525 nmol for Amlor<sup>®</sup> while it is 9158, 8511, 7353, 6947, 6033, 5727 nmol for Amovas<sup>®</sup>, Amcard<sup>®</sup>, Amlodipine Win<sup>®</sup>, Dipicor<sup>®</sup>, Calcinib<sup>®</sup>, Anglor<sup>®</sup> respectively.

**Conclusion:** These results show that the method of studying absorption by Ussing chamber is reliable, this leads to a proposal in the future integration of this technique in studies of bioequivalence

## ملخص

**العنوان:** دراسة امتصاص أملوديبين من خلال غرفة إسنيغ ارتباط خارج الجسم – المختبر.

**الكاتب:** عبد الحميد.

**الكلمات الرئيسية:** امتصاص، والتكافؤ الحيوي، غرفة إسنيغ، والارتباط.

**مقدمة:** دراسات التوافر الحيوي من أهمية أساسية في مراقبة تقييم وجودة النوعية. الغرض: إن الغرض من هذه الدراسة هو التحقق من صحة الدراسة من امتصاص أملوديبين من خلال غرفة إسنيغ، ثم مقارنة بين نفاذية بين الأصل والمستنسخ، وعند نهاية هذه النتائج متطابقة مع تلك التي وجدت في اختبار الذوبان.

**الطريقة:** هذه دراسة من امتصاص أقراص أملوديبين 10 ملغ من خلال نسيج من الأمعاء التي وضعت بين قسمين المصلية والمخاطية، في ظل الظروف المثلى للمحافظة على سلامة الأنسجة المعوية (الأوكسجين ودرجة الحرارة والمتوسطة الفسيولوجية). تم تدوير قرص في 20 مل من حمض الهيدروكلوريك N0.01 الفحص يتم بواسطة جهاز عالية الأداء اللوني السائل (HPLC).

**النتائج:** بعد أربع ساعات، امتصاص أملوديبين هو 15525 نانومول أمبور® بينما هي 9158، 8511، 7353، 6947، 6033، 5727 نانومول ل أموفاس®، أمكارد، أملوديبين وين®، دبكور®، كلسنيب، انكلور® على التوالي.

**الخلاصة:** تبين هذه النتائج أن طريقة دراسة امتصاص بواسطة غرفة إسنيغ موثوق بها، وهذا يؤدي إلى الاقتراح في التكامل المستقبلي بين هذه التقنية في دراسات التكافؤ الحيوي.

## Bibliographie

- [1]. Elaine N. Marieb ; Biologie humaine : principe d'anatomie et de physiologie ; 8eme édition ; 2008 ; 495.
- [2]. SHERWOOD, Physiologie humaine, 2ème édition ; 2009 ; 465.
- [3]. J. MATHIEU ; Modélisation et conception d'un système de mesure de comportement électrique de cellules vivantes : application aux épithéliums intestinaux. Thèse de doctorat, université d'Evry Val d'Essonne école doctorale Sitevry ; 2008.
- [4]. INTESTIN GRELE <http://www.carabin.fr.pdf> ; consulté en ligne avril 2012.
- [5]. DIGESTION – LICENCE 2 STAPS ; <http://www.staps.univ-avignon.fr.pdf>; consulté en ligne avril 2012.
- [10]. MC Verdier-Lorne Laboratoire de Pharmacologie biologique Faculté de Médecine ; devenir du médicament dans l'organisme ; <http://facmed.univ-rennes1.fr.pdf> consulté en ligne avril 2012.
- [11]. Les sécrétions gastriques ; [http://physiologie.envt.fr/spip/IMG/pdf/Phys\\_digest\\_9.pdf](http://physiologie.envt.fr/spip/IMG/pdf/Phys_digest_9.pdf) consulté en ligne avril 2012
- [12]. Absorption Distribution Métabolisme Elimination du Médicament <http://webcampus.fundp.ac.be.pdf> consulté en ligne 2012
- [13]. H.Lodish,Arnold Berk, P.Matsudaira,Chris A. Kaiser, J.Darnell ; Biologie moléculaire de la cellule 3eme édition ,chapitre 7 :le transport des ions et de petites molécules à travers les membrane cellulaires ; 246.
- [14]. E.Jawetz, J. L. Melnick, Edward A. Adelberg ; Microbiologie médicale; vancomycine; 1973 ; 156



[15]. C. Loichot et M. Grima ; Introduction à la pharmacocinétique – passages transmembranaires Faculté de Médecine de Strasbourg ; <http://www-ulpmed.u-strasbg.fr.pdf> consulté en ligne avril 2012.

[16]. A.HAKIM, AG. Z.SAHNOUN ; Mécanismes de transport transmembranaire des médicaments ; Laboratoire de pharmacologie-Faculté de médecine de Sfax ; <http://www.dematice.org.pdf> consulté en ligne avril 2012.

