

UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2010

THESE N°: 67

Optimisation du test de dissolution
a l'aide de la methodologie des plans d'experiences
Cas de l'amlodipine comprimés

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mlle. Loubna EL BERBOUCHI

Née le 24 Juillet 1985 à Casablanca

Pour l'Obtention du Doctorat en
Pharmacie

MOTS CLES: Optimisation – Plans d'expériences – Surfaces de réponse –
Test de dissolution – Validation.

JURY

Mr. Y. CHERRAH

Professeur de Pharmacologie

PRESIDENT

Mr. A. BOUKLOUZE

Professeur des Applications Pharmaceutiques

RAPPORTEUR

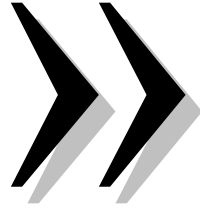
1

Mr. R. ABOUQAL

Professeur de Réanimation Médicale

} **Juges**

Mr. M. DRAOUI



سبحانك لا علم لنا إلا
ما علمتنا إنك أنت
العليم الحكيم

﴿

سورة البقرة: الآية: 31



**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 BEN OMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie	Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général :	Monsieur El Hassan AHELLAT

PROFESSEURS :

Décembre 1967

1. Pr. TOUNSI Abdelkader Pathologie Chirurgicale

Février, Septembre, Décembre 1973

2. Pr. ARCHANE My Idriss* Pathologie Médicale
3. Pr. BENOMAR Mohammed Cardiologie
4. Pr. CHAOUI Abdellatif Gynécologie Obstétrique
5. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

6. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Février 1977

7. Pr. AGOUMI Abdelaziz Parasitologie
8. Pr. BENKIRANE ép. AGOUMI Najia Hématologie
9. Pr. EL BIED ép. IMANI Farida Radiologie

Février Mars et Novembre 1978

10. Pr. ARHARBI Mohamed Cardiologie
11. Pr. SLAOUI Abdelmalek Anesthésie Réanimation

Mars 1979

12. Pr. LAMDOUAR ép. BOUAZZAOUI Naima Pédiatrie

Mars, Avril et Septembre 1980

13. Pr. EL KHAMLIHI Abdeslam Neurochirurgie
14. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

- 15. Pr. BENOMAR Said*
- 16. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid
- 17. Pr. EL MANOUAR Mohamed
- 18. Pr. HAMMANI Ahmed*
- 19. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih
- 20. Pr. SBIHI Ahmed
- 21. Pr. TAOBANE Hamid*

Anatomie Pathologique
Cardiologie
Traumatologie-Orthopédie
Cardiologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

- 22. Pr. ABROUQ Ali*
- 23. Pr. BENOMAR M'hammed
- 24. Pr. BENSOUA Mohamed
- 25. Pr. BENOSMAN Abdellatif
- 26. Pr. CHBICHEB Abdelkrim
- 27. Pr. JIDAL Bouchaib*
- 28. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie-Cardio-Vasculaire
Anatomie
Chirurgie Thoracique
Biophysique
Chirurgie Maxillo-faciale
Physiologie

Novembre 1983

- 29. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*
- 30. Pr. BALAFREJ Amina
- 31. Pr. BELLAKHDAR Fouad
- 32. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
- 33. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Neurochirurgie
Rhumatologie
Cardiologie

Décembre 1984

- 34. Pr. BOUCETTA Mohamed*
- 35. Pr. EL OUEDDARI Brahim El Khalil
- 36. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
- 37. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
- 38. Pr. NAJI M'Barek *
- 39. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Immuno-Hématologie
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

- 40. Pr. BENJELLOUN Halima
- 41. Pr. BENSaid Younes
- 42. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
- 43. Pr. IHRAI Hssain *
- 44. Pr. IRAQI Ghali
- 45. Pr. KZADRI Mohamed

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

Janvier, Février et Décembre 1987

- 46. Pr. AJANA Ali
- 47. Pr. AMMAR Fanid
- 48. Pr. CHAHED OUAZZANI ép.TAOBANE Houria
- 49. Pr. EL FASSY Fihri Mohamed Taoufiq
- 50. Pr. EL HAITEM Naïma
- 51. Pr. EL MANSOURI Abdellah*
- 52. Pr. EL YAACOUBI Moradh
- 53. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
- 54. Pr. LACHKAR Hassan

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

55. Pr. OHAYON Victor*
56. Pr. YAHYAOUI Mohamed

Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

57. Pr. BENHMAMOUCHE Mohamed Najib
58. Pr. DAFIRI Rachida
59. Pr. FAIK Mohamed
60. Pr. FIKRI BEN BRAHIM Nouredine
61. Pr. HERMAS Mohamed
62. Pr. TOULOUNE Farida*

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Urologie
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

63. Pr. ABIR ép. KHALIL Saadia
64. Pr. ACHOUR Ahmed*
65. Pr. ADNAOUI Mohamed
66. Pr. AOUNI Mohamed
67. Pr. AZENDOUR BENACEUR*
68. Pr. BENAMEUR Mohamed*
69. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali
70. Pr. CHAD Bouziane
71. Pr. CHKOFF Rachid
72. Pr. FARCHADO Fouzia ép. BENABDELLAH
73. Pr. HACHIM Mohammed*
74. Pr. HACHIMI Mohamed
75. Pr. KHARBACH Aïcha
76. Pr. MANSOURI Fatima
77. Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda
78. Pr. SEDRATI Omar*
79. Pr. TAZI Saoud Anas
80. Pr. TERHZZAZ Abdellah*

Cardiologie
Chirurgicale
Médecine Interne
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Radiologie
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Pathologie Chirurgicale
Pédiatrique
Médecine-Interne
Urologie
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Neurologie
Dermatologie
Anesthésie Réanimation
Ophtalmologie

Février Avril Juillet et Décembre 1991

81. Pr. AL HAMANY Zaïtounia
82. Pr. ATMANI Mohamed*
83. Pr. AZZOUZI Abderrahim
84. Pr. BAYAHIA ép. HASSAM Rabéa
85. Pr. BELKOUCHI Abdelkader
86. Pr. BENABDELLAH Chahrazad
87. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdelatif
88. Pr. BENSOUDA Yahia
89. Pr. BERRAHO Amina
90. Pr. BEZZAD Rachid
91. Pr. CHABRAOUI Layachi
92. Pr. CHANA El Houssaine*
93. Pr. CHERRAH Yahia
94. Pr. CHOKAIRI Omar
95. Pr. FAJRI Ahmed*
96. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*
97. Pr. KHATTAB Mohamed
98. Pr. NEJMI Maati
99. Pr. OUAALINE Mohammed*

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chirurgie Générale
Hématologie
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Ophtalmologie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Anesthésie-Réanimation
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène

100. Pr. SOULAYMANI ép. BENCHEIKH Rachida
101. Pr. TAOUFIK Jamal

Pharmacologie
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

102. Pr. AHALLAT Mohamed
103. Pr. BENOUDA Amina
104. Pr. BENSOUA Adil
105. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
106. Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
107. Pr. CHAKIR Nouredine
108. Pr. CHRAIBI Chafiq
109. Pr. DAOUDI Rajae
110. Pr. DEHAYNI Mohamed*
111. Pr. EL HADDOURY Mohamed
112. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
113. Pr. FELLAT Rokaya
114. Pr. GHAFIR Driss*
115. Pr. JIDDANE Mohamed
116. Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
117. Pr. TAGHY Ahmed
118. Pr. ZOUHDI Mimoun

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

Mars 1994

119. Pr. AGNAOU Lahcen
120. Pr. AL BAROUDI Saad
121. Pr. ARJI Moha*
122. Pr. BENCHERIFA Fatiha
123. Pr. BENJAAFAR Nouredine
124. Pr. BENJELLOUN Samir
125. Pr. BENRAIS Nozha
126. Pr. BOUNASSE Mohammed*
127. Pr. CAOUI Malika
128. Pr. CHRAIBI Abdelmajid
129. Pr. EL AMRANI ép. AHALLAT Sabah
130. Pr. EL AOUDAD Rajae
131. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
132. Pr. EL HASSANI My Rachid
133. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur
134. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*
135. Pr. ERROUGANI Abdelkader
136. Pr. ESSAKALI Malika
137. Pr. ETTAYEBI Fouad
138. Pr. HADRI Larbi*
139. Pr. HDA Ali*
140. Pr. HASSAM Badredine
141. Pr. IFRINE Lahssan
142. Pr. JELTHI Ahmed
143. Pr. MAHFOUD Mustapha
144. Pr. MOUDENE Ahmed*
145. Pr. MOSSEDDAQ Rachid*
146. Pr. OULBACHA Said
147. Pr. RHRAB Brahim

Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Ophtalmologie
Radiothérapie
Chirurgie Générale
Biophysique
Pédiatrie
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métabolique
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumatologie Orthopédie
Radiologie
Médecine Interne
Chirurgie Cardio- Vasculaire
Chirurgie Générale
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie Orthopédie
Traumatologie Orthopédie
Neurologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique

148. Pr. SENOUCI ép. BELKHADIR Karima
149. Pr. SLAOUI Anas

Dermatologie
Chirurgie Cardio-vasculaire

Mars 1994

150. Pr. ABBAR Mohamed*
151. Pr. ABDELHAK M'barek
152. Pr. BELAIDI Halima
153. Pr. BARHMI Rida Slimane
154. Pr. BENTAHILA Abdelali
155. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
156. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
157. Pr. CHAMI Ilham
158. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
159. Pr. EL ABBADI Najia
160. Pr. HANINE Ahmed*
161. Pr. JALIL Abdelouahed
162. Pr. LAKHDAR Amina
163. 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

164. Pr. ABOUQUAL Redouane
165. Pr. AMRAOUI Mohamed
166. Pr. BAIDADA Abdelaziz
167. Pr. BARGACH Samir
168. Pr. BELLAHNECH Zakaria
169. Pr. BEDDOUCHE Amoqrane*
170. Pr. BENZAOUZ Mustapha
171. Pr. CHAARI Jilali*
172. Pr. DIMOU M'barek*
173. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*
174. Pr. EL MESNAOUI Abbes
175. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
176. Pr. FERHATI Driss
177. Pr. HASSOUNI Fadil
178. Pr. HDA Abdelhamid*
179. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
180. Pr. IBRAHIMY Wafaa
182. Pr. BENOMAR ALI
183. Pr. BOUGTAB Abdesslam
184. Pr. ER RIHANI Hassan
185. Pr. EZZAITOUNI Fatima
186. Pr. KABBAJ Najat
187. Pr. LAZRAK Khalid (M)
188. Pr. OUTIFA Mohamed*

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Urologie
Urologie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Gynécologie Obstétrique
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
Cardiologie
Urologie
Ophtalmologie
Neurologie
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Radiologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique

Décembre 1996

189. Pr. AMIL Touriya*
190. Pr. BELKACEM Rachid
191. Pr. BELMAHI Amin
192. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Chirurgie réparatrice et plastique
Ophtalmologie

193. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
 194. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*
 195. Pr. GAMRA Lamiae
 196. Pr. GAOUZI Ahmed
 197. Pr. MAHFOUDI M'barek*
 198. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid
 199. Pr. MOHAMMADI Mohamed
 200. Pr. MOULINE Soumaya
 201. Pr. OUADGHIRI Mohamed
 202. Pr. OUZEDDOUN Naima
 203. Pr. ZBIR EL Mehdi*

Chirurgie Générale
 Parasitologie
 Anatomie Pathologique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Médecine Interne
 Pneumo-phtisiologie
 Traumatologie – Orthopédie
 Néphrologie
 Cardiologie

Novembre 1997

204. Pr. ALAMI Mohamed Hassan
 205. Pr. BEN AMAR Abdesselem
 206. Pr. BEN SLIMANE Lounis
 207. Pr. BIROUK Nazha
 208. Pr. BOULAICH Mohamed
 209. Pr. CHAOUIR Souad*
 210. Pr. DERRAZ Said
 211. Pr. ERREIMI Naima
 212. Pr. FELLAT Nadia
 213. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra
 214. Pr. HAIMEUR Charki*
 215. Pr. KADDOURI Nouredine
 216. Pr. KANOUNI NAWAL
 217. Pr. KOUTANI Abdellatif
 218. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
 219. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
 220. Pr. NAZZI M'barek*
 221. Pr. OUAHABI Hamid*
 222. Pr. SAFI Lahcen*
 223. Pr. TAOUFIQ Jallal
 224. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

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

Novembre 1998

225. Pr. BENKIRANE Majid*
 226. Pr. KHATOURI Ali*
 227. Pr. LABRAIMI Ahmed*

Hématologie
 Cardiologie
 Anatomie Pathologique

Novembre 1998

228. Pr. AFIFI RAJAA
 229. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*
 230. Pr. ALOUANE Mohammed*
 231. Pr. LACHKAR Azouz
 232. Pr. LAHLOU Abdou
 233. Pr. MAFTAH Mohamed*
 234. Pr. MAHASSINI Najat
 235. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
 236. Pr. MANSOURI Abdelaziz*
 237. Pr. NASSIH Mohamed*
 238. Pr. RIMANI Mouna

Gastro - Entérologie
 Pneumo-phtisiologie
 Oto- Rhino- Laryngologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Neurochirurgie
 Anatomie Pathologique
 Pédiatrie
 Neurochirurgie
 Stomatologie Et Chirurgie Maxillo Faciale
 Anatomie Pathologique

239. Pr. ROUMI Abdelhadi

Neurologie

Janvier 2000

240. Pr. ABID Ahmed*
241. Pr. AIT OUMAR Hassan
242. Pr. BENCHERIF My Zahid
243. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd
244. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
245. Pr. CHAOUI Zineb
246. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
247. Pr. ECHARRAB El Mahjoub
248. Pr. EL FTOUH Mustapha
249. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
250. Pr. EL OTMANYAzzedine
251. Pr. GHANNAM Rachid
252. Pr. HAMMANI Lahcen
253. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
254. Pr. ISMAILI Hassane*
255. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
256. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
257. Pr. TACHINANTE Rajae
258. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumo-phtisiologie
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

259. Pr. AIDI Saadia
260. Pr. AIT OURHROUIL Mohamed
261. Pr. AJANA Fatima Zohra
262. Pr. BENAMR Said
263. Pr. BENCHEKROUN Nabih
264. Pr. BOUSSELMANE Nabile*
265. Pr. BOUTALEB Najib*
266. Pr. CHERTI Mohammed
267. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
268. Pr. EL HASSANI Amine
269. Pr. EL IDGHIRI Hassan
270. Pr. EL KHADER Khalid
271. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
272. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
273. Pr. HSSAIDA Rachid*
274. Pr. MANSOURI Aziz
275. Pr. OUZZANI CHAHDI Bahia
276. Pr. RZIN Abdelkader*
277. Pr. SEFIANI Abdelaziz
278. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Neurologie
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Ophtalmologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Génétique
Réanimation Médicale

PROFESSEURS AGREGES :

Décembre 2001

279. Pr. ABABOU Adil
280. Pr. AOUD Aicha
281. Pr. BALKHI Hicham*
282. Pr. BELMEKKI Mohammed
283. Pr. BENABDELJLIL Maria

Anesthésie-Réanimation
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Ophtalmologie
Neurologie

284. Pr. BENAMAR Loubna
 285. Pr. BENAMOR Jouda
 286. Pr. BENELBARHDADI Imane
 287. Pr. BENNANI Rajae
 288. Pr. BENOUACHANE Thami
 289. Pr. BENYOUSSEF Khalil
 290. Pr. BERRADA Rachid
 291. Pr. BEZZA Ahmed*
 292. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
 293. Pr. BOUHOUCHE Rachida
 294. Pr. BOUMDIN El Hassane*
 295. Pr. CHAT Latifa
 296. Pr. CHELLAOUI Mounia
 297. Pr. DAALI Mustapha*
 298. Pr. DRISSE Sidi Mourad*
 299. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira
 300. Pr. EL HIJRI Ahmed
 301. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
 302. Pr. EL MADHI Tarik
 303. Pr. EL MOUSSAIF Hamid
 304. Pr. EL OUNANI Mohamed
 305. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil
 306. Pr. ETTAIR Said
 307. Pr. GAZZAZ Miloudi*
 308. Pr. GOURINDA Hassan
 309. Pr. HRORA Abdelmalek
 310. Pr. KABBAJ Saad
 311. Pr. KABIRI El Hassane*
 312. Pr. LAMRANI Moulay Omar
 313. Pr. LEKEHAL Brahim
 314. Pr. MAHASSIN Fattouma*
 315. Pr. MEDARHRI Jalil
 316. Pr. MIKDAME Mohammed*
 317. Pr. MOHSINE Raouf
 318. Pr. NABIL Samira
 319. Pr. NOUINI Yassine
 320. Pr. OUALIM Zouhir*
 321. Pr. SABBAH Farid
 322. Pr. SEFIANI Yasser
 323. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia
 324. Pr. TAZI MOUKHA Karim

Néphrologie
 Pneumo-phtisiologie
 Gastro-Entérologie
 Cardiologie
 Pédiatrie
 Dermatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Rhumatologie
 Anatomie
 Cardiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Anesthésie-Réanimation
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Pédiatrie
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Chirurgie Générale
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Thoracique
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Médecine Interne
 Chirurgie Générale
 Hématologie Clinique
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Urologie
 Néphrologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Pédiatrie
 Urologie

Décembre 2002

325. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
 326. Pr. AMEUR Ahmed*
 327. Pr. AMRI Rachida
 328. Pr. AOURARH Aziz*
 329. Pr. BAMOU Youssef *
 330. Pr. BELGHITI Laila
 331. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 332. Pr. BENBOUAZZA Karima
 333. Pr. BENZEKRI Laila

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Gynécologie Obstétrique
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Rhumatologie
 Dermatologie

334. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
 335. Pr. BERADY Samy*
 336. Pr. BERNOUSSI Zakiya
 337. Pr. BICHA Mohamed Zakarya
 338. Pr. CHOHO Abdelkrim *
 339. Pr. CHKIRATE Bouchra
 340. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 341. Pr. EL ALJ Haj Ahmed
 342. Pr. EL BARNOUSSI Leila
 343. Pr. EL HAOURI Mohamed *
 344. Pr. EL MANSARI Omar*
 345. Pr. ES-SADEL Abdelhamid
 346. Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 347. Pr. HADDOUR Leila
 348. Pr. HAJJI Zakia
 349. Pr. IKEN Ali
 350. Pr. ISMAEL Farid
 351. Pr. JAAFAR Abdeloïhab*
 352. Pr. KRIOULE Yamina
 353. Pr. LAGHMARI Mina
 354. Pr. MABROUK Hfid*
 355. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 356. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
 357. Pr. MOUSTAINE My Rachid
 358. Pr. NAITLHO Abdelhamid*
 359. Pr. OUIJILAL Abdelilah
 360. Pr. RACHID Khalid *
 361. Pr. RAISS Mohamed
 362. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 363. Pr. RHOU Hakima
 364. Pr. RKIOUAK Fouad*
 365. Pr. SIAH Samir *
 366. Pr. THIMOU Amal
 367. Pr. ZENTAR Aziz*
 368. Pr. ZRARA Ibtisam*

Janvier 2004

369. Pr. ABDELLAH El Hassan
 370. Pr. AMRANI Mariam
 371. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 372. Pr. BENKIRANE Ahmed*
 373. Pr. BENRAMDANE Larbi*
 374. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 375. Pr. BOULAADAS Malik
 376. Pr. BOURAZZA Ahmed*
 377. Pr. CHERRADI Nadia
 378. Pr. EL FENNI Jamal*
 379. Pr. EL HANCI Zaki
 380. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 381. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 382. Pr. HACHI Hafid
 383. Pr. JABOUIRIK Fatima

- Gastro – Enterologie
 Médecine Interne
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Urologie
 Gynécologie Obstétrique
 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
 Pneumo-physiologie
 Néphrologie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique

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

384. Pr. KARMANE Abdelouahed
 385. Pr. KHABOUZE Samira
 386. Pr. KHARMAZ Mohamed
 387. Pr. LEZREK Mohammed*
 388. Pr. MOUGHIL Said
 389. Pr. NAOUMI Asmae*
 390. Pr. SAADI Nozha
 391. Pr. SASSENOU Ismail*
 392. Pr. TARIB Abdelilah*
 393. Pr. TIJAMI Fouad
 394. Pr. ZARZUR Jamila

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

Janvier 2005

395. Pr. ABBASSI Abdelah
 396. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
 397. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
 398. Pr. ALLALI fadoua
 399. Pr. AMAR Yamama
 400. Pr. AMAZOUZI Abdellah
 401. Pr. AZIZ Nouredine*
 402. Pr. BAHIRI Rachid
 403. Pr. BARAKAT Amina
 404. Pr. BENHALIMA Hanane
 405. Pr. BENHARBIT Mohamed
 406. Pr. BENYASS Aatif
 407. Pr. BERNOUSSI Abdelghani
 408. Pr. BOUKALATA Salwa
 409. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
 410. Pr. DOUDOUH Abderrahim*
 411. Pr. EL HAMZAOUI Sakina
 412. Pr. HAJJI Leila
 413. Pr. HESSISSEN Leila
 414. Pr. JIDAL Mohamed*
 415. Pr. KARIM Abdelouahed
 416. Pr. KENDOSSI Mohamed*
 417. Pr. LAAROUSSI Mohamed
 418. Pr. LYACOUBI Mohammed
 419. Pr. NIAMANE Radouane*
 420. Pr. RAGALA Abdelhak
 421. Pr. REGRAGUI Asmaa
 422. Pr. SBIHI Souad
 423. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam
 424. 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
 Anatomie Pathologique
 Histo Embryologie Cytogénétique
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique

Avril 2006

425. Pr. ACHEMLAL Lahsen*
 426. Pr. AFIFI Yasser
 427. Pr. AKJOUJ Said*
 428. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra
 429. Pr. BELMEKKI Abdelkader*
 430. Pr. BENCHEIKH Razika
 431. Pr. BIYI Abdelhamid*

Rhumatologie
 Dermatologie
 Radiologie
 Dermatologie
 Hématologie
 O.R.L
 Biophysique

432. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 433. Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 434. Pr. CHEIKHAOUI Younes
 435. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 436. Pr. DOGHMI Nawal
 437. Pr. ESSAMRI Wafaa
 438. Pr. FELLAT Ibtiassam
 439. Pr. FAROUDY Mamoun
 440. Pr. GHADOUANE Mohammed*
 441. Pr. HARMOUCHE Hicham
 442. Pr. HNAFI Sidi Mohamed*
 443. Pr. IDRIS LAHLOU Amine
 444. Pr. JROUNDI Laila
 445. Pr. KARMOUNI Tariq
 446. Pr. KILI Amina
 447. Pr. KISRA Hassan
 448. Pr. KISRA Mounir
 449. Pr. KHARCHAFI Aziz*
 450. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 451. Pr. MANSOURI Hamid*
 452. Pr. NAZIH Naoual
 453. Pr; OUANASS Abderrazzak
 454. Pr. SAFI Soumaya*
 455. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 456. Pr. SEFIANI Sana
 457. Pr. SOUALHI Mouna
 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

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
 Parasitologie
 Radiothérapie
 O.R.L
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Anatomie Pathologique
 Pneumo-Phtisiologie
 Pneumo-Phtisiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES **PROFESSEURS**

1. Pr. ALAMI OUHABI Naima
 2. Pr. ALAOUI KATIM
 3. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
 4. Pr. ANSAR M'hammed
 5. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
 6. Pr. BOURJOUANE Mohamed
 7. Pr. DRAOUI Mustapha
 8. Pr. EL GUESSABI Lahcen
 9. Pr. ETTAIB Abdelkader
 10. Pr. FAOUZI Moulay El Abbes
 11. Pr. HMAMOUCHE Mohamed
 12. Pr. REDHA Ahlam
 13. Pr. TELLAL Saida*
 14. Pr. TOUATI Driss
 15. Pr. ZELLOU Amina

Biochimie
 Pharmacologie
 Histologie – Embryologie
 Chimie Organique et Pharmacie Chimique
 Applications Pharmaceutiques
 Microbiologie
 Chimie Analytique
 Pharmacognosie
 Zootechnie
 Pharmacologie
 Chimie Organique
 Biochimie
 Biochimie
 Pharmacognosie
 Chimie Organique

* Enseignants Militaires

Je dédie cette thèse...