[17]. I.Claverie, H. Hedde ; Pharmacologie générale, toxicologie: mécanismes fondamentaux ; 2eme édition ; 2003 ; 15.

[18]. Pharmacocinétique clinique ; Modifications de l'exposition plasmatique aux médicaments: mécanismes et conséquences ; <http://pharmapk.pharmacie.univ-mrs.fr.pdf> consulté en ligne avril 2012

[19]. Pharmacologie ; système ADME ; [www.dzpharm.com.pdf](http://www.dzpharm.com.pdf) consulté en ligne avril 2012.

[21]. C.Bardin ; Rôle de

la P-Glycoprotéine dans l'absorption digestive et la diffusion dans le système nerveux central des inhibiteurs de protéase ; Revue critique de l'actualité scientifique internationale sur le VIH et les virus des hépatites ; n°70 ; décembre 98.

[22]. M. C. Jerdi, J. Desmeules , P. Dayer ; La glycoprotéine P : un transporteur de médicaments à ne pas négliger ; Revue Médicale Suisse N° -524 ; 31/03/2004.

[23]. C. Loichot et M. Grima ; Résorption – Absorption ; Faculté de Médecine de Strasbourg ; <http://www-ulpmed.u-strasbg.fr.pdf> ; consulté en ligne avril 2012

[24]. P. L. TOUTAIN et A. BOUSQUET-MELOU ; La biodisponibilité et son évaluation ; [http://physiologie.envt.fr/spip/IMG/pdf/La\\_biodisponibilite\\_et\\_son\\_evaluation.pdf](http://physiologie.envt.fr/spip/IMG/pdf/La_biodisponibilite_et_son_evaluation.pdf) consulté en ligne avril 2012.

[25]. May Fakhoury Evelyne Jacqz-Aigrain ; Les étapes du devenir des médicaments dans l'organisme (ADME) Les enzymes de métabolisme des xénobiotiques ; Hôpital Robert Debré

Service de Pharmacologie Clinique Pédiatrique et Pharmacogénétique  
<http://didel.script.univ-paris-diderot.fr.pdf> consulté en ligne avril 2012

[26]. Jean-Marc AIACHE ; La Bioéquivalence en France: Ses atouts, sa mise en place, ses difficultés et les limites de son application ; [http://pharmacies.ma/pharmacie/upload/Sections/file/jpm\\_jma.pdf](http://pharmacies.ma/pharmacie/upload/Sections/file/jpm_jma.pdf) consulté en ligne avril 2012.

[27]. P.Lainé-Cessac ; Génériques ; CRPV Angers <http://congres.impact-sante.fr/gynecologie/pdf/Generiques-genesis.pdf> consulté en ligne avril 2012.

[28]. H. BAGHERI ; Génériques, équivalents thérapeutiques, copies, princeps: similitudes et différences ; Revue générale pharmacologie réalités en Gynécologie-Obstétrique ; N° 140 ; Octobre 2009.

[29]. [M. KONGTHAISONG](#), [K. NA-BANGCHANG](#), [M.MUNGTHIN](#), [N. SINCHAIPANID](#) and [P.TAN-ARIYA](#) ; Comparison of the Bioequivalence of three oral formulation of dihydroartemisinin baesd on ex vivo blood schizontocidal activities against plasmodium falciparum; The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene , Am J Trop Med Hyg vol. 71 no. 6 ;703-710; December 2004.

[30]. [M. Boisset](#), [Roger P. Botham](#), [Klaus D. Haegele](#), [Bernard Lenfant](#), [Jean I. Pachot](#) ; Absorption of angiotensin II antagonists in Ussing chambers, Caco-2, perfused jejunum loop and in vivo:Importance of drug ionisation in the in vitro prediction of in vivo absorption ; [European Journal of Pharmaceutical Sciences](#) ; [Volume 10 ; Issue 3](#), May 2000, 215-224.

[31]. D.ATTIVI. Mise en forme et amélioration de la biodisponibilité d'un anticancéreux destiné à la voie orale : Exemple du mitotane ; Thèse de doctorat UNIVERSITE HENRI POINCARÉ – NANCY I UFR de Pharmacie Ecole Doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement) ; 2009-2010 ; 103-105.

[32]. Food and Drug Administration; Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Guidance for Industry Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered

Drug Products — General Considerations; U.S. Department of Health and Human Services ;  
March 2003.

[33]. L. ELBERBOUCHI ; Optimisation du test de dissolution a l'aide de la méthodologie des plans d'expériences cas de l'amlodipine comprimés ; Thèse de doctorat en pharmacie faculté de médecine et pharmacie ; 2010 ; n°67.