A mes chers parents

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

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

Aucune dédicace ne peut exprimer ce que je ressens en pensant à tous les sacrifices et l'affection, dont vous m'avez entouré.

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

Puisse Dieu vous procure santé, bonheur et longue vie.

A mon frère, Marouane

Que ce travail te reflète ma profonde affection et mon attachement sincère. Je te souhaite une vie heureuse, pleine de bonheur et de réussite.

A ma chère grand-mère, Hadja Malika

Merci pour votre générosité, vos encouragements et vos prières. Que Dieu vous donne santé et vous accorde longue vie.

A la mémoire de mes grands parents paternels et mon grand père maternel

J'aurais tant aimé que vous soyez à mes côtés ce jour. Que ce travail soit un hommage que je rends à votre mémoire. Que Dieu vous accorde sa clémence et sa miséricorde.

A toutes mes tantes et tous mes oncles au Maroc et ailleurs

Merci pour vos encouragements et vos prières. Que l'esprit de famille nous unisse toujours.

A tous mes cousins et cousines

Ce travail est aussi le votre. Je vous souhaite tout le bonheur et le succès du monde.

A mes chères amies

En souvenir des bons moments passés ensemble, et pour tous ceux à venir.

Remerciements

**A notre Maître et Président de thèse,
Monsieur le Professeur YAHIA CHERRAH
Professeur de Pharmacologie**

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury de thèse, malgré vos multiples occupations.

Nous avons eu le privilège de compter parmi vos étudiants.

Nous rendons hommage à votre sérieux, votre humanisme, votre dynamisme et votre haute compétence.

Nous vous prions de bien vouloir, chère Maître, accepter le témoignage de notre profonde reconnaissance, de notre respect et de notre grande estime.

**A notre Maître et Rapporteur de thèse,
Monsieur le Professeur ABDELAZIZ BOUKLOUZE
Professeur des Applications Pharmaceutiques**

Nous sommes très heureux de l'honneur que vous nous avez fait en nous confiant ce travail auquel vous avez contribué en nous guidant, en nous conseillant et en nous consacrant une partie de votre temps précieux.

Nous avons apprécié votre encadrement, vos compétences, et votre disponibilité.

Nous vous prions de bien vouloir, chère Maître, accepter le témoignage de notre profond reconnaissance et de notre respect.

**A notre Maître et Juge de thèse,
Monsieur le Professeur REDOUANE ABOUKAL
Professeur de Réanimation Médicale**

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de siéger parmi les membres du jury de notre thèse.

Veillez trouver, chère Maître, dans ce travail, le témoignage de notre reconnaissance et l'expression de nos remerciements respectueux.

**A notre Maître et Juge de thèse,
Monsieur le Professeur MUSTAFA DRAOUI
Professeur de Chimie Analytique**

Nous vous remercions vivement pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Nous sommes très sensibles à votre gentillesse et à votre accueil très aimable.

Veillez croire en nos sentiments les plus respectueux

*Les contrôles par HPLC ont été réalisés au laboratoire de Biochimie de la faculté de Médecine et de pharmacie de Casablanca, sous la responsabilité de **Monsieur le Professeur Adelrahim NOUAMAN**. Nous vous prions de bien vouloir trouver ici l'expression de notre reconnaissance et notre profond respect.*

Nous remercions également tous les membres du Laboratoire de la sympathie qu'ils nous ont témoigné et leur accueil.

*Tous nos remerciements à **Monsieur le Professeur Brahim MAJIDI** chef du laboratoire de Biophysique de la Faculté de Médecine et de pharmacie de Casablanca qui a bien veillé au bon déroulement des contrôles par HPLC.*

*A **Monsieur Abdelrahim HSSAINE** du laboratoire de biophysique un grand merci pour sa collaboration et sa serviabilité.*

*A **Monsieur Miloud ElKarbane** du laboratoire national de contrôle des médicaments qui a veillé au bon déroulement des essais de dissolution.*

*A **Monsieur Mohammed AlKamarany**, Doctorant en sciences du médicament à Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat pour sa sympathie et son enthousiasme.*

A tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, Un grand merci.

PLAN

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE	1
PARTIE THEORIQUE	4
I. Le Test de dissolution	5
I.1. Introduction	6
I.2. Définition	8
I.3. Intérêt	9
I.4. Facteurs influençant le test de dissolution	10
I.5. Comparaison des profils de dissolution	11
I.6. Réglementation.....	12
I.5.1. Exigences des essais de dissolution dans les différentes pharmacopées	12
I.5.2. Autres exigences	18
I.5.3. Dérogation aux études de biodisponibilité basée sur le système de classification biopharmaceutique	18
I.5.4. Situation réglementaire au Maroc	23
II. Développement des essais de dissolution	26
II.1. Introduction	27
II.2. Propriétés physico-chimiques	27
II.3. Choix de l'appareillage	29
II.4. Choix du milieu de dissolution	29
II.5. Choix du volume du milieu	32
II.6. Choix de la vitesse de rotation	32
II.7. Choix de la méthode de dosage.....	32
II.8. Choix des temps et du nombre de prélèvements	33
II.9. Choix des autres paramètres	34

III. Méthodologie des plans d'expériences	36
III.1. Définition	37
III.2. Concepts de base	38
III.3. Les étapes d'un plan d'expériences	43
III.4. Stratégie des plans d'expériences.....	44
III.5. Plan factoriel complet à deux niveaux	45
III.6. Méthode des surfaces de réponse	47
PARTIE PRATIQUE	50
I. INTRODUCTION	51
II. MATERIEL ET METHODE	52
II.1. Matériel	52
II.1.1. Matières premières et spécialités pharmaceutiques	52
II.1.2. Réactifs	53
II.1.3. Appareillage.....	54
II.2. Méthodes	55
II.2.1. Essais de dissolution.....	55
II.2.2. Analyses par spectrophotométrie UV-Visible.....	55
II.2.3. Analyses par chromatographie liquide HPLC	56
II.2.4. Validation de la méthode du dosage par HPLC	57
II.2.5. Plan d'expériences.....	59
II.2.6. Comparaison des profils de dissolution	62
III. RESULTATS ET DISCUSSION	62
III.1. Optimisation de la méthode du dosage.....	62
III.2. Optimisation des conditions de dissolution par la méthodologie des plans d'expériences	77
III.3. Application pour le contrôle des génériques	87
IV. CONCLUSION	91
CONCLUSION GENERALE	92
RESUMES	

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

LISTE DES ABREVIATIONS

BCS	Système de Classification Biopharmaceutique
BP	Pharmacopée Britannique
EMA	Agence Européenne des Médicaments
FDA	Food and Drug Administration
ICH	Conférence Internationale d'Harmonisation
JP	Pharmacopée Japonaise
MPE	Méthodologie des Plans d'Expériences
NF	National Formulary
OMS	Organisation Mondiale de la santé
Ph.Eur	Pharmacopée Européenne
rpm	Rotation par minute
SFSTP	Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques
USP	Pharmacopée Américaine

INTRODUCTION GENERALE

Dans l'industrie pharmaceutique, le test de dissolution est un élément important pour le contrôle qualité et l'évaluation des performances des produits médicamenteux. Son importance réside dans le fait qu'un médicament avant qu'il soit absorbé et disponible dans la circulation, il doit tout d'abord être libéré de sa forme galénique [1].

Par conséquent, les tests de dissolution in vitro traitent non seulement des questions de contrôle de la qualité des formes pharmaceutiques, mais en plus joue un rôle important dans l'orientation du développement de nouveaux produits. Ils sont utilisés aujourd'hui dans une grande variété d'applications: pour aider à identifier les formulations qui produiront les meilleurs résultats dans les études cliniques, pour évaluer la qualité d'une formulation de lot à lot afin de libérer les produits sur le marché et pour étudier la stabilité des produits pharmaceutiques. De plus, ces tests peuvent dans certains cas être conçus pour déterminer si une version générique d'un médicament est approuvée ou non [2].

Cependant, Il est important que les résultats obtenus par un essai de dissolution donné reflètent les variations du produit et non celles du test qui doit donc être parfaitement défini et de variabilité bien déterminée [3]. Une optimisation des conditions du test de dissolution est nécessaire afin de rendre les résultats fiables et le test suffisamment sensible.

L'optimisation à l'aide de la méthodologie des plans d'expériences est une approche largement pratiquée dans le développement des formulations et des tests de dissolution des différentes formes pharmaceutiques [4,5,6,7]. Elle a l'avantage d'extraire le maximum d'informations avec un minimum d'expériences. Cela s'avère être beaucoup plus efficace et plus rentable que les méthodes classiques (variations d'un facteur à la fois).

Ce travail présente un exemple d'application de la méthodologie des plans d'expériences basé sur la méthode des surfaces de réponse pour développer et optimiser une méthode de dissolution des comprimés d'amlodipine bésilate dosés à 5 mg, tout en respectant les normes et les exigences réglementaires.

Notre travail est divisé en deux parties :

Dans la première partie, nous avons présenté le test de dissolution, ses intérêts et sa réglementation. Nous avons ensuite abordé la conception et le développement des essais de dissolution et enfin nous avons mis l'accent sur la méthodologie des plans expériences, ses concepts et ses avantages.

Dans la deuxième partie, nous avons exposé et discuté les résultats de

- la validation de la méthode du dosage selon les critères de l'ICH (conférence international d'harmonisation) et de la société française des sciences et techniques pharmaceutiques (SFSTP) 1992.
- l'optimisation des conditions de dissolution à partir des comprimés du princeps en utilisant la méthodologie des plans d'expériences.
- l'étude comparative des profils de six génériques au princeps, en appliquant les conditions optimales trouvées.

PARTIE
THEORIQUE

Chapitre I

Le Test de dissolution

I.1. INTRODUCTION

Il ne suffit pas d'administrer un certain nombre de prises unitaires parfaitement dosées en principe actif pour avoir l'effet thérapeutique désiré. Le principe actif doit franchir plusieurs étapes entre le moment de son administration et celui de l'obtention de l'effet. Ces étapes sont groupées en trois phases (figure 1) :

1. La phase biopharmaceutique qui comporte les étapes de la mise à disposition de l'organisme des principes actifs.
2. La phase pharmacocinétique qui correspond au devenir in vivo du principe actif.
3. La phase pharmacodynamique qui correspond à la réponse pharmacodynamique résultant de l'interaction d'un principe actif et d'un récepteur. Cette réponse est une composante de l'effet thérapeutique recherché. [8]

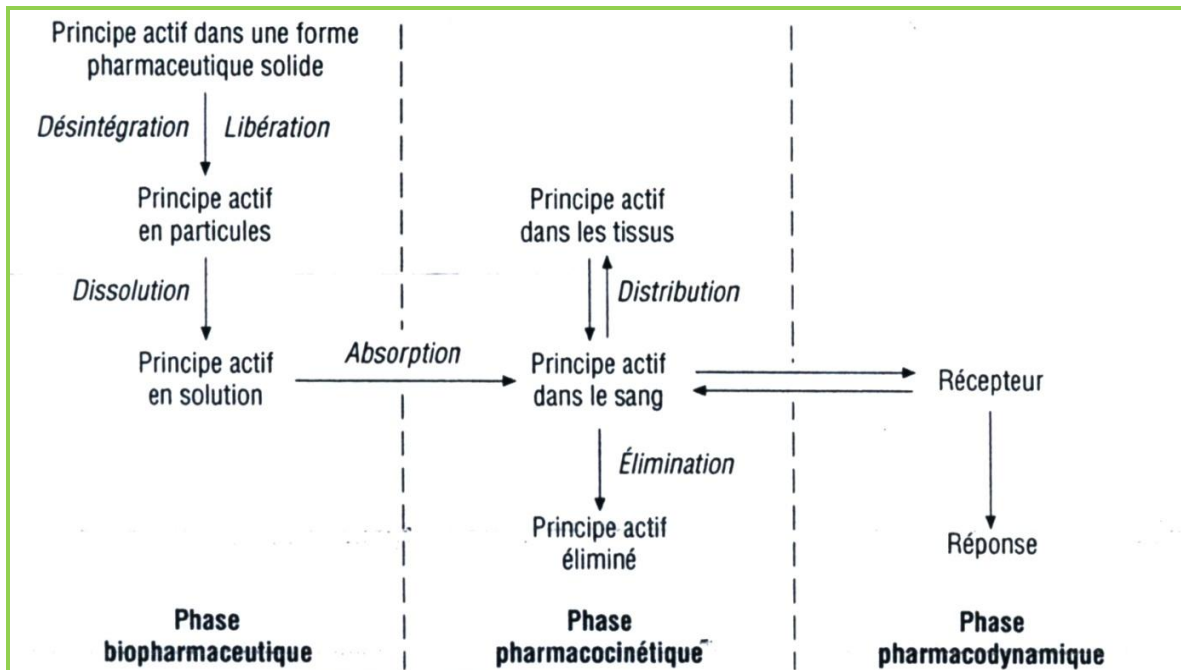


Figure 1. Représentation schématique des divers aspects de la mise à disposition (phase biopharmaceutique), du devenir d'un principe actif dans l'organisme (phase pharmacocinétique) et de la réponse pharmacologique (phase pharmacodynamique). [8]

La phase biopharmaceutique, qui peut être résumée par la libération à partir de la forme galénique puis la dissolution du principe actif, est primordiale car elle précède l'absorption et peut la limiter si elle est insuffisante. Cette phase contrôle la biodisponibilité et donc l'efficacité du médicament puisque seule la partie dissoute atteint l'organe cible et est pharmacologiquement active. La détermination de la dissolution in vitro est donc un facteur important dans le développement et le contrôle des formes pharmaceutiques. [9]

La première référence concernant la dissolution provient d'un article de Noyes et Withney en 1897 décrivant « la vitesse de dissolution des substances solides dans leur propre solution » [10]. De nombreux travaux ont été réalisés depuis, permettant de relier et /ou corréler dissolution et vitesse d'absorption. Ainsi, l'étude de la dissolution in vitro est devenue un paramètre clé pour le contrôle qualité des formes pharmaceutiques. Les autorités d'enregistrement réclament des essais de dissolution pour contrôler les formes pharmaceutiques, et des directives spécifiques ont été établies [9].

I.2. DEFINITION

L'essai de dissolution est un test pharmacotechnique 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 intervalles de temps différents [9].

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

I.3. INTERET [11, 12, 13]

L'essai de dissolution peut intervenir à plusieurs stades de l'élaboration .2.

- **En préformulation**

Plusieurs propriétés fondamentales sont étudiées en préformulation comme la solubilité, la constante d'ionisation, le coefficient de partage, la vitesse de dissolution, la stabilité, l'hygroscopicité et le polymorphisme. Il est important de connaître la vitesse de dissolution d'un principe actif dans le cas des principes actifs très faiblement solubles pour envisager des solutions permettant de la modifier.

- **En développement**

Au stade de la formulation galénique, des études comparatives de dissolution de plusieurs formes permettent d'optimiser la formulation et de s'assurer que la libération du principe actif est complète à partir de la forme galénique.

L'établissement des profils de dissolution est indispensable comme guide de la formulation des formes orales solides et pour la mise en évidence du degré de pertinence de l'essai de dissolution.

Un grand nombre de paramètres de fabrication peuvent intervenir sur la dissolution d'une forme pharmaceutique solide par voie orale tels que le procédé de fabrication (compression directe ou granulation humide), la force de compression, la distribution granulométrique... La nature, les propriétés physiques et les pourcentages d'excipients peuvent jouer un rôle important sur la libération du principe actif surtout s'ils ont été sélectionnés pour en modifier la vitesse.

- **En contrôle de routine**

Il sert à démontrer la reproductibilité du procédé de fabrication et la conformité du produit fini avec les lots précédents. Après fixation de normes de dissolution strictes, il permet d'assurer la reproductibilité inter lot. Ce contrôle de qualité prend un intérêt prédictif supplémentaire lorsque des corrélations in vitro /in vivo ont été établies, c'est-à-dire lorsque les variations de dissolution ont une répercussion définie sur la biodisponibilité.

I.4. FACTEURS INFLUENÇANT LE TEST DE DISSOLUTION [3, 13]

Les facteurs interférant dans une détermination de la vitesse de dissolution peuvent être classés en :

- **Facteurs dépendant du médicament :**

- Les propriétés physico-chimiques du principe actif [14]: solubilité, granulométrie, polymorphisme
- Les excipients [15]: Liants, délitants, lubrifiants, tensioactifs, diluants
- La forme pharmaceutique [16]: Nature de la forme galénique, procédé de fabrication, conditions de conservation, interactions principe actif/excipients.

- **Facteurs dépendant de la méthode de dissolution [4]:**

- L'appareillage : agitation, méthode de prélèvement, filtration, vibrations
- Les paramètres de dissolution : nature, pH et volume du milieu de dissolution, vitesse de rotation, temps de prélèvement température, gaz dissous.

I.5 .COMPARAISON DES PROFILS DE DISSOLUTION [2,11,18]

Les résultats des tests de dissolution ont essentiellement une valeur relative et/ou comparative. Les méthodes de comparaison sont nombreuses et peuvent être classées comme suit :

- a. Les méthodes statistiques qui utilisent une analyse de variance ou un test de *student* ;
- b. Les méthodes modèles dépendants qui comparent les paramètres (i.e. constante de vitesse) issus des modélisations ;
- c. Les méthodes modèles indépendants. (méthodes des facteurs de similarité)

Le test de comparaison le plus utilisé est un test de comparaison mathématique modèle indépendant, le test de comparaison f_1 et f_2 qui a été adopté par la FDA (Food and Drug Administration) et l'Agence Européenne du Médicaments (EMA) comme critère pour mettre en évidence la similarité entre deux profils in vitro.

Ce test nécessite le calcul de deux fonctions f_1 et f_2 .

f_1 est la fonction de relative différence qui est la différence de pourcentage entre deux courbes à chaque point, c'est-à-dire une mesure de l'erreur relative entre deux courbes étudiées. La fonction de similarité f_2 permet de comparer l'allure des profils.

$$f_1 = \frac{\sum_t^n (R_t - T_t)}{\sum_t^n R_t} \times 100$$

$$f_2 = 50 \times \log\left(\left[1 + \frac{1}{n} \sum_t^n (R_t - T_t)^2\right]^{-0.5} \times 100\right)$$

Avec : n, nombre de points de prélèvement ;
 R_t , dissolution au temps t de la référence ;
 T_t , dissolution au temps t de la forme à tester.

La valeur de f_1 doit être proche de zéro et la valeur f_2 proche de 100% pour que deux profils puissent être considérés comme équivalents. En générale des valeurs de f_1 inférieures à 15 et f_2 supérieures à 50 sont les limites fixées pour conclure à l'équivalence entre deux profils.

Remarque :

- Le coefficient de variation ne doit pas varier de plus de 20% pour les premiers points de la cinétique et 10% pour les autres points.
- Le profil de dissolution doit comporter douze essais.

I.6. REGLEMENTATION

I.6.1. Exigences des essais de dissolution dans les différentes pharmacopées [19,20]

La *Pharmacopée Américaine* (USP) a joué un rôle pionnier dans le développement et l'évolution des essais de dissolution. La reconnaissance d'une nécessité de contrôler la performance de la dissolution in vitro des produits à administration par voies orales a été perçue en 1967 par la formation d'une commission USP-NF sur la biodisponibilité. En 1970, L'USP et le NF ont

séparément introduit des procédures de dissolution pour certains produits médicamenteux. En 1980, le nombre de monographies contenant un test de dissolution est passé à 72 monographies. Depuis, l'USP n'a cessé de concevoir et de contribuer à l'élaboration de procédures officielles au début pour les formes orales solides à libération immédiate puis aux formes à libération modifiée. En 2004, L'USP compte 185 monographies de capsules dont 121 exigent un test de dissolution et parmi 527 monographies de comprimés, 346 demandent un essai de dissolution.

Avec la même approche, la *Pharmacopée Britannique* (BP) a élaboré, en 1973, des normes officielles pour la dissolution des comprimés et des gélules contenant des substances actives peu solubles. La mise en œuvre des essais de dissolution a été effectuée selon un processus à plusieurs étapes semblable à celui employé par l'USP. En 1980, les essais de dissolution ont été inclus dans 14 monographies de comprimés et 4 monographies de gélules.

Pour la *Pharmacopée Japonaise* (JP), un premier test de dissolution a été décrit en 1981. L'augmentation des spécifications pour la dissolution des formes orales est en croissance mais moins remarquable par rapport à l'USP et BP.

La *Pharmacopée Européenne* (Ph. Eur.) a édité, en 1991, un premier chapitre sur l'essai de dissolution des formes pharmaceutiques orales solides qui a été réactualisé en 2004. Mais, elle n'a pas de monographies pour les produits finis et par conséquent ne fournit aucune méthode spécifique pour les essais de dissolution.

Bien que les différences régionales entre les spécifications individuelles pour les centaines de formes orales continueront dans l'avenir, l'harmonisation globale de l'essai de dissolution a atteint un degré assez élevée.

Les discussions périodiques entre USP, Ph. Eur. et JP, avec l'OMS comme observateur, facilitent l'harmonisation. Cette association connue comme le groupe de discussion de la pharmacopée (PDG) a priorisé l'harmonisation des chapitres généraux basés sur les spécifications identifiées dans les lignes directrices Q6A de l'ICH. Les domaines concernés par l'harmonisation sont les appareils, les procédures et les critères d'acceptation. [20]

1.6.1.1. Appareils de dissolution

Compte tenu de la diversité des formes pharmaceutiques orales solides et des propriétés physico-chimiques des principes actifs, il n'est pas possible de concevoir un appareil unique utilisable pour toutes les formes. Il existe un grand nombre d'appareils décrits dans la littérature dont certains sont dédiés à une seule et unique forme pharmaceutique [9]. Compte tenu de la nécessité de disposer d'un contrôle qualité fiable et reproductible, les autorités d'enregistrement ont standardisé quatre appareils pour les pharmacopées (américaine, européenne et japonaise) pour les essais de dissolution des formes orales solides [21,22]:

- Appareil 1 : appareil à panier (basket apparatus) ; (figure 2)
- Appareil 2 : appareil à palettes (paddle apparatus) ; (figure 3)
- Appareil 3 : appareil à piston (Reciprocating cylinder); (figure 4)
- Appareil 4 : cellule à flux continue (Flow- through cell). (figure 5)

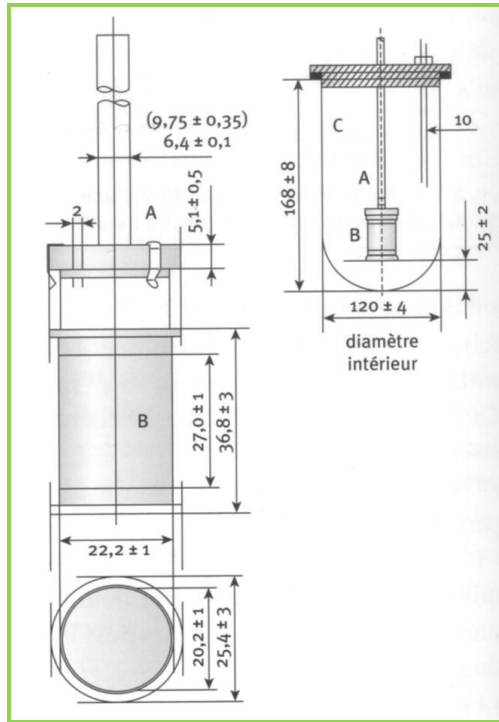


Figure 2. Appareil 1, à panier (dimensions en millimètres)

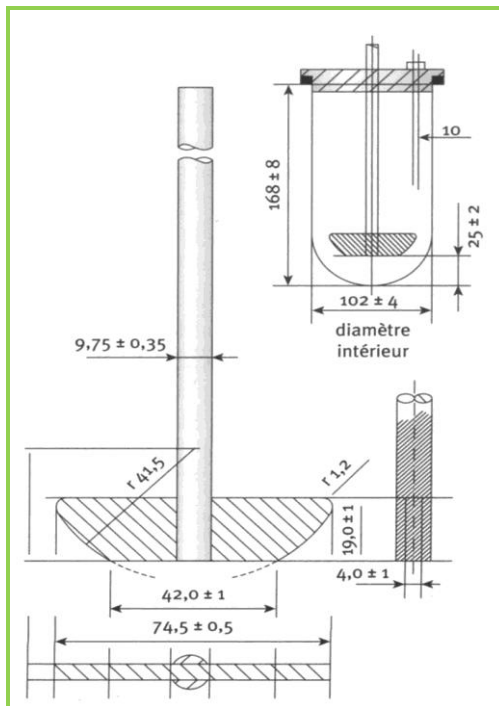


Figure 3. Appareil 2, à palette (dimensions en millimètres)

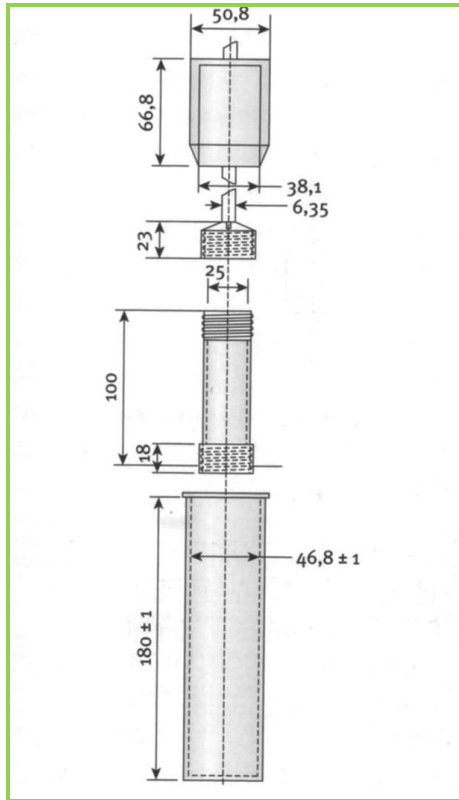


Figure 4. Appareil 3, à piston (dimensions en millimètres)

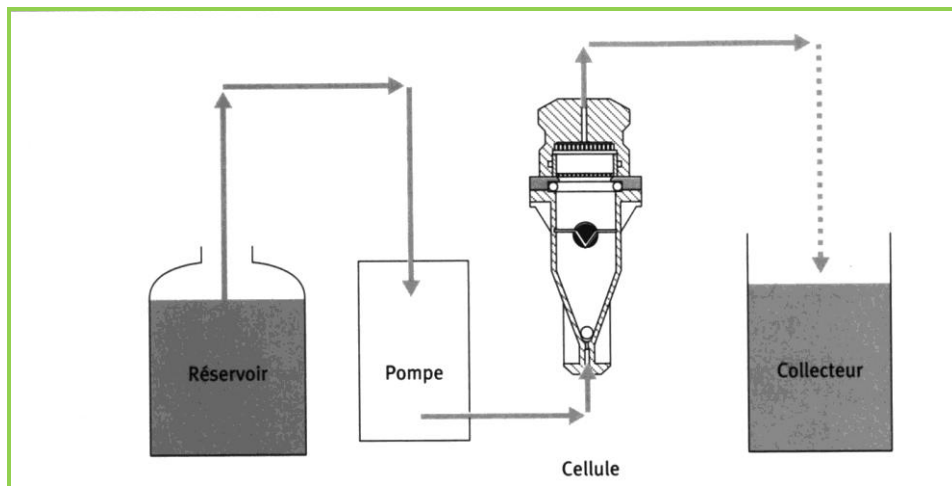


Figure 5. Cellule à flux continu en circuit ouvert

1.6.1.2. Spécifications [21, 22]

En contrôle qualité, les résultats obtenus lors de l'essai de dissolution permettent de définir la conformité du lot fabriqué en comparant le pourcentage dissous obtenu pour des temps bien définis par rapport aux normes fixées.

Le test de dissolution in vitro étant effectué sur une unité et conduisant à la destruction de la forme, afin d'apprécier la variabilité à l'intérieur d'un même lot de fabrication, l'essai est réalisé sur six unités.

Le critère sur la base duquel sont établies les spécifications de dissolution est la quantité de principe actif qui est passé en solution à un temps donné. Cette quantité est exprimée en pourcentage de la teneur indiquée sur l'étiquette. Les critères d'acceptation en fonction des différentes formes sont décrits dans les pharmacopées.

** Spécifications de dissolution des formes orales solides à libération conventionnelle ou immédiate :*

Dans la plupart des cas, les critères d'acceptation correspondent à une quantité de substance active libérée d'au moins 80 %, dans un intervalle de temps défini, généralement inférieur à 45 min. Un seul point est généralement suffisant pour démontrer que la plupart de la substance active a été libérée.

Dans les cas où la dissolution est plus lente ou le principe actif peu soluble, les normes de dissolution sont fixées à partir de deux points (par exemple 30 et 90 min).

Les exigences de l'essai sont satisfaites si les quantités de substances passées en solution sont conformes aux critères d'acceptation du tableau I ci-dessous. Il faut poursuivre l'essai jusqu'au 3^{ème} niveau sauf si les résultats sont conformes aux niveaux S₁ ou S₂.

Tableau I. Critères d'acceptation pour les formes conventionnelles. [21]

Niveau	Nombre d'unités examinées	Critères d'acceptation
S ₁	6	Aucune unité n'est inférieure à Q+5 pour cent.
S ₂	6	La moyenne des 12 unités (S1+S2) est égale ou supérieure à Q et aucune unité n'est inférieure à Q – 15 pour cent.
S ₃	12	La moyenne des 24 unités (S1+S2+S3) est égale ou supérieure à Q, au maximum 2 unités peuvent être inférieure à Q – 15 pour cent et aucune unité n'est inférieure à Q – 25 pour cent.

Q est la quantité de principe actif dissous, exprimée en pourcentage de la teneur indiqué sur l'étiquette, qui doit être obtenue à l'instant t (Q=75%). Q et t sont des valeurs spécifiées dans la monographie du principe actif étudié.

I.6.2. Autres exigences

En raison de l'importance de la dissolution, la FDA a mis au point des directives qui fournissent des recommandations générales, des spécifications et des réglementations pour l'application des tests de dissolution [18, 23]. La directive publiée en 2000, sur la dérogation aux études de biodisponibilité basées sur le système de classification biopharmaceutique (BCS) suggère que

l'établissement de la bioéquivalence par des études de dissolution est possible pour les formes à libération immédiate dont le principe actif est très soluble et très perméable [2].

Les lignes directrices ICH Q6A décrivent les spécifications générales de ces essais et autorisent l'utilisation des tests de désintégration comme substitut aux tests de dissolution dans les contrôles de routine.

(Arbres de décisions n°7_{1,2,3}) [24]

I.6.3. Dérogation aux études de biodisponibilité basée sur le système de classification biopharmaceutique

En 1995, la FDA a adopté l'approche du système de classification biopharmaceutique dans le but d'accorder une dérogation sur les études de bioéquivalence in vivo pour les produits qui ont subis des changements post approbation [25]. Au lieu de réaliser des études in vivo longues et coûteuses, un essai de dissolution pourrait être adopté comme base de substitution pour décider si deux produits sont équivalents. A cette époque, l'approche de dérogation aux études de biodisponibilité in vivo « *Biowaiver* » n'était considérée que pour les changements post approbation des produits pharmaceutiques (SUPAC). Plus récemment, l'application de ce concept a été étendue à l'approbation de certains produits génériques administrés par voie orale [2].

L'application de la dérogation est limitée aux substances médicamenteuses possédant une grande solubilité, une perméabilité intestinale élevée et uniquement pour les formes solides à libération immédiate. La raison de cette restriction est que le médicament dans ces conditions se comporte comme une

solution et donc la dissolution ne limite pas la biodisponibilité. Dans ce cas, la composition du produit pharmaceutique est négligeable et insignifiante à condition que les excipients n'influencent pas l'absorption du principe actif à travers la paroi du tube digestif. [26]

L'avantage majeur de cette dérogation est de simplifier les procédures d'approbation des produits pharmaceutiques et de réduire le temps et le coût des nouveaux produits sur le marché. Cette réglementation vise à réduire la charge réglementaire sans sacrifier la qualité des produits pharmaceutiques. Elle oriente clairement vers une vision selon laquelle le test de dissolution est passé d'un simple test de contrôle qualité à une substitution des études in vivo de bioéquivalence. [27]

1.6.3.1. Système de Classification Biopharmaceutique BCS [26]

Le système de classification biopharmaceutique a été proposé en 1995, par Amidon et al. [28]. Il s'agit d'un cadre scientifique qui classe les substances actives en fonction de leur solubilité et leur perméabilité intestinale. Les quatre classes possibles pour un principe actif dans le BCS sont

Classe I	Solubilité élevée	Perméabilité élevée
Classe II	Solubilité faible	Perméabilité élevée
Classe III	Solubilité élevée	Perméabilité faible
Classe IV	Solubilité faible	Perméabilité faible

La FDA a mis des spécifications concernant la solubilité et la perméabilité aux frontières des classes utilisées.

La **solubilité** d'une substance active est considérée comme élevée, lorsque le rapport de la plus haute dose administrée par voie orale (mg) sur la solubilité (mg/ml) est égal à 250 ml ou moins sur toute la gamme de pH de 1 à 7,5 à 37°C.

Une substance est considérée comme hautement **perméable**, lorsque 90% ou plus de la dose administrée sont absorbés dans l'intestin grêle.

A la lumière de plusieurs travaux scientifiques, l'OMS a proposé des critères révisés du BCS et des conditions supplémentaires pour sélectionner les produits à la dérogation permettant l'élargissement du champ d'application. Le résultat de cette révision est que de nombreuses substances actives de la liste des médicaments essentiels peuvent être sujettes à une dérogation aux études de bioéquivalence in vivo. [26] (Figure 4)

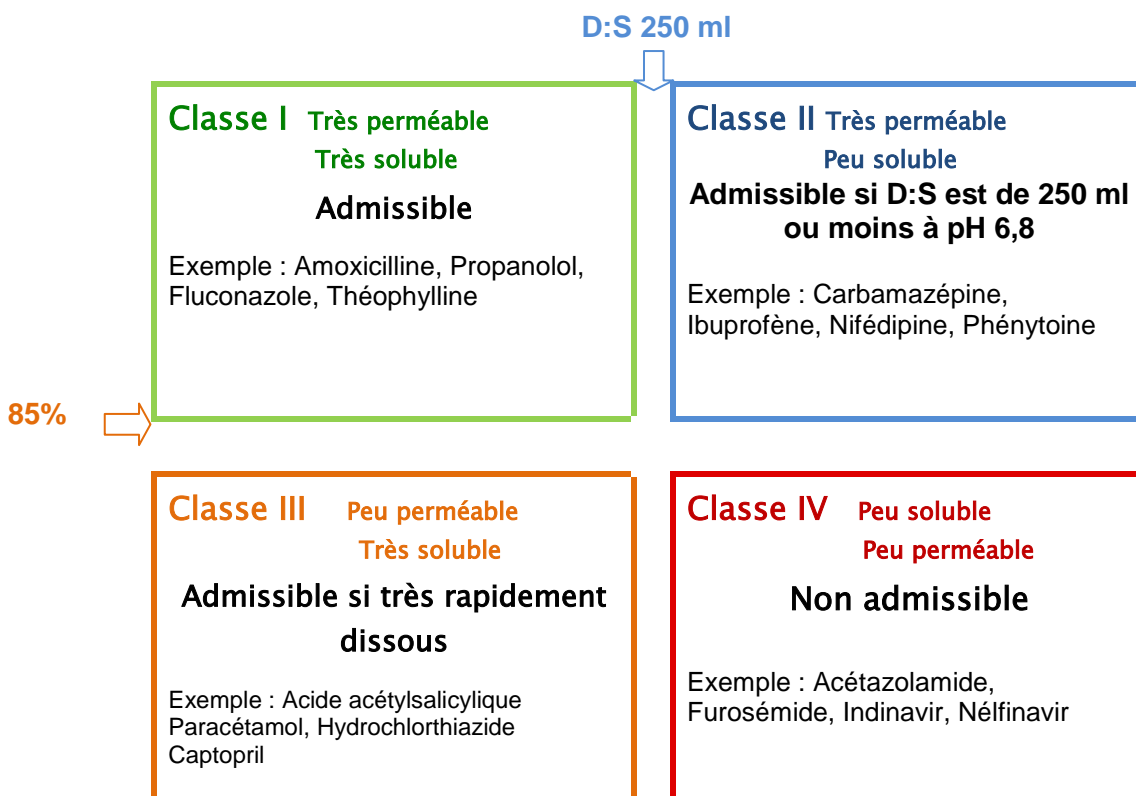


Figure 6. Révision de la procédure de dérogation aux études de biodisponibilité par l'OMS [26]

1.6.3.2. Les critères d'exemption pour les études in vivo

▪ **FDA**

La directive sur les études de biodisponibilité et de bioéquivalence [29] prévoit des dispositions pour les dérogations aux études de biodisponibilité des formes à libération immédiate ainsi que les formes à libération modifiée.

Les produits pharmaceutiques qui peuvent bénéficier de cette dérogation

- Doivent contenir un principe actif classe I du BCS ;
- Doivent avoir une **dissolution rapide**, c'est-à-dire qu'au moins 85% de la quantité de principe actif indiqué sur l'étiquette se dissout en 30 minutes dans trois milieux différents (pH 1,2, pH 4,5, pH 6,8) en utilisant l'appareil à panier (à 100 tr/min) ou l'appareil à palette (à 50 tr/ minutes) et dans un volume de 900 ml ;
- Ne doivent pas contenir des excipients qui pourrait influencés l'absorption du principe actif ;
- Ne doit pas contenir un principe actif avec un index thérapeutique étroit ;
- Ne doivent pas être conçu pour être absorbé dans la cavité buccale.

▪ **EMA**

La directive européenne sur la bio-équivalence [30] a aussi prévu des dispositives d'exemption pour les études in vivo. La dérogation basée sur le BCS est applicable aux formes solides à libération immédiate administré par voie orale et à action systémique ayant la même forme pharmaceutique que le princeps. Toutefois, elle n'est pas appliquée aux comprimés sublinguaux et les

formes à libération modifiée. Pour les formulations orodispersibles, l'approche de dérogation basée sur BCS peut être appliquée si l'absorption dans la cavité buccale est exclue.

Les dérogations basées sur le BCS sont applicables pour un médicament à libération immédiate, si :

- La substance médicamenteuse présente une grande solubilité et une absorption complète (classe I BCS) ; et
- la **similarité des profils** de dissolution est démontrée entre le produit 'test' et le princeps dans chacun des 3 milieux de pH compris entre 1 et 8 à 37°C (de préférence pH 1.2, 4.5, 6.8). Dans le cas où plus de 85% du principe actif sont dissous en 15 minutes, la similarité des profils de dissolution peut être acceptée comme démonstration de l'équivalence. La dissolution in vitro est très rapide (> 85% en 15 min) ou rapide (> 85% en 30 min) ; et
- L'excipient qui pourrait affecter la biodisponibilité quantitativement et qualitativement doit être exclu.

I.6.4. Situation réglementaire au Maroc

La circulaire du ministère de la santé n°49 DMP/00 modifiant et complétant la circulaire n°48 exige un dossier complet répondant à un ensemble d'essais, d'études, et de contrôles nécessaire pour l'autorisation de mise sur le marché des spécialités pharmaceutiques [31]. Les laboratoires pharmaceutiques doivent se conformer à cette circulaire en complétant le dossier d'AMM par le protocole, le dossier analytique et les résultats du test de dissolution pour les formes orales sèches ainsi que le profil de dissolution comparatif avec la spécialité princeps.

Selon le guide des modalités de dépôt de la documentation et des échantillons des spécialités pharmaceutiques à usage humain au laboratoire national de contrôle des médicaments [32], le dossier d'AMM doit être complété par :

1. Le profil de dissolution comparatif entre la spécialité de référence et la spécialité générique est exigé pour les produits importés sauf si une étude de biodisponibilité/ bioéquivalence est démontrée.
2. Le profil de dissolution comparatif avec la spécialité de référence doit être fourni pour les trois lots industriels de validation.
3. Le test de dissolution est un test de routine. Il doit être effectué sur chaque lot de production avant sa libération et ne peut être substitué par le test de désagrégation que si le pourcentage de dissolution est supérieur à 80% en

15 min. Ceci doit être justifié par une validation selon la ligne directrice ICH Q6A. (Arbre de décision n°7)

Les nouvelles dispositions de la loi 17-04 portant code du médicament et de la pharmacie en relative à la demande d'autorisation de mise sur le marché prévoit dans son article 8, l'établissement d'une bioéquivalence pour les produits génériques. [33] Les autorités d'enregistrement commenceront à exiger ces études dès la publication dans le bulletin officiel d'un décret d'application. Il est évident devant la lourder des études de bioéquivalence que l'essai de dissolution jouera un rôle important dans l'établissement de dérogation des études in vivo.