[34]. Beyssac E, Billon A, Gautier H. Gélules, capsules molles et contrôle biopharmaceutique des formes orales solides. In : wehrlé P, pharmacie galénique Formulation et technologie pharmaceutique. Paris : Maloine ; 2007 : 71-106

[35]. Particle Sciences In Vitro Dissolution Testing for Solid Oral Dosage Forms Technical Brief; volume 5, 2010.

[36]. R.DUCROC et F. SAMOUELIAN ; Chambre de Ussing : ses apports à l'étude de l'absorption intestinale du glucose ; XXXIV L OPÉRON N°50 ; 2009 ; 2-6.

[37]. Lane L. Clarke ; A Guide to Ussing Chamber Studies of Mouse Intestine; Department of Biomedical Sciences, Dalton Cardiovascular Research Center, University of Missouri, Columbia, Missouri 65211; 2009.

[38]. Julien MATHIEU ; Analyse des paramètres électriques des barrières biologiques pour l'étude du passage de xénobiotiques: utilisation de la chambre d'Ussing ; [http://www.cmla.ens-cachan.fr/fileadmin/Groupes/Gdays/Mathieu\\_Julien.pdf](http://www.cmla.ens-cachan.fr/fileadmin/Groupes/Gdays/Mathieu_Julien.pdf) consulté en ligne avril 2012

[39]. Bruno ETO, PhD ; Chambres d'Ussing: système d'étude du passage des médicaments et des xénobiotiques à travers la barrière intestinale et ses nouveaux domaines d'applications ; Laboratoire TransCell-Lab Faculté de médecine Xavier Bichat -75018 Paris ; [http://biomecatronics.com/Resources/pdf/CONF\\_20100411\\_InsermParis.pdf](http://biomecatronics.com/Resources/pdf/CONF_20100411_InsermParis.pdf) consulté en ligne avril 2012

[40]. J. CASTELLOTE ; Méthodes d'étude de la barrière intestinale: Mise au point de culture d'explants intestinaux chez le porc. Effets des mycotoxines sur l'intestin ; mémoire

bibliographique du master 2 recherche en Elaboration de la Qualité et Sécurité Alimentaire ; INP Toulouse ; 2008 ; 8-9.

[41]. Jaber Emami In vitro - In vivo Correlation: From Theory to Applications J Pharm Pharmaceut Sci ([www.cspsCanada.org](http://www.cspsCanada.org)) 9 (2): 169-189, 2006.

[42]. N. Sirisuth and N.D.Eddington ; In-Vitro-In-Vivo Correlation Definitions and Regulatory guidance ; International Journal of Generic Drugs; <http://www.iagim.org/pdf/ivivc-01.pdf> consulté en ligne avril 2012

[43]. Monographie de bésilate d'amlodipine ; Pharmacopée Européenne 7ème édition ;1491 ; 04/2010.

[44]. PFIZER CANADA INC ; MONOGRAPHIE NORVASC\* (bésylate d'amlodipine) COMPRIMÉS à 2,5, à 5 et à 10 mg ; 141148 ; révisé le 30 mars 2011

[45]. Caporal-Gautier J, Nivet JM. Guide de validation analytique. Rapport d'une commission SFSTP Méthodologie, 1992 : 205-226.

[46]. Internatiolae Conference on Harmonisation. Validation analytique procedures : Text and methodology Q2, October 1994.

[47]. Valérie PETIT La teneur en lipides du régime affecte les capacités d'absorption intestinale et la triglycéridémie postprandiale : contribution du récepteur nucléaire PPAR $\beta$  ? ; Thèse de doctorat en Sciences de l'Alimentation Spécialité Nutrition ; Université de Bourgogne ; Ecole nationale supérieure de biologie appliquée à la nutrition et à l'alimentation ; 2007.

[48]. Organisation Mondiale de la Santé. Proposal to waive in vivo bioequivalence requirements for WHO Model list of Essential Medicines immediate-release, solid oral dosage forms. Technical report series, NO. 937, annex 8; 2006.

[49]. Nadia Maria Volpato,, Regina Lengruber Silva , Ana Paula P. Brito ,José Carlos S. Gonçalves, Mário Vaisman, François Noël ; Multiple level C in vitro/in vivo correlation of dissolution profiles of two l-thyroxine tablets with pharmacokinetics data obtained from

patients treated for hypothyroidism ; European Journal of Pharmaceutical Sciences; 21 ; 2004  
655–660.

[50]. S. Takka, A. Sakr, A. Goldberg ; Development and validation of an in vitro–in vivo  
correlation for buspirone hydrochloride extended release tablets ; Journal of Controlled  
Release ; 88 ; 2003; 147–157.