En effet, le projet du décret ministériel relatif à la bioéquivalence des médicaments génériques du 5 mars 2010 [34] dans son article 7 envisage pour les formes orales, solides et simples, des études de dissolution in vitro pour démontrer l'équivalence entre un médicament générique et une spécialité de référence dans les cas suivants :

1. Si la dissolution n'est pas le facteur clé de l'absorption ;
2. Si la vitesse de dissolution du principe actif est rapide dans 3 milieux à trois pH différents avec deux types de dispositifs de dissolution ;
3. Si le principe actif à une bonne solubilité et une bonne perméabilité.

Chapitre II

Développement des essais de dissolution

II.1. INTRODUCTION

Un essai de dissolution doit être mené normalement dans des conditions strictement définies pour montrer une équivalence des profils de dissolution. Les pharmacopées USP et BP n'abordent pas toutes de la même façon le test de dissolution à part l'appareillage et les critères d'acceptation qui ont été harmonisés. La Ph.Eur. se contente d'édicter des recommandations générales, la BP décrit des modes opératoires pour quelques produits ; l'USP est mieux documentée en matière d'essai de dissolution mais les milieux de dissolution, le temps de prélèvement et les conditions de mesure varient. Les milieux de dissolution ne sont pas standardisés, et influent directement sur le pouvoir discriminant du test. Il est donc facile de diminuer la discriminance d'un test de dissolution pour monter l'équivalence des cinétiques de dissolution entre deux produits. Au contraire, un milieu très discriminant peut montrer des différences significatives entre deux échantillons, alors qu'in vivo ces variations ne sont pas forcément mises en évidence. [35]

Comment fixer les conditions opératoires d'un essai de dissolution ?

II.2. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES [36]

La première étape dans le développement d'une méthode de dissolution est de déterminer les propriétés physico-chimiques de la substance médicamenteuse. La connaissance de ces propriétés facilite le choix de la nature et du volume du milieu de dissolution.

Les propriétés physico-chimiques du principe actif qui influencent la dissolution sont :

- La constante d'ionisation pKa
- La solubilité en fonction du pH
- La stabilité en fonction du pH
- La taille des particules
- La forme des cristaux
- Les forces ioniques et l'effet tampon

Parmi ces propriétés deux sont importantes à déterminer à savoir la solubilité et la stabilité du principe actif en fonction du pH. La solubilité de la substance médicamenteuse ne doit pas être un facteur limitant la dissolution de la forme pharmaceutique. Par conséquent, le taux de dissolution doit dépendre de la libération du principe actif de la forme galénique et non de sa solubilité dans le milieu de dissolution. Pour ce faire, il est nécessaire de se trouver dans les conditions *sink*. La stabilité du principe actif doit également être considérée puisque la stabilité de la molécule active dans les différents milieux de dissolution peut limiter la gamme de pH à utiliser pour réaliser le test.

Une fois ces propriétés sont définies, il est important de prendre en compte les caractéristiques de la forme pharmaceutique tel que le mode d'administration, la forme galénique (comprimés, gélules), le mode de libération (immédiate, retardé ou contrôlé). La détermination des caractéristiques de la forme pharmaceutique oriente le choix de l'appareillage.

II.3. CHOIX DE L'APPAREILLAGE [9,36]

Il est fonction de la forme galénique, de la solubilité du principe actif et du type de libération.

L'appareil à panier (appareil 1) est couramment utilisé pour les formes orales solides telles que les capsules et les comprimés. L'appareil à palette (appareil 2) est aussi fréquemment employé pour les formes solides orales avec en premier lieu les comprimés. L'appareil à piston (appareil 3) est jugé particulièrement utile pour les formes galéniques à libération modifiée de type billes. La cellule à flux continu (appareil 4) est plus particulièrement destinée à étudier les formes à libération modifiée et les formes multiparticulaires, elle permet de simuler les différents milieux du tractus et le renouvellement permanent du solvant assure le respect des conditions *sink* pour les principes actifs très peu solubles.

Pour les formes telles que les capsules qui flottent dans le milieu, un dispositif de lestage (fil d'acier inoxydable, fil de platine enroulé autour de la formulation) est utilisé pour maintenir la forme en place.

II.4. CHOIX DU MILIEU DE DISSOLUTION [37,38]

Il doit permettre la dissolution du principe actif et le maintien des conditions *Sink*. Ces conditions sont définies par la Ph. Eur. comme les conditions d'immersion telles que le produit déjà passé en solution n'entraîne pas de modification significative de la vitesse de dissolution du produit restant. Ces conditions sont normalement réalisées lorsque le volume du milieu de dissolution représente 3 à 10 fois au moins le volume de saturation.

En règle générale, on utilise un milieu de dissolution aqueux. La composition du milieu est choisie en fonction des caractéristiques physico-chimiques du ou (des) principe(s) actif(s) et excipient(s), en restant dans les limites des conditions auxquelles un médicament ou une forme pharmaceutique sont susceptibles d'être exposés après leur administration. Ceci s'applique notamment au pH et à la force ionique du milieu de dissolution. Le pH du milieu de dissolution est habituellement compris entre 1 et 8.

Le choix du milieu est généralement fonction de la visée thérapeutique et /ou du mode d'absorption du principe actif (milieu gastrique ou intestinal). IL dépend bien évidemment de la solubilité du principe actif. [38]

Si le principe actif est **soluble** en milieu aqueux, les milieux testés peuvent être :

- L'eau purifiée,
- Les milieux aqueux acide ou neutre (pH 1,2-4,5-6,8 le plus souvent),
- Des milieux aqueux avec une variation de pH : 1,2-6,8, où le changement de pH est réalisé par ajout direct de phosphate/soude dans les bols selon un protocole standardisé.

L'eau peut en effet être utilisée comme milieu de dissolution si la solubilisation du principe actif n'entraîne pas d'importantes variations de pH et s'il a été démontré que la solubilisation du principe actif n'était pas sensible aux variations du pH.

Dans tous les cas, il convient de vérifier qu'il n'y a pas de variation de pH au cours du test de dissolution ; par exemple :

- Pour une forme à libération immédiate : soit pH gastrique, soit pH 1,2 ou plus jusqu'à 5,
- Pour une forme à libération prolongée : soit pH 1,2 pendant 1h puis 6,8 jusqu'à la fin de l'essai, soit pH 6,8 directement.

Si le principe actif est **insoluble** dans un milieu de dissolution classique, on peut utiliser la démarche suivante :

1. Milieu classique additionné de tensioactif à faible concentration (laurylsulfate de sodium, Tween 80) ;
2. si impossible, cellule à flux continu.

L'utilisation d'un tensioactif est cependant limitée dans certains cas par son absorption UV, par la reproductibilité de sa qualité (différente en fonction des fournisseurs) et par sa stabilité dans le milieu (laurylsulfate de sodium instable en milieu acide).

Dans certains cas, des milieux contenant des enzymes (trypsine, pepsine, pancréatine), tels que les « *simulated gastric fluid* » ou « *simulated intestinal fluid* » décrits à l'USP, peuvent être proposés, en particulier pour les gélules, dans le but de compenser l'effet de réticulation de la gélatine. Cependant, ces agents entraînent des interférences spectrales, des difficultés de filtration et présentent des variations de qualité d'un lot à l'autre. [38]

Les différents milieux utilisables et leur composition sont décrits dans les différentes pharmacopées. Parmi les principaux milieux, les solutions tampons sont recommandées.

Quel que soit le milieu de dissolution choisi, il convient de s'assurer qu'il n'y a pas de dérive de pH en cours de dissolution et que celle-ci n'est pas trop perturbée par les variations de formes ionique qui peuvent être induites par les excipients des diverses formulations. [38]

II.5. CHOIX DU VOLUME DU MILIEU [37]

Le volume du milieu de dissolution recommandé est compris entre 500 ml et 1000 ml, 900 ml est le volume le plus couramment utilisé pour l'appareil à panier et à palette.

II.6. CHOIX DE LA VITESSE DE ROTATION [37]

En général, avec l'appareil à palette et à panier, la vitesse de rotation est comprise entre 50 et 100 rotations par minute (rpm), et en tout cas ne doit pas être supérieure à 150 tr/min.

Pour l'appareil à flux continu, le débit est normalement ajusté à une valeur comprise entre 4 ml/min et 50 ml/min.

II.7. CHOIX DE LA METHODE DU DOSAGE

La méthode du dosage doit fournir une sensibilité suffisante pour déterminer avec précision la quantité du principe actif libéré dans le milieu de dissolution. Quand les formulations sont susceptibles de changer au cours du développement du produit, il est généralement avantageux d'utiliser la chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC) comme méthode de dosage. Cependant, les méthodes de dosage spectrophotométrique UV sont plus souhaitables pour un contrôle de routine de la qualité en raison de la facilité et la rapidité de l'analyse.

La filtration des échantillons de la dissolution est habituellement nécessaire avant toute analyse. [2]

II.8. CHOIX DES TEMPS ET DU NOMBRE DE PRELEVEMENTS [36, 37]

Ces paramètres doivent être établis en fonction de la classification biopharmaceutique et de la rapidité de la dissolution.

Les résultats du test sont évalués et interprétés en fonction de la destination de l'essai. Si le test est utilisé pour le contrôle de qualité inter lots (reproductibilité des fabrications), les résultats doivent être évalués en fonction des limites et des spécifications fixées. Si par contre le test est utilisé comme test de caractérisation (évaluation biopharmaceutique, études de développement de formulation), les résultats sont habituellement évalués par des comparaisons de profils.

Pour les formes à **libération immédiate**, le test de dissolution dure généralement 30 à 60 min. Dans la plupart des cas, un seul temps de prélèvement est suffisant pour le contrôle de routine des lots. Les spécifications typiques pour la quantité de principe actif dissous, exprimées en pourcentage par rapport à la teneur en étiquette, sont supérieures ou égales à 80%. Lorsque le test est utilisé comme outil de caractérisation (évaluation biopharmaceutique, études de développement de formulation...) la comparaison des profils est nécessaire. Dans ce cas, plusieurs points allant de 10 à 60 min sont collectés de façon à caractériser les parties ascendantes et le plateau de la courbe de dissolution.

Pour les formes à **libération prolongée**, au moins trois points pour caractériser le profil de libération in vitro dans le contrôle de routine. D'autres points d'échantillonnage peuvent être nécessaires aux études de développement de la formulation. Un premier point est choisi pour éviter une libération trop rapide de la substance active « dose dumping » ; le temps choisi correspond en

générale à un taux de dissolution de 20 % à 30 %. Un point intermédiaire est choisi pour définir le profil de dissolution de la forme et correspond par conséquent à un taux de libération d'environ 50 %. Un dernier point est choisi pour vérifier qu'il y a libération complète de la substance active, c'est-à-dire, selon l'acceptation la plus courante, supérieure à 80%.

Pour les formes à **libération retardée**, les spécifications de dissolution sont à établir au cas par cas. Selon leur formulation, ces formes peuvent libérer la substance active de façon fractionnée ou en totalité lorsqu'elles sont contrôlées dans des milieux de dissolution différents (par exemple dans des conditions de pH croissantes).

Pour les produits contenant plus d'un principe actif, l'évaluation du taux de libération d'un médicament doit être déterminée pour chaque principe actif.

Les spécifications sont abordées dans les différentes pharmacopées (USP, Ph. Eur, JP) dans le cadre du chapitre général et dans les lignes directrices de la FDA et EMEA.

II.9. CHOIX DES AUTRES PARAMETRES [36,37]

- **Température**

Pour les formes orales, La température doit être maintenue à $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ dans chaque vase avant le lancement du test.

- **Désaération**

La présence de gaz dissous dans le milieu de dissolution peut affecter les résultats de l'essai, en particulier dans le cas de l'appareil à flux continu, où une désaération du milieu est nécessaire pour éviter la formation de bulles dans la

cellule. La méthode de désaération décrite dans la Ph. Eur. dans le cadre du chapitre générale sur la dissolution peut être utilisée. Cette méthode nécessite le chauffage du milieu à environ 41°C, en agitant doucement, puis la filtration immédiatement sous vide sur un filtre de porosité inférieure ou égale à 0,45 µm. D'autres techniques de désaération peuvent également être utilisées pour l'élimination des gaz dissous comme la sonication dans un bain à ultrason ou le barbotage à l'hélium.

Il est a noté que :

Une fois les conditions de dissolution sont établies, la méthode doit être validée. L'objectif de l'étude de validation est de démontrer que tous les paramètres sont maîtrisés, et que leur influence sur le résultat est acceptable au regard des spécifications définies pour le produits à analyser. La validation concerne à la fois les paramètres de l'essai de dissolution et la méthode du dosage qui lui est associée.

Chapitre III

Méthodologie des plans d'expériences

III.1. DEFINITION

La méthodologie des plans d'expériences (MPE) est une stratégie de planification d'expériences scientifiques et industrielles dans le but de retirer l'information correspondant à l'objectif que l'on s'est préalablement fixé. L'analyse de l'information recueillie fait appel aux méthodes statistiques. [39,40]

La MPE a été initiée dans les années 20 par Sir R. A. Fisher (statisticien anglais - 1925). Les premiers utilisateurs de cette méthode furent les agronomes qui ont vite compris l'intérêt des plans d'expériences. Vers les années soixante, grâce aux travaux de Taguchi, les plans d'expériences sont utilisés au Japon dans l'industrie pour améliorer la variabilité des procédés. Après le Japon, les plans d'expériences sont utilisés aux Etats Unis dans les années 80 et en Europe dans les années 90. [41]

Le terme plan d'expériences vient de l'anglais « Design of Experiments » qui se traduit par planification des expériences. En fait la méthode englobe aussi bien la définition de la séquence d'essais à réaliser pour étudier un problème donné que l'analyse statistique multivariée des résultats de ces essais. [41]

Les avantages de cette méthode sont notamment

- une diminution du nombre d'essais,
- un nombre plus important de facteurs étudiés,
- une détection des interactions entre facteurs,
- une meilleure précision sur les résultats,
- une détection des optimums ainsi qu'une optimisation et une modélisation des résultats. [42]

Elle peut s'appliquer à de nombreuses disciplines [43] et à toutes les industries à partir du moment où l'on cherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt (Y) et des variables (x_i). [44]

$$Y = f(x_1, x_2, \dots, x_k)$$

L'étude du phénomène se ramène à déterminer la fonction f qui lie la réponse Y aux différents facteurs (x_1, x_2, \dots, x_k). Pour approfondir cette approche, il faut introduire quelques notions particulières et une terminologie spécifique aux plans d'expériences.

III.2. CONCEPTS DE BASE

La compréhension de la méthode des plans d'expériences s'appuie sur deux notions essentielles, celle *d'espace expérimental* et celle de *modélisation mathématique* des grandeurs étudiées.

III.2.1. Notion d'espace expérimental [40]

Un expérimentateur qui lance une étude s'intéresse à une grandeur qu'il mesure à chaque essai. Cette grandeur est appelée *réponse*. La valeur de cette réponse dépend de plusieurs variables ou *facteurs*. La réponse dépend donc de un ou de plusieurs facteurs. Le premier facteur peut être représenté par un axe gradué et orienté (Figure 7). La valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai est appelée *niveau*. Lorsqu'on étudie l'influence d'un facteur, en général, on limite ses variations entre deux bornes.

La borne inférieure est le niveau bas. La borne supérieure est le niveau haut. Habituellement, noter -1 pour le niveau bas et +1 pour le niveau haut.

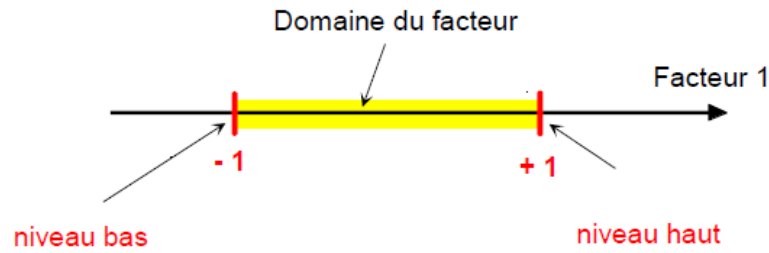


Figure 7. Le niveau bas du facteur est noté par -1 et le niveau haut par $+1$. Le domaine de variation du facteur est constitué de toutes les valeurs comprises entre le niveau bas et le niveau haut. [40]

L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut, est appelé *domaine du facteur*.

S'il y a un second facteur, il est représenté, lui aussi, par un axe gradué et orienté. On définit, comme pour le premier facteur, son niveau haut, son niveau bas et son domaine de variation. Ce second axe est disposé orthogonalement au premier. On obtient ainsi un espace appelé *l'espace expérimental*.

Le niveau x_1 du facteur 1 et le niveau x_2 du facteur 2 peuvent être considérés comme les coordonnées d'un point de l'espace expérimental (figure 8). Une expérience donnée est alors représentée par un point dans ce système d'axes. Un plan d'expériences est représenté par un ensemble de points expérimentaux.

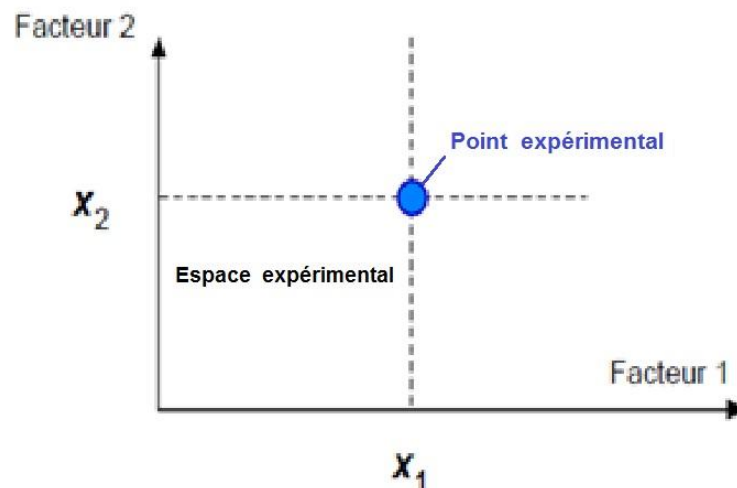


Figure 8. Les niveaux des facteurs définissent des points expérimentaux dans l'espace expérimental. [40]

Le regroupement des domaines des facteurs définit le «*domaine d'étude*». Ce domaine d'étude est la zone de l'espace expérimental choisie par l'expérimentateur pour faire ses essais. Une étude, c'est-à-dire plusieurs expériences bien définies, est représentée par des points répartis dans le domaine d'étude (Figure 9).

Cette façon de représenter une expérimentation par des points dans un espace cartésien est une représentation géométrique de l'étude.

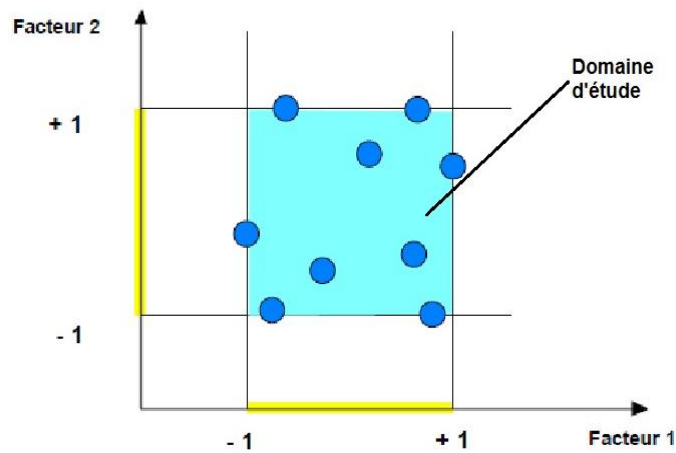


Figure 9. Les points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude défini par l'expérimentateur. [40]

Les définitions qui ont été données s'appliquent bien aux *variables continues*. Mais il existe d'autres types de variables. Il y a les *variables discrètes* comme par exemple les couleurs. On peut encore parler d'espace expérimental mais il n'aura pas les mêmes propriétés que l'espace des variables continues. Il y a également les grandeurs ordonnables comme, par exemple, des distances qui peuvent être courtes, moyennes et longues. Là aussi, la notion d'espace expérimental existe toujours mais cet espace possède des propriétés différentes des deux premières.

III.2.2. Notion de modélisation mathématique [40]

On choisit a priori une fonction mathématique qui relie la réponse aux facteurs. On prend un développement limité de la série de Taylor-Mac Laurin, c'est-à-dire une approximation. Les dérivées sont supposées constantes et le développement prend la forme d'un polynôme de degré plus ou moins élevé :

$$y = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_i x_j + \dots + \sum a_{ii} x_i^2 + a_{ij\dots z} x_i x_j \dots x_z \quad (\text{éq.1})$$

Où

- y est la réponse ou la grandeur d'intérêt. Elle est mesurée au cours de l'expérimentation et elle est obtenue avec une précision donnée.
- x_i représente le niveau attribué au facteur i par l'expérimentateur pour réaliser un essai. Cette valeur est parfaitement connue.
- a_0, a_i, a_{ij}, a_{ii} sont les coefficients du polynôme. Ils ne sont pas connus et doivent être calculés à partir des résultats des expériences.

L'intérêt de modéliser la réponse par un polynôme est de pouvoir calculer ensuite toutes les réponses du domaine d'étude sans être obligé de faire les expériences. Ce modèle est appelé "*modèle postulé*" ou "*modèle a priori*".

III.3. LES ETAPES D'UN PLAN D'EXPERIENCES

Il est possible de préciser une méthodologie en plusieurs étapes, suivant le schéma hypothético-déductif de la recherche expérimentale : [39,45]

1. *Identification de l'objectif à atteindre* : c'est une étape clé qui consiste à formuler les questions auxquelles on veut répondre.
2. *Choix de la ou des réponses à mesurer* : Il est important d'apporter le plus grand soin au choix de la ou des réponses, un choix inapproprié peut conduire à une analyse inutilement compliquée des résultats de l'expérimentation ou à une expérimentation inutilement longue.
3. *Choix des facteurs d'intérêt et leurs niveaux de variations* : Les facteurs peuvent être qualitatifs ou quantitatifs. Le nombre de facteurs, le nombre de niveaux de chaque facteur et les interactions éventuelles sont des critères déterminants pour la sélection du plan.
4. *Choix du plan d'expériences* : il doit être adéquat à l'objectif fixé.
5. *Génération du plan d'expériences* en utilisant des matrices d'expériences issues de la théorie des plans d'expériences. (plans factoriels complets ou fractionnaires, etc)
6. *Réalisation des essais* en faisant varier les facteurs selon les indications fournies par la matrice d'expériences choisie.
7. *Analyse des résultats des essais* : Les résultats obtenus à l'issue des essais permettent de calculer les coefficients d'un modèle empirique quantifiant l'effet de chacun des facteurs et des interactions retenues, sur chacune des réponses étudiées. L'analyse de la variance et la régression sont des méthodes d'analyse couramment utilisées.
8. *Confirmation des conclusions trouvées* par des essais supplémentaires.
9. *Interprétation des résultats et prise de décision*, si l'objectif est atteint, si non réitération à partir des étapes 1, 2, 3 ou 4 selon le niveau d'insatisfaction.

III.4. STRATEGIE DES PLANS D'EXPERIENCES

Les objectifs auxquels peuvent répondre les plans d'expériences ont été regroupés en cinq grands thèmes. [45,46]

- **Identification de facteurs influents** : *Criblage ou screening*

L'objectif est de déterminer, parmi un grand nombre de facteurs, les plus influents sur le système étudié et l'ordre de grandeur de l'effet de chacun.

Cette technique peut être une fin en soi ou une étape préliminaire à une modélisation ou une optimisation.

- **Quantification de l'influence des facteurs** : *Modélisation*

Dans cette étude, les facteurs sont étudiés plus finement en prenant en compte les effets d'interaction possibles entre les différents facteurs.

- **Détermination des configurations optimales** : *Optimisation*

Les études d'optimisation consistent à rechercher les meilleures conditions de fonctionnement d'un système. Il s'agit donc de trouver les valeurs à donner aux facteurs pour que les réponses satisfassent à des conditions prédéfinies.

- **Minimisation de l'influence des facteurs bruits** : *Robustesse*

L'expérimentation de robustesse a en général pour objectif de trouver les réglages qui donnent une performance satisfaisante du système tout en demeurant insensible aux facteurs bruit qui sont non ou mal maîtrisés. Lorsque le système est déjà défini, le plan d'expériences n'a pour but que de valider les réglages pour garantir que les bruits n'induisent pas une variabilité trop importante des réponses au point de rendre le système inacceptable pour l'utilisateur.

▪ **Optimisation des propriétés d'un mélange : *Etude de Formulation***

Ces études cherchent à établir des lois de mélange en étudiant l'influence de la composition d'un mélange sur la (ou les) propriété(s) de ce mélange.

Les facteurs d'étude des plans de mélange sont les proportions des constituants du mélange. Or, ces constituants ne sont pas indépendants les uns des autres. La somme des proportions d'un mélange est toujours égale à 100%. Le pourcentage du dernier constituant est imposé par la somme des pourcentages des premiers composés. C'est la raison pour laquelle les plans de mélange sont traités à part.

III.5. PLANS FACTORIELS COMPLETS A DEUX NIVEAUX

Ces plans sont les plus utilisés car les plus simples, les plus rapides à mettre en œuvre et forment la base de tous les débuts d'étude. Ces plans possèdent un nombre de niveaux limité à deux pour chaque facteur. Toutes les combinaisons de niveaux sont effectuées au cours de l'expérimentation. [40]

Le nombre d'expériences à réaliser se calcule par

$$\text{nombre d'expériences} = 2^P$$

Le nombre 2 indique le nombre de niveaux et le p en exposant indique le nombre de facteurs à étudier.

L'avantage des plans factoriels en comparaison avec des plans classiques (un paramètre à la fois) réside en ce que justement tous les paramètres sont variés simultanément, mais de manière structurée. Le seul reproche à leur faire est le nombre élevé d'expériences lorsque le nombre facteur augmente. Pour par exemple 7 facteurs, il faudrait exécuter 128 essais. Pour diminuer le nombre des essais, d'autres plans peuvent être utilisés (plans fractionnaires à deux niveaux).

[47]

✧ *Plan factoriel à deux facteurs* : [40]

Le plan complet à deux facteurs est noté 2^2 . Ce qui nous donne 4 essais à

Le domaine d'étude est un carré où chaque point de ce domaine représente des conditions opératoires possibles donc une expérience que l'opérateur pourrait réaliser.

Le meilleur emplacement des points expérimentaux se situe aux sommets du carré représentant le domaine d'étude : points A, B, C, D. la Figure 10 illustre les expériences à réaliser et le domaine d'étude.

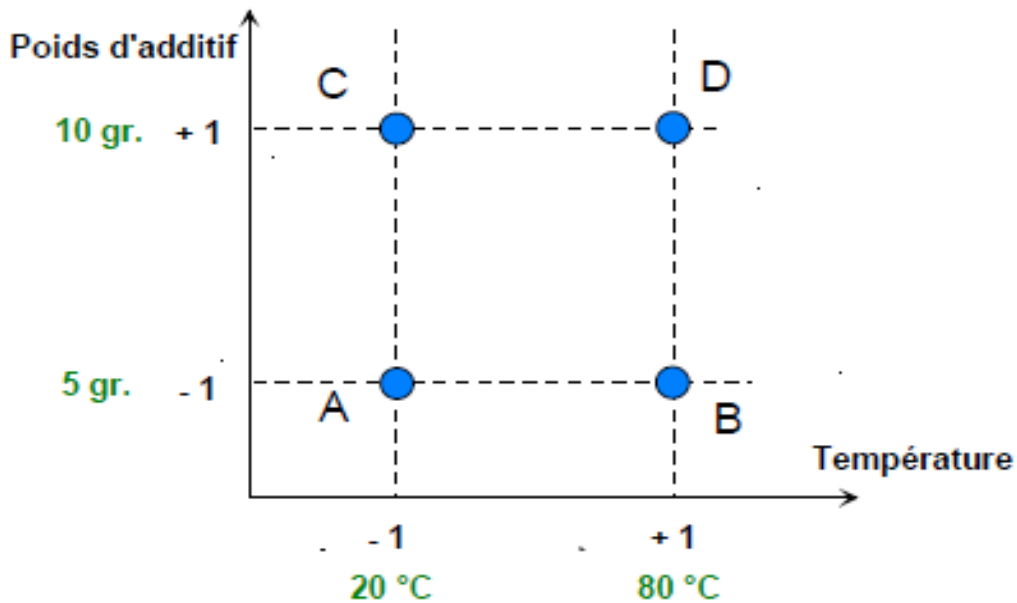


Figure 10. Les meilleurs emplacements des points expérimentaux sont les sommets du domaine (A, B, C, D) d'étude lorsque le modèle postulé est du premier degré. [40]

Les représentations géométriques sont commodes et très parlantes mais dès que le nombre de facteurs est supérieur à trois, elles ne peuvent plus être employées. Pour les espaces multidimensionnels, on adopte une représentation matricielle (Tableau II).

Tableau II. *Matrice d'expériences d'un plan factoriel complet 2² indique le nombre d'essai à réaliser et la combinaison des facteurs pour chaque essai.* [40]

N° essai	Facteur 1	Facteur 2
1(A)	-1	-1
2(B)	+1	-1
3(C)	-1	+1
4(D)	+1	+1

III.6. METHODE DES SURFACES DE REPONSE

La méthode des surfaces de réponse nécessite d'abord l'obtention d'un modèle mathématique [45]. Ce modèle peut être une fonction polynomiale du premier degré (plan factoriels complets, plans factoriels incomplets ...) ou du second degré (plans composites centrés, par exemples). [47]

Lorsque le modèle postulé est validé, il permet de décrire en tout point du domaine expérimental couvert, la *surface de réponse*. Cette surface de réponse, dans le cas de l'étude de l'influence de deux facteurs sur la réponse, peut aisément être représentée par un « relief géographique » :

- Une surface plane plus ou moins pentue si le modèle linéaire est retenu et qu'il n'existe **pas d'interactions** entre les facteurs; (figure 11)

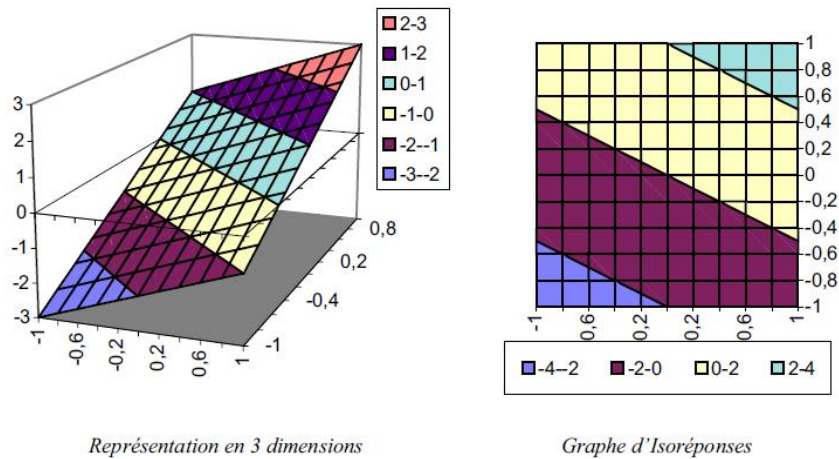


Figure 11. Surface plane sans interactions [48]

- Un « sommet » ou une « crevasse » en « 3 dimensions » permettant de localiser un optimum, maximum ou minimum, si c'est un modèle quadratique (du second degré) qui est adapté et qu'il existe des interactions entre les facteurs. [47] (figure 12)

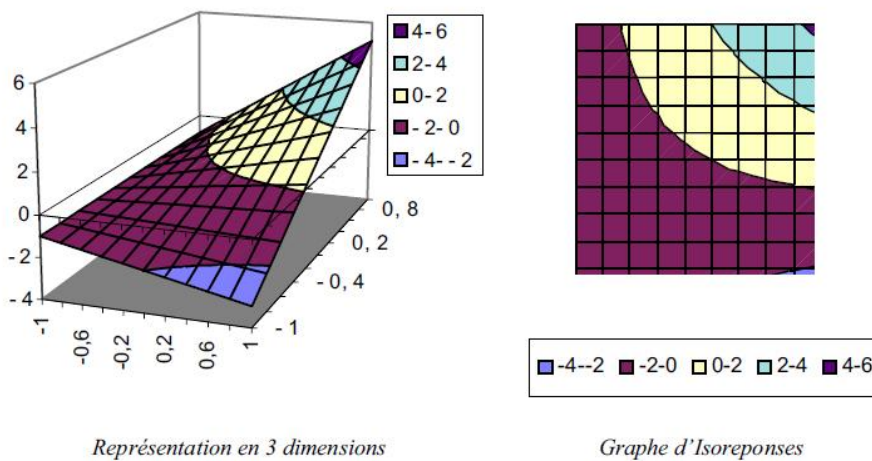


Figure 12. Surface de réponses en présence d'interactions entre les facteurs [48]

Lorsque cette surface de réponse est découpée en tranches d'épaisseurs identiques et est projetée sur le plan, il est alors possible d'obtenir le tracé des *courbes d'isoréponse* comparables aux courbes de niveau en cartographie. Ces courbes relient, chacune, les points qui correspondent au même niveau de réponse, un même temps de désagrégation par exemple. Il est alors aisé graphiquement (mais également par calcul simple) d'établir les combinaisons des deux variables considérées qui conduisent au niveau de réponse souhaité. Lorsque ces courbes sont concentriques, elles indiquent la présence d'un minimum ou d'un maximum facile à localiser. Dans le cas de l'étude de plus de deux variables, l'exploitation est un peu plus complexe, mais reste fondée sur le même principe. [47]

PARTIE
PRATIQUE

I. INTRODUCTION

L'amlopidine est un inhibiteur calcique du groupe des dihydropyridines. Il est prescrit dans le traitement de l'hypertension artérielle et l'angor [49]. Sa bonne solubilité et sa perméabilité élevée en font typiquement un produit de classe 1 dans la classification BCS [26]. Plusieurs génériques contenant l'amlopidine bésilate (figure 1) sont commercialisés au Maroc sous formes de comprimés.

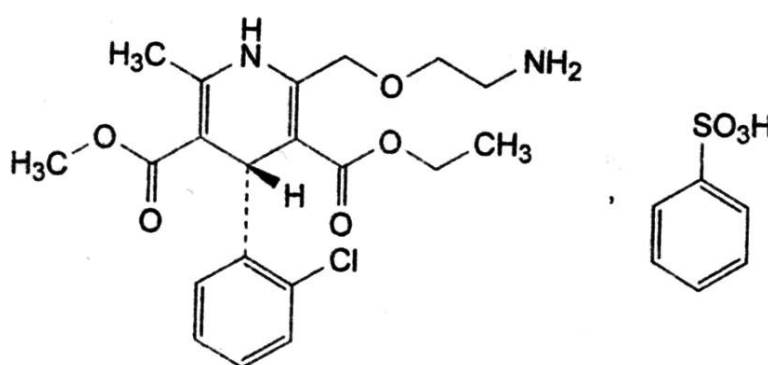


Figure 1. Formule développée de l'amlopidine bésilate [50]

Jusqu'à ce jour, le test de dissolution des comprimés d'amlopidine n'est décrit dans aucune pharmacopée, seulement quelques recommandations sont éditées par la FDA. Ces conditions opératoires sont 500 ml d'acide chlorhydrique 0,01 N, l'appareil à palette, et la vitesse de rotation de 75 rpm mais sans mentionné la méthode de dosage. [51]

La possibilité d'obtenir un test de dissolution avec des résultats fiables est essentielle pour assurer la qualité des produits pharmaceutiques. [4]

Le but du présent travail est de développer une méthode de dissolution des comprimés d'amlodipine. Dans un premier temps, nous avons mis au point et validé une méthode de dosage par chromatographie liquide. Dans un deuxième temps, nous avons optimisé les conditions de dissolution en utilisant la méthodologie des plans d'expériences. Ensuite, nous avons appliqué les conditions optimales sur les comprimés de différents génériques commercialisés au Maroc et comparer leurs profils au princeps.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Matières premières et spécialités pharmaceutiques

Nous avons travaillé avec l'étalon d'amlodipine bésilate de pureté 99,87 % (n° de lot 7EF009, date de péremption 07/2011) et les excipients des comprimés du princeps (cellulose microcristalline, dicalcium phosphate anhydre, glycolate d'amidon sodique et le magnésium stéarate).

Les spécialités pharmaceutiques ont été approvisionnées du marché Marocain.

Sept spécialités, un princeps et six génériques, ont fait l'objet de notre travail. Elles sont toutes sous forme comprimé et étiquetées comme contenant 5 mg d'amlodipine. (Tableau I)

Tableau I. Tableau récapitulatif des spécialités étudiées

Spécialité pharmaceutique	Nature	Laboratoires	n° de lot	Date de péremption
AMLOR [®]	Princeps	Pfizer	9390523	09/2012
AMOVAS [®]	Générique	Polymédic	015409	03/2011
AMILO [®]	Générique	Sothéma	081321	07/2012
DIPICOR [®]	Générique	Afri-Phar	71	06/2012
AMEP [®]	Générique	Cooper maroc	92543	03/2012
CALCINIB [®]	Générique	Pharmaceutical institute	005	11/2011
AMCARD [®]	Générique	Genpharma	529	04/2011

II.1.2. Réactifs

Dans ce travail, nous avons utilisé :

- L'acide chlorhydrique (37%) pour analyses de marque MERCK[®] référence 100314 ;
- L'acétate de sodium trihydraté pour analyses de marque MERCK[®] référence 106265 ;
- Le sodum dihydrogénophosphate monohydraté pour analyses de marque MERCK[®] référence 106346 ;
- Le méthanol pour analyses de marque MERCK[®] référence 106009 ;
- Le méthanol pour HPLC de marque MERCK[®] référence 106007 ;
- L'acétate d'ammonium pour analyses de marque MERCK[®] référence 101116 ;
- L'eau distillée filtrée sur membrane filtrante 0,45µm.

II.1.3. Appareillage

Les essais de dissolution ont été réalisés dans un dissolutest marque HANSON RESEARCH modèle SR8-Plus. L'appareil est équipé de 6 vases partiellement immergés dans un bain d'eau thermostaté et munit d'un système de prélèvements manuel avec seringues graduées de 5ml.

L'analyse des prélèvements a été réalisée par

- Spectrophotomètre UV-Visible marque PERKIN ELMER, avec une cuve en quartz de 1 cm;
- Appareil HPLC (Chromatographie liquide haute performance) de marque MERCK-HITACHI équipé d'une pompe gradient type L-6200 A, d'injecteur manuel Réodyne 7125 munit d'une boucle de 50 µl, d'un four à colonnes type L-5025, d'un détecteur UV-Visible type L-4250 et relié à un intégrateur modèle D2500A.
- Colonne HPLC Chromolith® RP-18 endcapped (100×4.6 mm) de marque MERCK® référence 151466 constitué d'une seule pièce de gel de silice continu (monolithe) ultra poreux. Cette colonne est traitée chimiquement.

Nous avons également utilisé

- Une balance électronique de précision de marque METTLER AB104-S ;
- Un Agitateur magnétique à plaque chauffante ;
- Un Bain à ultra-sons marque BRAND ;
- Un Système de filtration trompe à eau avec une membrane filtrante millipore® de 0,45µm ;

II.2. Méthodes

II.2.1. Essais de dissolution

Nous avons réalisé les essais de dissolution avec l'appareil à palette, dans 500 ml d'acide chlorhydrique 0,01N et avec une vitesse de rotation des palettes de 75 rpm [51]. Les comprimés ont été soumis à la dissolution dans un milieu équilibré préalablement chauffé à $37 \pm 0,5$ °C. Des échantillons de 4 ml ont été retirés à des intervalles réguliers en 15, 30, 45 et 60 min puis filtrés sur filtres 0,45 µm et analysés. Le volume initial de chaque vase n'est pas réajusté mais les volumes prélevés sont pris en compte dans les calculs.

II.2.2. Analyses par spectrophotométrie UV-Visible

Les solutions à examiner prélevées à différents temps sont examinées à une longueur d'onde de 237 nm contre un blanc contenant le milieu de dissolution (HCl 0,01 N).

Pour calculer le pourcentage de principe actif libéré, nous avons utilisé une solution de référence dont la concentration est identique à celle de la solution à examiner (14,30 µg/ml d'amlodipine bésilate) préparée dans le milieu de dissolution.

A partir des densités optiques mesurées, nous avons calculé les pourcentages dissous d'amlodipine selon la formule suivante :

$$\% \text{ dissous} = \frac{DO_E}{DO_{Réf}} \times \frac{P_{Réf}}{D} \times \frac{T}{100} \times F \times \frac{408,88}{567,10} \times 100$$

Avec :

$DO_{Réf}$ Densité optique du bésilate d'amlodipine de la solution de référence ;

DO_E Densité optique du bésilate d'amlodipine de la solution à examiner ;

$P_{Réf}$ Prise d'essai du bésilate d'amlodipine de référence en mg ;

D Teneur en amlodipine par comprimé ;

T Titre en % de la matière première bésilate d'amlodipine exprimé en tel quel ;

F Facteur de dilution;

408,88 Masse moléculaire d'amlodipine ;

567,10 Masse moléculaire du bésilate d'amlodipine.

II.2.3. Analyses par chromatographie liquide haute performance HPLC

Nous avons utilisé une colonne chromolith[®] RP 18e (100 x 4,6 mm) comme phase stationnaire et un mélange de solution d'acétate d'ammonium à 2,3 g/l et de méthanol (40 : 60 v/v) comme phase mobile. Le débit de la phase mobile est fixé à 1,2 ml/min. La colonne est maintenue à température ambiante (25°C). Un volume d'injection de 50 µl a été utilisé. La détection a été réalisée à une longueur d'onde de 237 nm en utilisant un détecteur UV.

La teneur en amlodipine exprimée en % est donnée par la formule suivante :

$$\% \text{ dissous} = \frac{S_E}{S_{Réf}} \times \frac{P_{Réf}}{D} \times \frac{T}{100} \times F \times \frac{408,88}{567,10} \times 100$$

Avec :

$S_{Réf}$	Valeur moyenne de la surface du pic correspondant au bésilate d'amlodipine de la solution de référence ;
S_E	Valeur moyenne de la surface du pic correspondant au bésilate d'amlodipine de la solution à examiner ;
$P_{Réf}$	Prise d'essai du bésilate d'amlodipine de référence en mg ;
D	Teneur en amlodipine par comprimé ;
T	Titre en % de la matière première bésilate d'amlodipine exprimé en tel quel ;
F	Facteur de dilution;
408,88	Masse moléculaire d'amlodipine ;
567,10	Masse moléculaire du bésilate d'amlodipine.

II.2.4. Validation de la méthode du dosage par HPLC

La validation a été réalisée suivant le « guide de validation analytique » publié dans la revue STP Pharma Pratique [52] et les lignes directrices de l'ICH Q2 [53]. 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 AVA.

La *linéarité* a été établie au moyen de la courbe d'étalonnage en utilisant des solutions standard de référence de l'amlopidine dans un domaine de concentrations de 7,15 ; 10,72 ; 14,30 ; 17,87 et 21,45 µg/ml d'amodipine bésilate, ce 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.

Les *seuils de détection et de quantification* sont estimés à partir des caractéristiques de la courbe de calibration.

La *répétabilité* a été déterminée avec 6 injections consécutives de la solution à 14,30 µg/ml d'amlopidine bésilate de la série du 1^{er} jour. Pour la *fidélité intermédiaire*, nous avons étudiée sur un ensemble de données brutes de 3 séries possédant chacune 6 mesures (réalisée dans des jours différents) d'une solution à 14,30 µg/ml d'amlopidine bésilate ce qui correspond à 100% de concentration théorique.