## **Webographie**

[6]. [http://www.futura-sciences.com/fr/news/t/vie-1/d/le-gene-notch-nouvel-acteur-de-notre-intestin\\_6577/](http://www.futura-sciences.com/fr/news/t/vie-1/d/le-gene-notch-nouvel-acteur-de-notre-intestin_6577/)

[7]. <http://www.sante.univ-nantes.fr/med/biolcell/cyto-plan-vig.php>

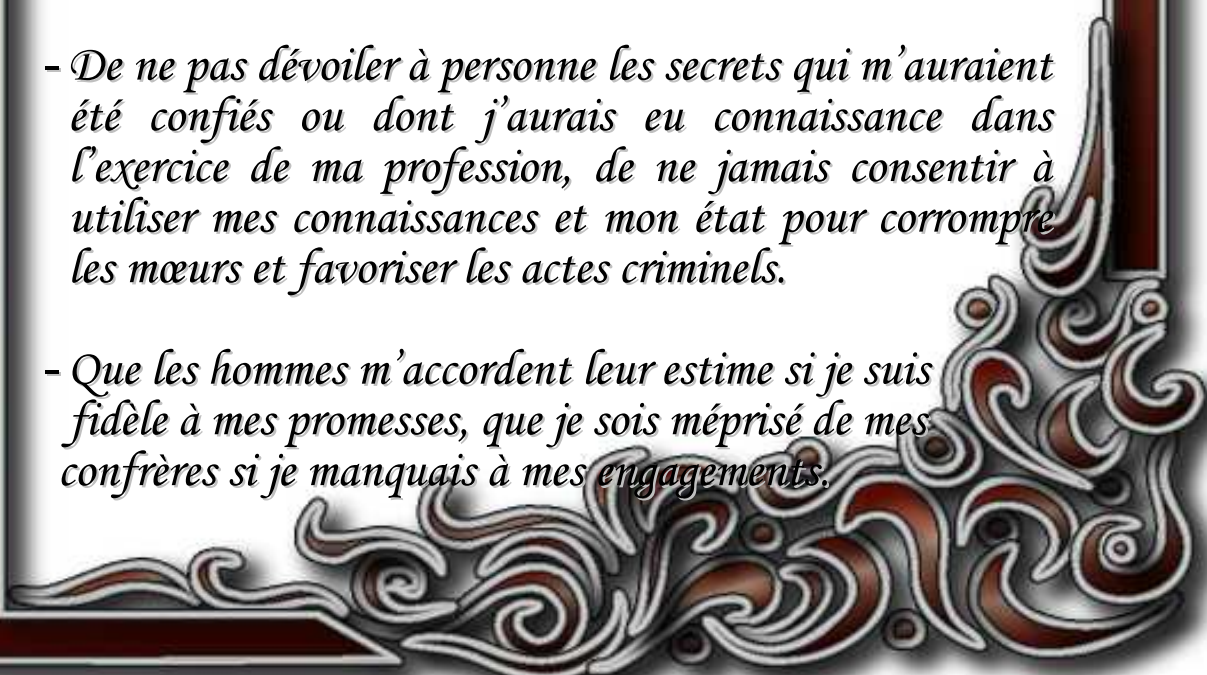
[8]. [http://www.facbio.com/content/index.php?option=com\\_content&task=view&id=18&Itemid=34](http://www.facbio.com/content/index.php?option=com_content&task=view&id=18&Itemid=34)

[9]. [http://www.pharmacomedicale.org/Fiche\\_47.html](http://www.pharmacomedicale.org/Fiche_47.html)

[20]. [http://www.pharmacomedicale.org/Fiche\\_90.html](http://www.pharmacomedicale.org/Fiche_90.html)

## *Serment de Galien*

*Je jure en présence des maîtres de cette faculté :*

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
  - D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
  - D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à législation en vigueur aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
  - De ne pas dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
  - Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*
- 

جامعة محمد الخامس  
كلية الطب والصيدلة  
- الرباط -

### قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

وأحس بالله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"

## دراسة امتصاص الأملدبين عن طريق غرفة إسينغ ارتباط خارج الجسم/مختبر أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم: 20/04/2012.

من طرف

السيد (ة) : ميعون عبد الحميد

المزاد في 08 فبراير 1984

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: امتصاص – التكافؤ الحيوي – غرفة إسينغ – ارتباط

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد: عبد العزيز بوكلوز

أستاذ في التطبيقات الصيدلانية

مشرف

السيد: يحيى الشراح

أستاذ في علم الصيدلة

أعضاء

السيد: مولاي عباس فوزي

أستاذ في علم الصيدلة

السيد: عبد القادر لعثيريس

أستاذ في الصيدلة الغالينية