L'*exactitude* a été évaluée par les résultats de l'injection de trois solutions de chacune des concentrations 7,15 ; 10,72 ; 14,30 ; 17,87 et 21,45 µg/ml d'amodipine bésilate. (n=15)

La *sélectivité* de la méthode du dosage a été démontrée en exploitant les résultats des préparations suivantes :

- Solution à examiner : traiter un comprimé d'AMLOR[®] par 500 ml d'acide chlorhydrique 0,01 N.
- Solution standard de référence.
- Solution placebo contenant tous les excipients de l'AMLOR[®] comprimés : cellulose microcristalline (45,78%), dicalcium phosphate anhydre (45,75%), glycolate d'amidon sodique (4%) et le magnésium stéarate (1%). [54]

II.2.5. Plan d'expériences

Pour déterminer les meilleures conditions du test de dissolution des comprimés d'amlodipine dosés à 5 mg, nous avons utilisé la méthodologie des plans d'expériences qui consiste à planifier les expériences à réaliser puis de traiter statistiquement les résultats.

II.2.5.1. Facteurs étudiés et réponse mesurée

Les facteurs qui influencent la dissolution sont nombreux (présentés dans le premier chapitre). Dans notre étude, nous avons sélectionné 3 facteurs à 2 niveaux relatifs à la méthode à savoir le pH du milieu, le volume et la vitesse de rotation. Les niveaux de chaque facteur sont choisis en fonction des conditions fixées au départ et selon les spécifications et recommandations de la Ph. Eur.

Ainsi nous avons réalisé les essais de dissolution dans deux milieux différents (solution tampon phosphate pH 6,8 ; solution tampon acétate pH 4,5) préparés selon la pharmacopée européenne, avec deux vitesses de rotation (50 et 75 rpm) et deux volumes différents (500 et 900 ml). Les autres facteurs sont maintenus à un niveau constant pendant toute l'expérimentation. La variation des trois facteurs est détectée par la mesure du pourcentage dissous d'amlodipine à 30min. Cette variable est prise comme réponse (variable dépendante) pour représenter l'effet qualitative des facteurs (X_1 , X_2 , X_3).

Le tableau II résume les facteurs étudiés dans le plan d'expériences, leurs niveaux de variation ainsi que la réponse mesurée.

Tableau II. Paramètres étudiés et réponse mesurée

	Facteur 1 (X₁)	Facteur 2 (X₂)	Facteur 3 (X₃)	Réponse mesurée (Y)
	pH du milieu	Volume	Vitesse de rotation	
Niveau bas (-1)	pH=4,5 Tampon acétate	500 ml	50 rpm	% dissous d'amlodipine en 30 min
Niveau haut (+1)	pH=6,8 Tampon phosphate	900 ml	75 rpm	

II.2.5.2. Construction du plan d'expériences

Les trois facteurs à étudier prennent chacun deux niveaux. Le plus simple est de choisir un plan factoriel complet 2^3 (soit 8 essais). Ce plan peut être représenté sous forme géométrique ou sous forme matricielle (tableau III).

Tableau III. Matrice d'expériences du plan factoriel complet 2^3

Essai n°	X₁	X₂	X₃
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1

A partir de cette matrice, les essais à réaliser sont les suivants :

Tableau IV. *Essais de dissolution établis selon le plan factoriel complet 2³*

	pH du milieu	Volume	Vitesse de rotation
Essai n°1	pH=6,8 Tampon phosphate	500 ml	50 rpm
Essai n°2	pH=4,5 Tampon acétate	500 ml	50 rpm
Essai n°3	pH=6,8 Tampon phosphate	900 ml	50 rpm
Essai n°4	pH=4,5 Tampon acétate	900 ml	50 rpm
Essai n°5	pH=6,8 Tampon phosphate	500 ml	75 rpm
Essai n°6	pH=4,5 Tampon acétate	500 ml	75 rpm
Essai n°7	pH=6,8 Tampon phosphate	900 ml	75 rpm
Essai n°8	pH=4,5 Tampon acétate	900 ml	75 rpm

II.2.5.3. Réalisation des essais et analyse statistique

Selon le plan établi, le premier essai de dissolution, essai n°1, est réalisé dans 500 ml de tampon phosphate de pH=6,8 avec une vitesse de rotation des palettes de 50 rpm. Le deuxième, essai n°2, est exécuté dans 500 ml de tampon acétate à pH=4,5 avec une vitesse de rotation de 50 rpm et ainsi de suite. Les autres paramètres ont été maintenus constants tel que décrit dans le paragraphe II.2.1. L'analyse des échantillons prélevés a été réalisée par HPLC. (Paragraphe II.2.3)

A partir des pourcentages d'amlopidine dissous, les conditions optimales ont été fixées en utilisant la méthode des surfaces de réponse.

L'évaluation statistique des données et la représentation graphique des résultats ont été réalisées par le logiciel MINITAB® version 15.

II.2.6. Comparaison des profils de dissolution

Avec les conditions de dissolution optimales définies, nous avons appliqué ces conditions sur six génériques de l'AMLOR[®] provenant de différents laboratoires d'industrie pharmaceutique marocaine. Pour démontrer la similarité au produit princeps, le profil de dissolution de chaque générique a été comparé au princeps. Nous avons utilisé pour comparer les profils la méthode du « fit factor ».

III. RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Optimisation de la méthode de dosage

III.1.1. Méthode par spectrophotométrie UV

Les résultats de l'application des conditions FDA de dissolution et la méthode de dosage par spectrophotomètre UV à 237 nm sont présentés dans le Tableau V.

Tableau V. Résultats de la dissolution des comprimés du princeps obtenus avec les conditions de dissolution FDA et la méthode de dosage par Spectrophotométrie UV à 237nm

Temps (mn)	0	15	30	45	60
Cp 1	0	106,27	112,69	106,95	106,95
Cp 2	0	105,83	118,23	113,68	115,29
Cp 3	0	108,05	108,05	115,26	111,68
Cp 4	0	113,59	111,59	105,37	105,82
Cp 5	0	112,25	118,01	106,73	114,39
Cp 6	0	114,47	123,33	106,73	112,59
Moyenne	0	110,08	115,32	109,12	111,12
Ecart type	0	3,82	5,54	4,21	3,90
CV (%)	0	3,47	4,81	3,86	3,51

Nous remarquons que les pourcentages d'amlodipine dissous sont supérieurs à 80% et donc conformes aux spécifications mais dépassent 100% pour tout les temps de prélèvement. Pour expliquer ces pourcentages élevés, nous avons tracé les spectres d'absorption de la matière première pure, du produit fini et du placebo (Figure 2).

Nous constatons qu'il y a une absorbance des excipients de 0,076 à la même longueur d'onde que l'amlodipine 237 nm, ce qui justifie les pourcentages élevés et confirme la présence d'interférence.

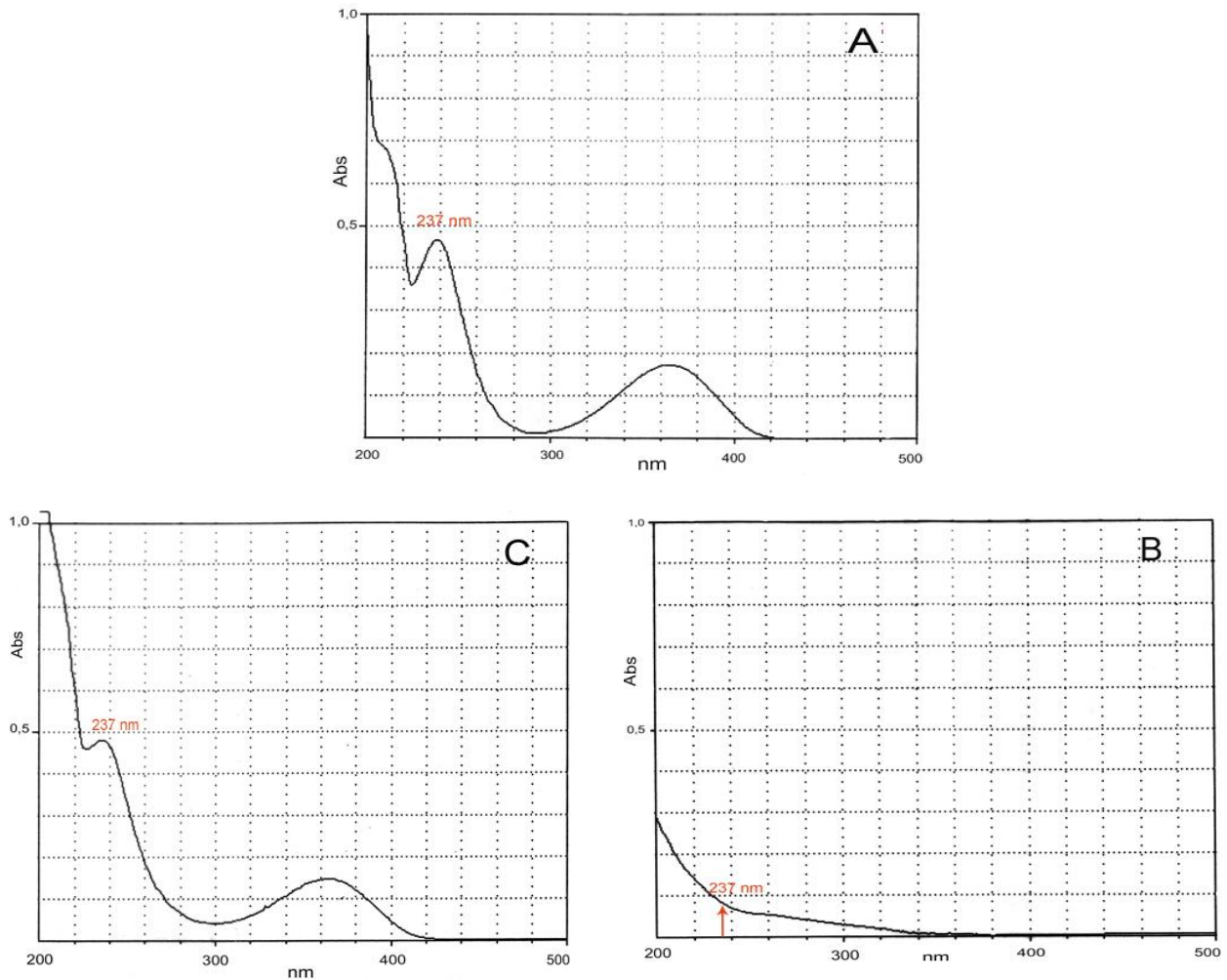


Figure 2. Tracés des spectres UV de la solution du standard (A), du placebo (B), et de la solution d'AMLOR[®] comprimés (C)

Si on soustrait l'absorbance des excipients, les pourcentages corrigés sont donnés dans le tableau VI. La figure 3 illustre cette diminution.

Tableau VI. Résultats de la dissolution obtenus après correction des densités optiques

Temps (mn)	0	15	30	45	60
Cp 1	0	86,86	93,04	87,28	87,25
Cp 2	0	86,44	98,36	93,76	95,04
Cp 3	0	88,56	88,56	95,27	91,58
Cp 4	0	93,89	91,97	85,77	85,95
Cp 5	0	92,61	98,15	87,06	94,14
Cp 6	0	94,74	103,26	87,06	92,44
Moyenne	0	90,52	95,56	89,37	91,07
Ecart type	0	3,67	5,33	4,05	3,69
CV (%)	0	3,47	4,80	3,85	3,50

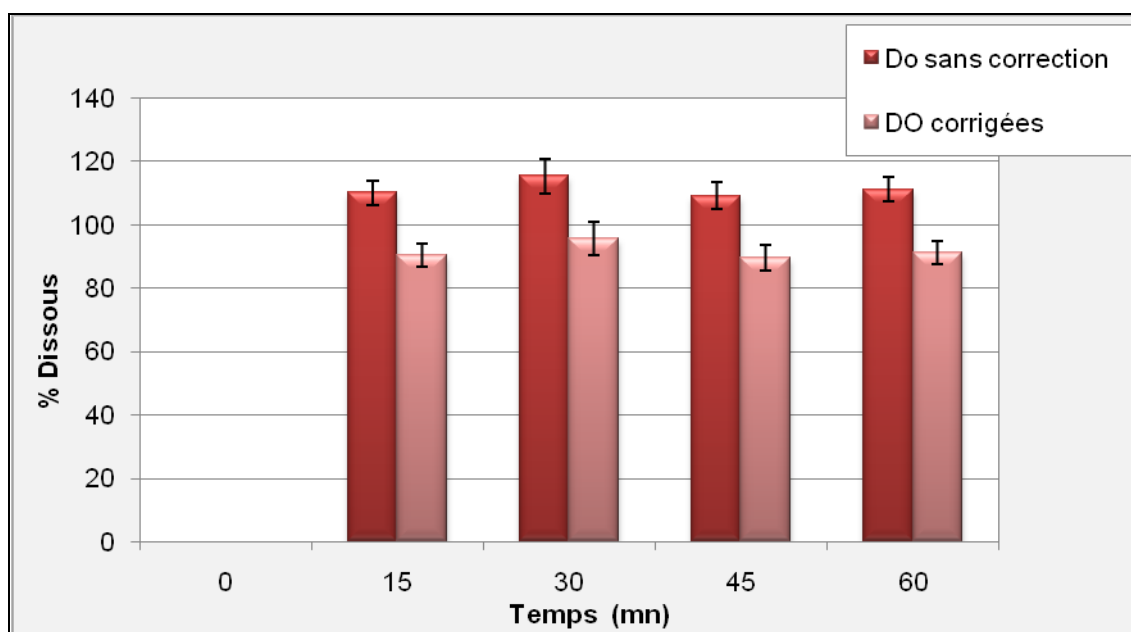


Figure 3. Diagramme des pourcentages dissous des comprimés du princeps dans les conditions FDA en utilisant la méthode de dosage par spectrophotométrie UV

Le facteur clé de la fiabilité des résultats du test de dissolution est la validité de la méthode analytique utilisée pour doser le principe actif dans les échantillons. La méthode prévue à cet effet doit être suffisamment sensible, sélective et rapide afin de permettre l'analyse d'un grand nombre d'échantillons provenant des essais de dissolution. Pour cela nous avons pensé à utiliser une méthode de dosage par HPLC pour éliminer toutes interférences d'excipients et d'impuretés.

III.1.2. Méthode par HPLC

Nous avons mis au point une méthode de dosage par HPLC dont les conditions opératoires ont été inspirées de la Ph. Eur. 6^{ème} édition. Cette méthode est utilisée pour la recherche des substances apparentées (monographie de la matière première bésilate d'amlodipine) [50].

Nous avons modifié les proportions de la phase mobile (40 : 60, v/v au lieu de 30: 70, v/v) et réglé le débit à 1,2 ml/ min. Nous avons également utilisé une colonne Chromolith[®] RP-18e pour réduire le temps d'analyse.

La colonne chromolith[®] RP- 18e est une colonne performante et spéciale qui a des caractéristiques utile pour un certain nombre d'applications dans l'industrie pharmaceutique [55]. Elle permet d'effectuer des analyses rapides tout en ayant l'efficacité de séparation d'une colonne analytique conventionnelle (C18). Elle présente les avantages suivants

- L'utilisation de hauts débits et la suppression des effets de tassement en tête de colonne ;
- La réduction importante du temps d'analyse et du temps d'équilibrage en mode gradient ;
- L'augmentation de la durée de vie de la colonne et du système HPLC.

Dans les conditions précitées, le bésilate d'amlodipine est nettement séparé des excipients et de toutes impuretés avec un temps d'analyse raisonnable.

Les résultats obtenus avec les conditions FDA et la méthode de dosage par HPLC sont présentés dans le tableau VII.

Tableau VII. Résultats de la dissolution des comprimés du princeps obtenus avec les conditions FDA et la méthode de dosage par HPLC

Temps (min)	0	15	30	45	60
Cp 1	0	89,25	87,24	84,72	83,71
Cp 2	0	91,63	82,94	83,82	78,18
Cp 3	0	87,88	89,26	80,72	79,09
Cp 4	0	85,14	81,82	86,80	82,16
Cp 5	0	89,12	84,17	87,88	78,16
Cp 6	0	84,73	81,51	84,90	80,86
Moyenne	0	87,96	84,49	84,81	80,36
Ecart-type	0	2,64	3,13	2,49	2,28
CV	0	3,00	3,70	2,94	2,83

Nous constatons qu'il y a une légère baisse de la quantité dissoute d'amlodipine dans le temps. Le pourcentage passe de 87,96% (15 min) à 80,36% (60 min).

L'analyse des chromatogrammes des échantillons prélevés (figure 4) montrent la présence d'un pic dont le temps de rétention est de 1,83 ce qui correspond à l'impureté D (temps de rétention relatif voisin de 0,5)^[50]. Cette impureté augmente avec le temps ce qui prouve qu'il y a une dégradation de l'amlodipine dans l'acide. En effet, de nombreuses publications [56, 57] ont démontrés que l'amlodipine est instable en milieu acide.

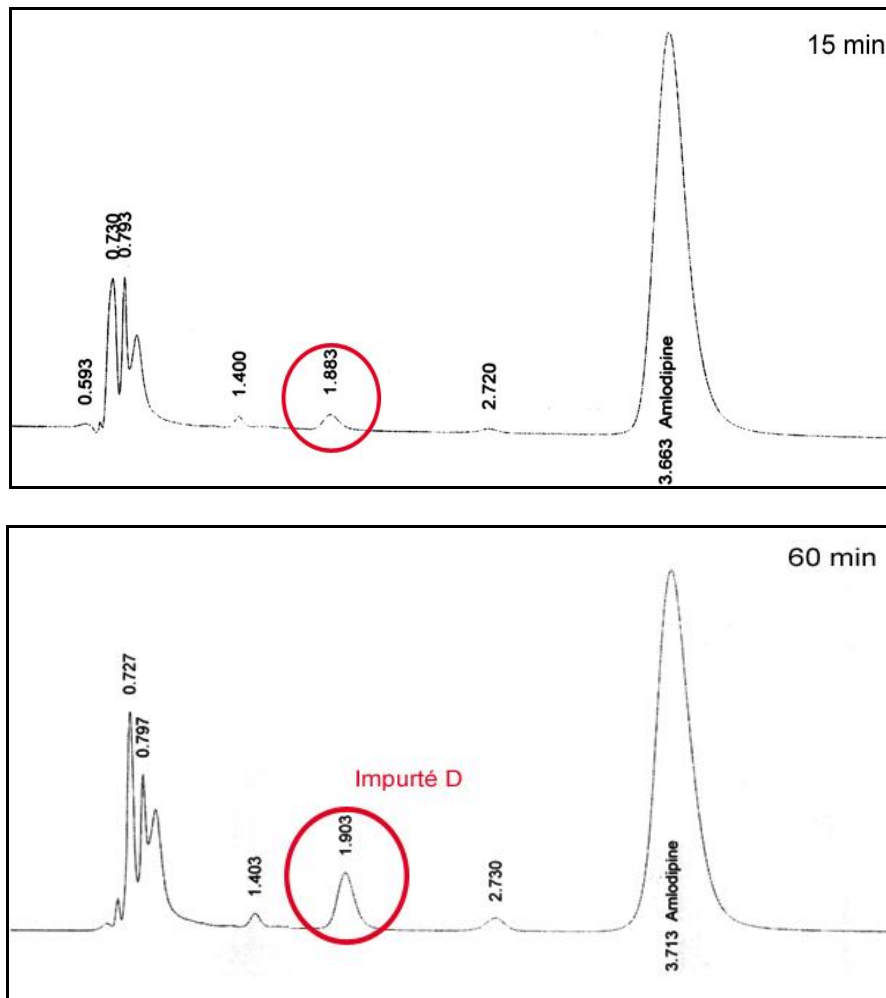


Figure 4. Chromatogrammes des prélèvements de 15 min et 60 min

L'utilisation de l'acide chlorhydrique 0.01 N comme milieu de dissolution ou l'utilisation de la phase mobile pH 3 dans la méthode HPLC décrite dans l'ancienne monographie de la Ph. Eur. provoquent une instabilité de l'amlodipine. En avril 2010 la Ph. Eu. a réactualisé cette monographie en remplaçant la phase mobile pH 3 par une autre pH 6.8 (acétate d'ammonium). Par conséquent, une optimisation des conditions de dissolution est nécessaire.

III.1.3. Validation de la méthode de dosage par HPLC

III.1.3.1. Sélectivité (spécificité)

Nous avons vérifié l'absence d'interférence au temps de rétention de l'amlodipine par l'analyse d'un placebo. Le chromatogramme enregistré ne présente aucun pic interférant au temps de rétention de l'amlodipine. (figure 5)

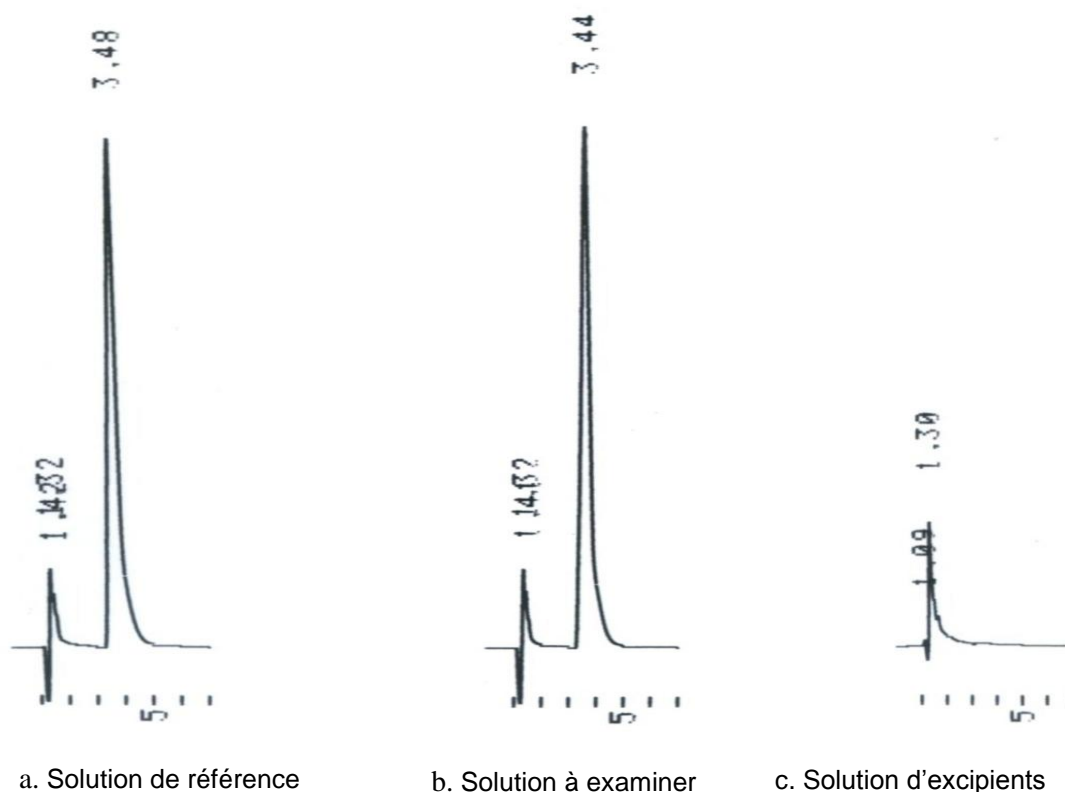


Figure 5. Chromatogrammes de la solution de référence d'amlodipine bésilate (a), de la solution à examiner (b) et de la solution des excipients (c)

III.1.3.2. Linéarité

La linéarité permet de démontrer qu'il existe une relation linéaire entre les concentrations en bésilate d'amlodipine et les surfaces enregistrées.

La linéarité a été évaluée à partir de 5 concentrations (7,15 ; 10,72 ; 14,30 ; 17,87 et 21,45 µg/ml) avec 3 répétitions indépendantes pour chacune de ces valeurs.

Tableau VIII. Données utilisées pour démontrer la linéarité de la procédure d'analyse

Teneur en PA/Qté théorique (%)	Essai	Concentration (µg/ml)	Moyenne	Aire	Aire calculée
50	1	7,20	7,09	280522,6	276414,8
	2	7,12		276185,0	275158,0
	3	6,96		276971,6	282106,4
75	1	10,80	10,64	427252,6	421090,8
	2	10,68		422845,0	421304,6
	3	10,44		430677,6	438379,8
100	1	14,40	14,19	530886,3	522670,6
	2	14,24		551326,0	549272,1
	3	13,92		563185,3	573454,9
125	1	18,00	17,73	680074,0	669804,4
	2	17,80		692380,6	689813,2
	3	17,40		705640,0	718477,0
150	1	21,60	21,28	826126,3	813802,8
	2	21,36		828301,0	825220,1
	3	20,88		835765,0	851169,4

La droite de régression obtenue est la suivante :

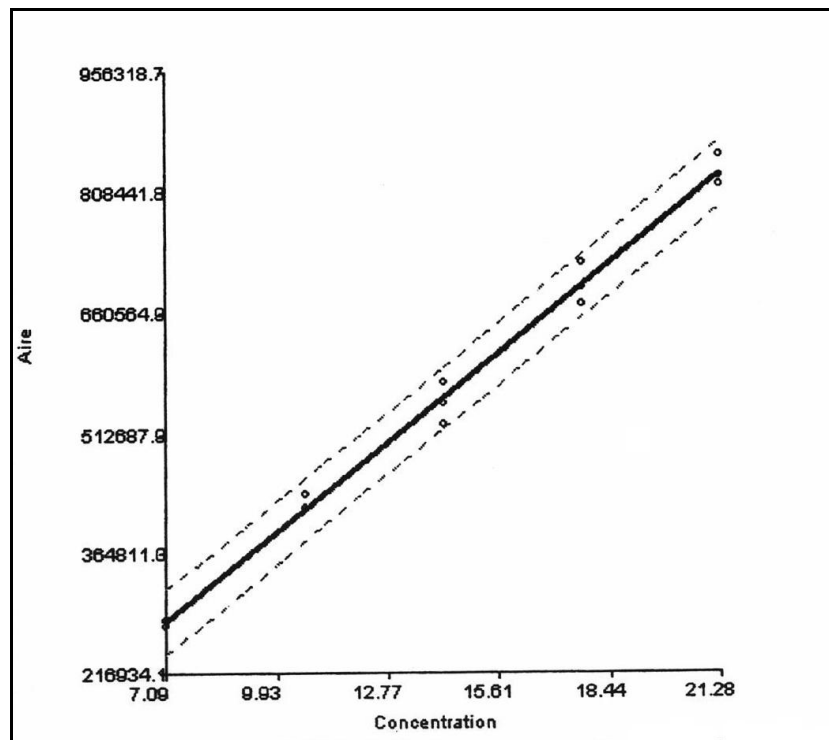


Figure 6. Droite de régression

$$y = 38631 x + 716312$$

où y est la concentration en $\mu\text{g/ml}$

x est la surface

Le coefficient de détermination R^2 est égal à **0,9932**, ce qui signifie que la concentration de l'échantillon est dépendante à 99,32% des surfaces mesurées.

L'analyse de variance de la régression permet de vérifier l'existence d'une pente significative, l'existence d'une ordonnée à l'origine et la validité de l'ajustement de la droite.

✧ *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 nulle. Par contre, si celui-ci est significatif, la pente est différente de 0. Si le F calculé est supérieur au F de la table aux degrés de liberté (1, N-2), N étant le nombre total d'observations (ici 15), le test est significatif.

$$F \text{ calculé} = 1903,92$$

$$F(0,95 ; 1 ; 13) = 6,41$$

Comme 1903,92 est supérieur à 6,41, la pente est significative, c'est-à-dire différente de 0. (**p < 0,05**)

✧ *Test de validité de la droite d'ajustement (F2)*

Le test de validité de la droite d'ajustement est réalisé par un test de F de Fisher.

Si le critère F calculé est inférieur au F de la table aux degrés de liberté (0,95 ; k-2 ; N-k), le test n'est pas significatif. La dispersion due à l'ajustement de la droite est considérée comme valide.

$$F \text{ calculé} = 0,39$$

$$F(0,95 ; 3, 10) = 4,83$$

Puisque 0,39 est inférieur à 4,83, le test est donc non 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 (13 dans notre cas), le test est significatif et la valeur de l'ordonnée à l'origine est considérée comme statistiquement différente de 0.

$$t \text{ calculé} = 0,538$$

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

Comme 0,538 est inférieur à 2,160, l'ordonnée à l'origine est considérée comme nulle. Cette observation, permet de réaliser une droite d'étalonnage à un seul point pour tous les prochains dosages. (**p > 0,05**)

III.1.3.3. Seuils de détection et de quantification

Les seuils de détection et de quantification sont estimés avec les données du tableau IX selon la méthode de la courbe de calibration. Les seuils de détection et de quantification sont estimés respectivement à 1,47 µg/ml et 4,47 µg/ml.

Tableau IX. Résultats utilisés pour estimer les seuils de détection et de quantification

Essai	Concentration (µg/ml)	Aire
1	7,20	280522,6
2	7,12	276185,0
3	6,96	276971,6
4	10,80	427252,6
5	10,68	422845,0
6	10,44	430677,6
7	14,40	530886,3
8	14,24	551326,0
9	13,92	563185,3
10	18,00	680074,0
11	17,80	692380,6
12	17,40	705640,0
13	21,60	826126,3
14	21,36	828301,0
15	20,88	835765,0

III.1.3.4. 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. Les données utilisées pour évaluer la fidélité sont présentés dans le tableau X.

Tableau X. Données utilisés pour évaluer la fidélité de la méthode analyse

Série	Essai	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Aire
1	1	14,24	568439,0
	2	14,64	589301,0
	3	14,16	578912,0
	4	14,72	569749,0
	5	13,84	548117,0
	6	14,72	590791,0
2	1	14,32	581512,0
	2	14,72	579827,0
	3	14,24	566947,0
	4	14,80	570640,0
	5	13,92	547262,0
	6	14,80	602886,0
3	1	14,40	573369,0
	2	14,80	580684,0
	3	14,32	563114,0
	4	14,88	573336,0
	5	14,00	551868,0
	6	14,88	594835,0

La répétabilité (fidélité intra-jour) et la fidélité intermédiaire (fidélité inter-jour) sont observées à une concentration de 14,30 $\mu\text{g/ml}$. La méthode est considérée comme fidèle si le CV est inférieurs à 2%.

Pour la répétabilité (n = 6), le CV est 1,81 %.

La fidélité intermédiaire (n = 18), le CV est de 1,78 %.

Au vu de ces résultats, la méthode est considérée comme fidèle.

III.1.3.5. 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 mesures brutes. Cet ensemble est transformé en un ensemble de rendements : la concentration calculée est divisée par la concentration réelle, multipliée par cent. L'exactitude exprimée par le rendement moyen est testée avec les données du tableau XI.

Tableau XI. Résultats de pour démontrer l'exactitude exprimés par le rendement moyen

Teneur en PA/Qté théorique (%)	Essai	Concentration (µg/ml)	Moyenne	Concentration calculée (µg/ml)	Recouvrement (%)
50	1	7,20	7,09	6,95	97,94
	2	7,12		6,91	97,48
	3	6,96		7,10	100,03
75	1	10,80	10,64	10,70	100,06
	2	10,68		10,71	100,65
	3	10,44		11,15	104,82
100	1	14,40	14,19	13,34	94,04
	2	14,24		14,30	98,91
	3	13,92		14,66	103,34
125	1	18,00	17,73	17,16	96,78
	2	17,80		17,68	99,71
	3	17,40		18,43	103,91
150	1	21,60	21,28	20,90	98,22
	2	21,36		21,20	99,61
	3	20,88		21,87	102,78

L'intervalle de confiance IC est égale $99,92 \% \pm 1,62$ qui peut aussi être écrit sous forme $[98,00 ; 102,00]$. On peut conclure qu'il existe 95% de chance que la vraie valeur (100%) soit incluse dans cet intervalle. la méthode est considérée comme exacte.

III.2. Optimisation des conditions de dissolution

Le tableau XII présente les résultats des huit essais établis par le plan d'expériences. Conformément aux exigences, nous avons choisis de travailler avec les réponses prélever au temps $t = 30 \text{ min}$.

Tableau XII. Résultats des essais de dissolution établis avec le plan factoriel complet 2^3 menés sur les comprimés d'AMLOR[®] dosés à 5mg

	pH du milieu (X1)	Volume (X2)	Vitesse de rotation (X3)	% dissous à 10 min	% dissous à 30 min	% dissous à 45 min
Essai n°1	Tampon phosphate PH = 6,8	500 ml	50 rpm	28,34	47,80	64,16
Essai n°2	Tampon acétate PH = 4,5	500 ml	50 rpm	49,78	64,38	73,07
Essai n°3	Tampon phosphate PH = 6,8	900 ml	50 rpm	45,39	63,52	75,15
Essai n°4	Tampon acétate PH = 4,5	900 ml	50 rpm	66,79	80,62	84,87
Essai n°5	Tampon phosphate PH = 6,8	500 ml	75 rpm	53,95	67,55	75,35
Essai n°6	Tampon acétate PH = 4,5	500 ml	75 rpm	86,07	99,51	94,48
Essai n°7	Tampon phosphate PH = 6,8	900 ml	75 rpm	89,57	95,09	89,11
Essai n°8	Tampon acétate PH = 4,5	900 ml	75 rpm	94,67	92,43	91,2

Nous constatons que dans le milieu tampon phosphate pH 6,8 :

- La vitesse de rotation de 75 tr/min et le volume de 900 ml entraînent un accroissement de la vitesse de dissolution.
- La vitesse de libération diminue de façon non négligeable avec une vitesse d'agitation de 50 tr/min et un volume de 500 ml de même la dissolution est lente avec un volume de 900 ml.
- Dans le milieu tampon acétate pH 4,5
- La libération de l'amlodipine dépasse 80% en 10 min avec une vitesse d'agitation de 75 tr/min et un volume de 500 ml puis elle se stabilise jusqu'au terme de l'expérience.
- Avec une vitesse d'agitation de 50 tr/min et un volume de 500 ml, le pourcentage de libération de l'amlodipine est ralenti et ne dépasse pas 80% en 45 min.

Pour une meilleure connaissance de l'effet des 3 paramètres sur la libération de l'amlodipine, nous avons recours à la méthode des surfaces de réponse qui consiste à établir un modèle puis à représenter les réponses prédites sous forme de surface.

III.2.1. Modélisation mathématique

La relation mathématique qui relie les facteurs (pH du milieu, volume, vitesse de rotation) à la réponse (% dissous) a été établie par le logiciel statistique Minitab[®]. Le modèle peut être représenté sous forme :

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_4X_1X_2 + a_5 X_1X_3 + a_6 X_2X_3 + a_7X_1X_2X_3 \quad (\text{éq.1})$$

Où a_0 représente la constante du modèle; a_1, a_2, a_3 sont les coefficients du modèle qui traduisent l'effet de chacun des facteurs X_1, X_2, X_3 . Les termes X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3 et $X_1X_2X_3$ représente les interactions.

Les résultats obtenus à l'issus des 8 essais permettent au logiciel de calculer, par la méthode des moindres carrés, les coefficients du modèle quantifiant l'effet des facteurs sur chacune des réponses mesurées.

L'équation de régression est la suivante :

$$\% \text{ dissous} = 30,7 - 6,85 \text{ pH milieu} + 0,0328 \text{ Volume} + 0,983 \text{ Vitesse} \quad (\text{éq.1})$$

Nous remarquons que le pH du milieu est le facteur qui a le plus d'effet sur la libération de l'amlodipine suivi de la vitesse de rotation puis le volume en dernier lieu. Le signe positif en face des termes indique un effet synergique et le signe négatif indique un antagonisme d'effets des facteurs.

Une analyse de variance a été appliquée pour estimer la signification du modèle, au risque $\alpha = 0,05$. Un modèle est considéré comme significatif si la valeur de p est inférieure à 0,05.

Pour la valeur ($p = 0,032$) présentée dans le tableau XIII, les réponses du modèle sont significatives et donc le modèle postulé est suffisant pour expliquer les variations de la réponse.

Dans le tableau XIV, les coefficients estimés ou les effets des facteurs du plan 2^3 et l'association des p-valeurs pour la réponse, sont présentés. Un facteur est considéré comme influent sur la réponse, si l'effet diffère de zéro et que la valeur de p est inférieure de 0,05.

Tableau XIII. Résultats de l'analyse de variance

Source	DL	Somme des carrés	CM	F	P
Régression	3	2046,17	682,06	8,56	0,032
Erreur résiduelle	4	318,63	79,66		
Total	7	2364,80			

Observation	% dissous	Valeur ajustée	Ajust ErT	Valeur résiduelle	Valeur résiduelle normalisée
1	47,80	49,66	6,31	-1,86	-0,29
2	64,38	65,40	6,31	-1,02	-0,16
3	63,52	62,76	6,31	0,76	0,12
4	80,62	78,51	6,31	2,11	0,34
5	67,55	74,22	6,31	-6,67	-1,06
6	4,50	89,97	6,31	9,54	1,51
7	6,80	87,33	6,31	7,76	1,23
8	4,50	103,07	6,31	-10,64	-1,69

Tableau XIV. Effet des facteurs et leurs valeurs p

Prédicteur	Coeff	Coef ErT	T	P
Constante	30,69	24,92	1,23	0,286
milieu	-6,846	2,744	-2,49	0,067
vitesse	0,9826	0,2524	3,89	0,018
volume	0,03276	0,01578	2,08	0,106
milieu*vitesse	0,000	0,000		
milieu*volume	-0,000	-0,000		
vitesse*volume	-0,000	-0,000		
milieu*vitesse*volume	0,005	0,002		

Les données du tableau XIV montrent que la relation entre la réponse et les variables est significative, c'est-à-dire que le pourcentage dissous est influencé par l'effet du pH et de la vitesse de rotation. Par contre, le volume n'a pas d'effet significatif sur la réponse. Les interactions n'ont pas d'effets sur la réponse.

III.3.2. Analyse par surfaces de réponses

Pour visualiser l'effet des variables sur la réponse, une représentation graphique de la surface de réponse a été établie par le logiciel Minitab[®] en se basant sur l'équation du modèle (équ.2). La représentation est sous forme de surface en 3 dimensions et de courbes d'isoréponses. Les figures 7, 8 et 9 illustrent l'effet des trois paramètres du test de dissolution sur la libération de l'amlodipine au temps 30 min.

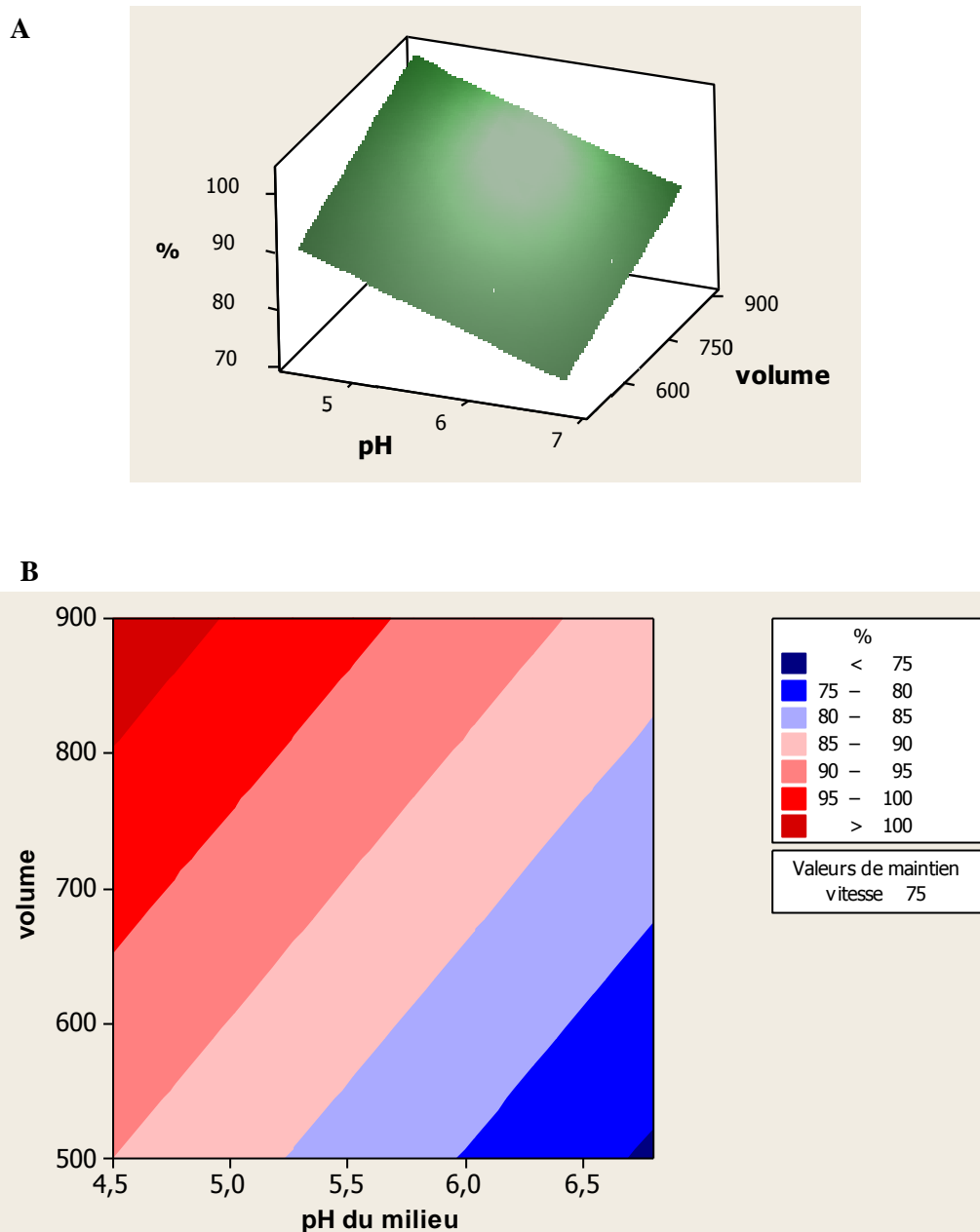


Figure 7. Surface de réponses en 3 dimensions (A) et courbes d'isoréponses (B) montrant l'influence du pH du milieu et du volume sur le pourcentage de libération de l'amlodipine avec la vitesse de rotation de 75 rpm comme paramètre constant

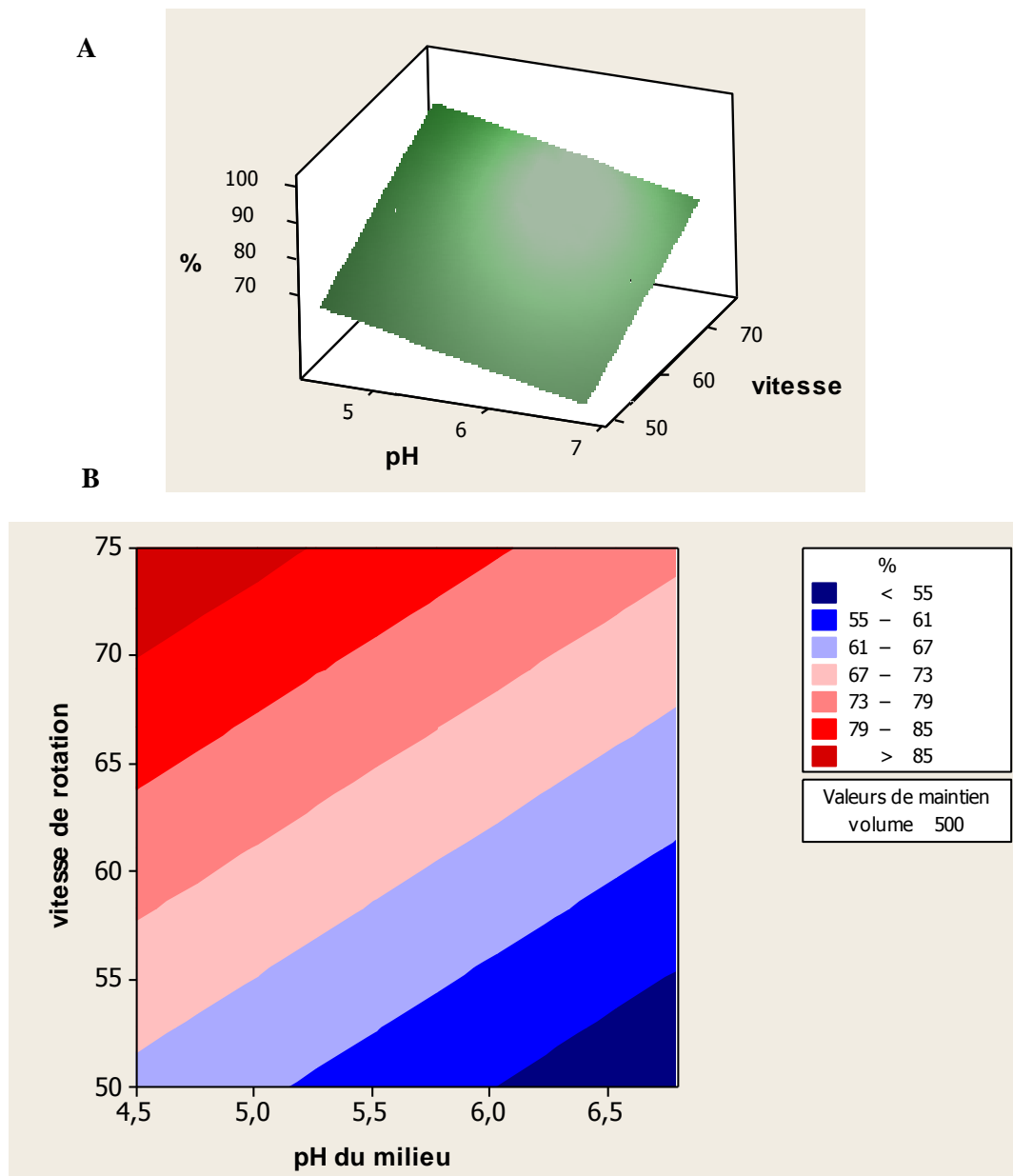


Figure 8. Surface de réponses en 3 dimensions (A) et courbes d'isoréponses (B) montrant l'influence du pH du milieu et de la vitesse de rotation sur le pourcentage de libération de l'amlopidine avec comme paramètre constant le volume de 500 ml

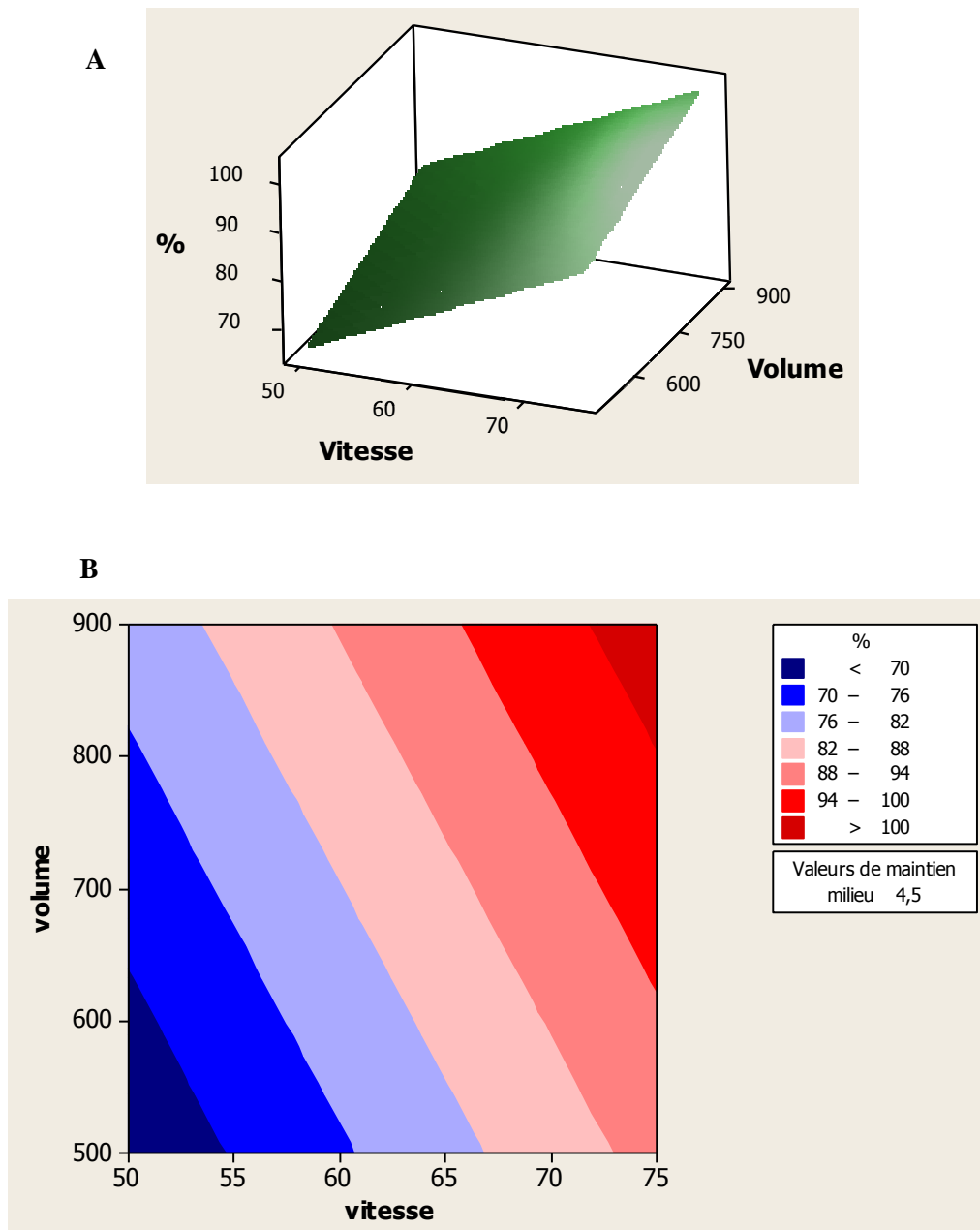


Figure 9. Surface de réponses en 3 dimensions (A) et courbe d'isoréponse (B) montrant l'influence de la vitesse de rotation et du volume du milieu sur le pourcentage de libération de l'amlodipine avec le pH du milieu de dissolution comme paramètre constant

La figure 7 illustre la relation unissant l'effet du pH et la vitesse de rotation au pourcentage de libération de l'amlodipine. La surface est plane ne présente ni torsion ni courbure et les courbes d'isoreponses sont parallèles justifier par l'absence d'interactions. Nous constatons que le pourcentage dissous augmente dans la zone où le pH est faible et la vitesse de rotation est élevée.

Les diagrammes de la figure 8 représentent la relation unissant l'effet du pH et du volume du milieu sur la libération de l'amlodipine de sa forme galénique. Pour favoriser la libération du principe actif dans le milieu, la dissolution doit être effectuée dans un grand volume à un pH voisin de 4,5.

La figure 9 représente la surface de réponse reliant le taux de libération et les effets de la vitesse de rotation et le volume. Une vitesse de rotation élevée et un grand volume sont favorables pour une bonne dissolution.

Pour obtenir un maximum de libération, il est souhaitable de réaliser le test dans un milieu à pH faible dans un grand volume et avec une vitesse de rotation élevée. Donc les paramètres qui permettent d'obtenir une réponse optimale dans le domaine d'étude sont le tampon acétate pH 4,5, la vitesse de rotation de 75 rpm et le volume de dissolution de 900 ml. Puisque le volume n'a pas d'effet significatif sur la réponse (tableau XIV), il est donc raisonnable d'utiliser un volume de 500 ml pour d'une part d'avoir meilleure sensibilité du dosage et d'autre part d'éviter la libération flash et trop rapide de l'amlodipine dans le première minutes (figure10).

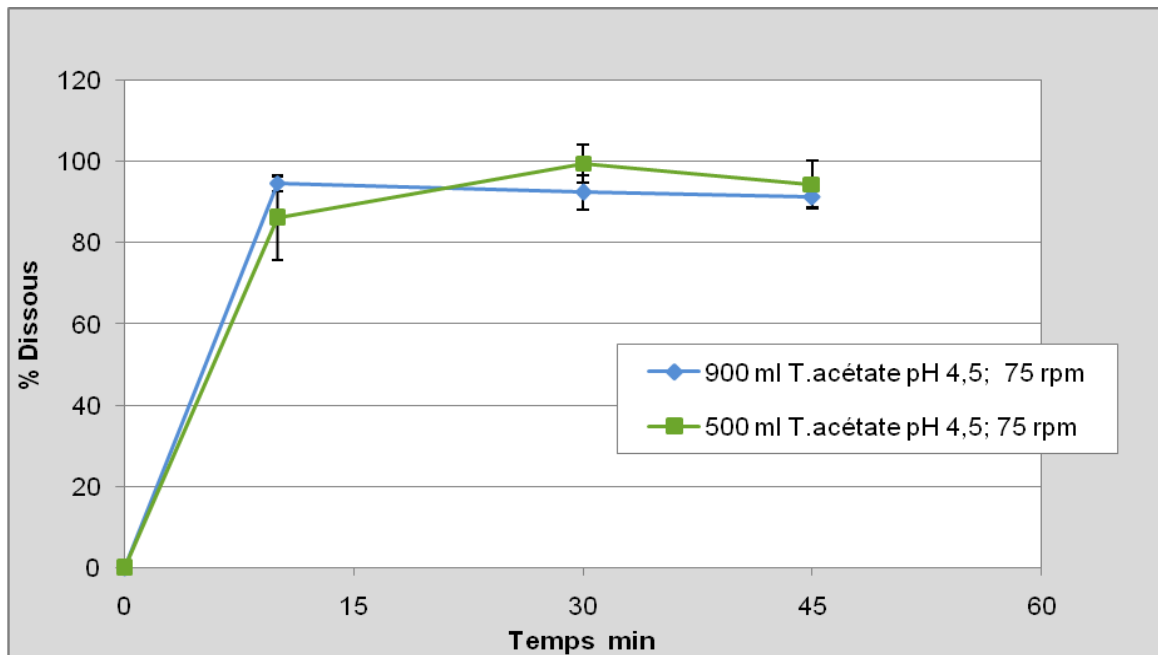


Figure 10. Profils de dissolution des comprimés du princeps dans deux volumes différents 500ml et 900 ml

Donc les paramètres retenus sont

- Tampon acétate pH 4,5
- Vitesse de rotation 75 rpm
- Volume de 500 ml

La figure 11 présente les cinétiques de dissolution des comprimés d'AMLOR[®] obtenus avec les conditions FDA et les conditions optimales trouvées en utilisant la méthode par HPLC. Nous constatons que la libération de l'amlodipine est nettement améliorée.

En changeant le pH du milieu de dissolution, nous avons pu augmenter le pourcentage dissous et donc d'améliorer la dissolution. Le milieu de dissolution est un facteur important et une attention particulière doit être à porter au choix du milieu, étant donné que l'amlodipine se dégrade à pH acide.

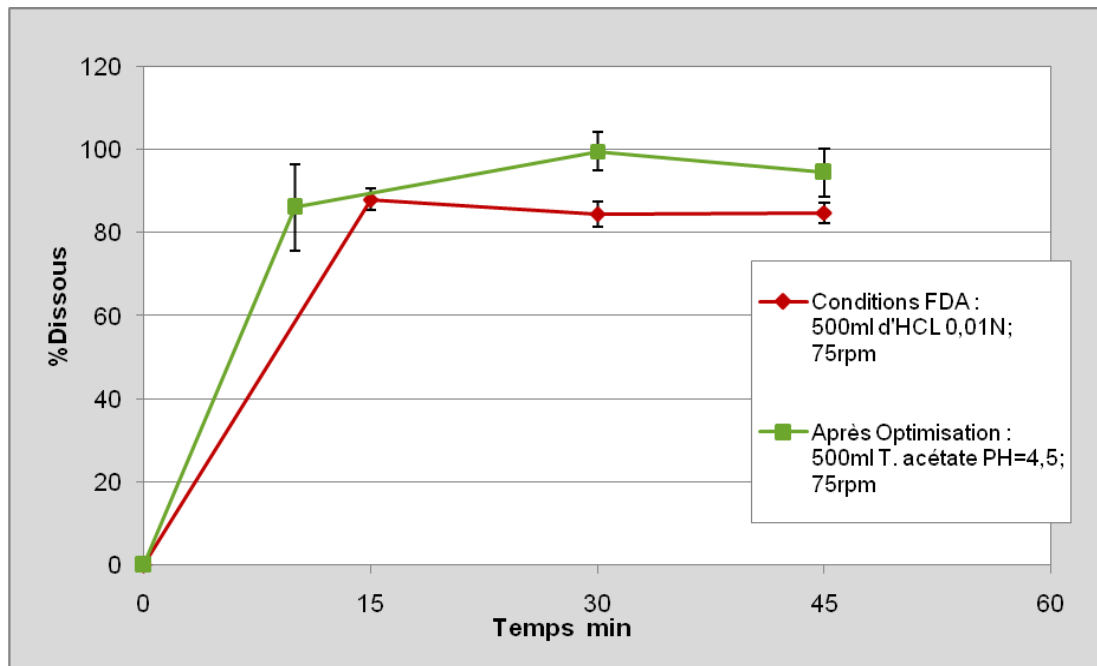


Figure 11. Profils de dissolution des comprimés d'AMLOR® 5mg avant et après optimisation

III.3. Application pour le contrôle des génériques

Il est important dans le cadre du développement de produits génériques que les profils de dissolution entre le princeps et le produit copie soient comparables afin d'éviter toute ambiguïté. L'étude comparative des profils de dissolution des génériques permet l'évaluation la formulation et le procédé de fabrication des génériques provenant de différents laboratoires d'industrie pharmaceutique.

A cet effet, nous avons comparé six génériques d'amlodipine bésilate comprimés dosé à 5mg au produit de référence AMLOR. Le tableau XV présente les résultats de l'application des conditions optimales trouvés au princeps et à six génériques. Chaque valeur représente le pourcentage moyen de dissolution de six comprimés. Ces résultats nous ont permis de tracer les profils de dissolution (figure 12)

Tableau XV. Résultats du test de dissolution du princeps et de six génériques exprimés en pourcentage dissous

	10 min	30 min	45 min
AMLOR	87,84	99,07	96,06
AMOVAS	40,25	57,14	66,04
AMCARD	89,46	93,52	94,10
AMEP	84,76	96,98	92,74
AMILO	88,77	91,14	91,33
CALCINIB	84,11	92,28	95,97
DIPICOR	88,17	90,77	90,75

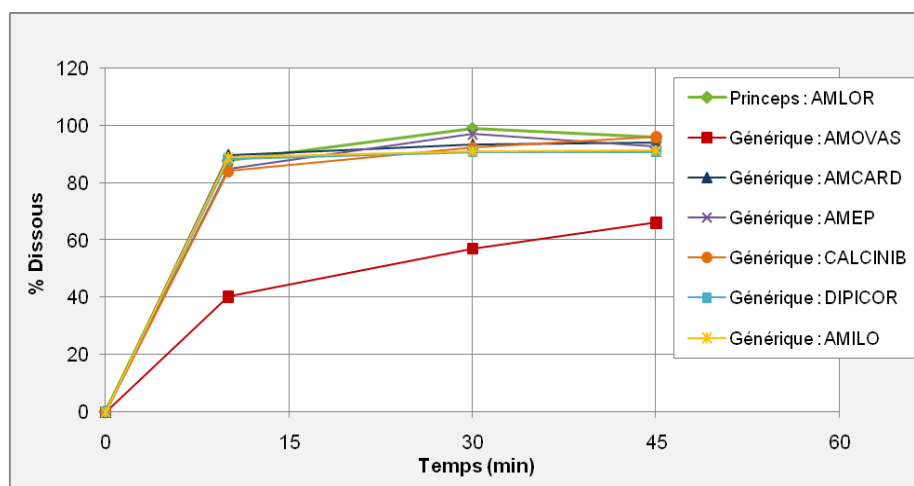


Figure 12. Profils de dissolution des comprimés d'amlodipine 5mg des génériques et princeps en utilisant 500 ml de tampon acétate pH=4,5 et une vitesse de rotation de 75 rpm.

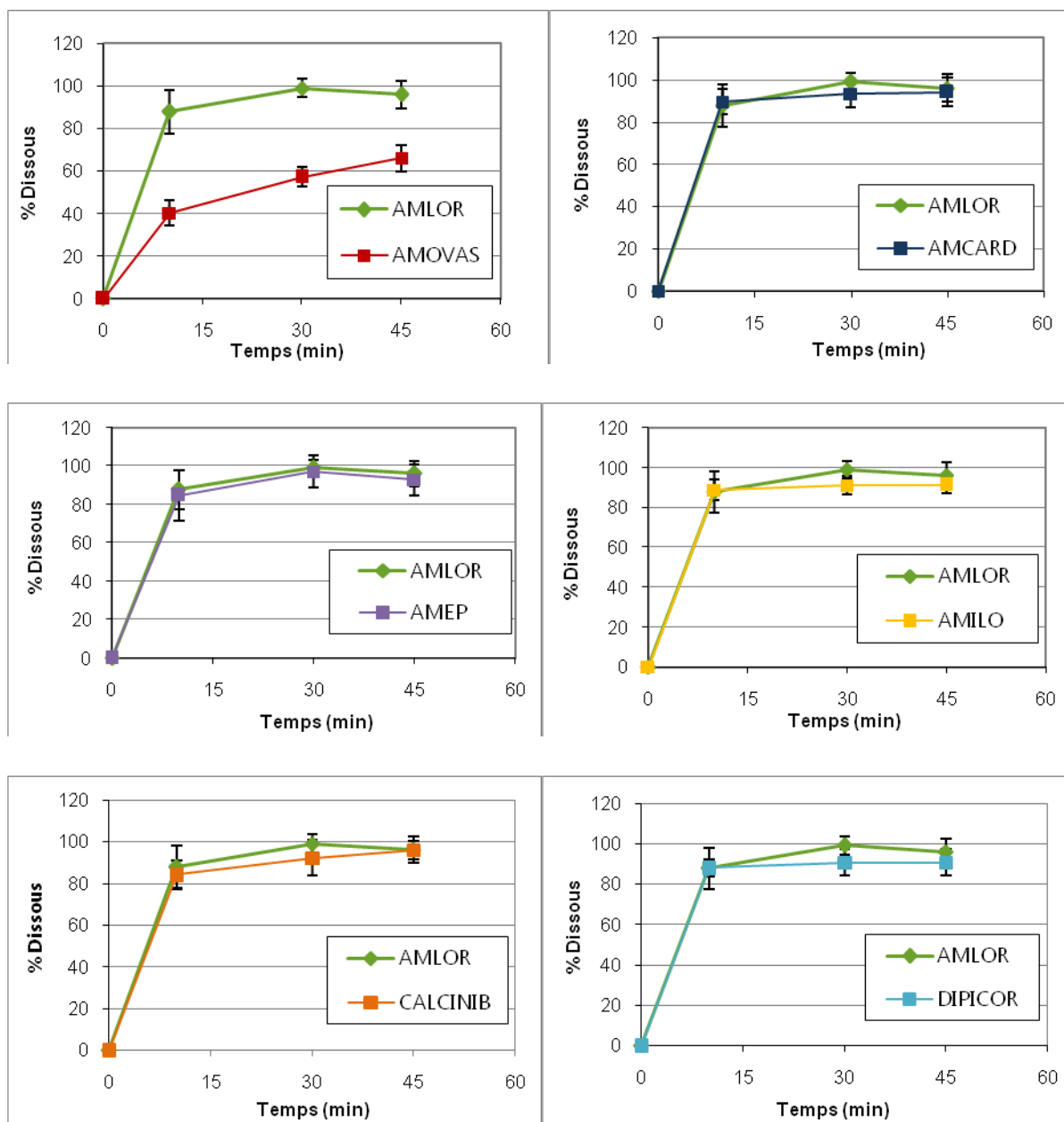


Figure 13. Profil de dissolution de chaque générique avec le princeps

Pour comparer les profils de chaque génériques avec le princeps, nous avons utilisé la méthode du « fit factor » basée sur le calcul de deux facteurs : le facteur de différence f_1 et le facteur de similarité f_2 . Cette méthode impose l'utilisation de 12 comprimés, mais nous n'avons pu réaliser le test que sur six comprimés pour chaque générique.

Deux courbes sont similaires si le facteur f_1 est inférieur à 15 et le facteur f_2 est supérieur ou égale à 50.

Tableau XVI. Résultats de la comparaison des profils des génériques au princeps par la méthode du « Fit factor »

Spécialités pharmaceutique	Masse moyenne	f1	f2	Observation
AMLOR [®]	200 mg			
AMOVAS [®]	120 mg	42,24	19,61	Cinétiques différentes
AMILO [®]	200 mg	4,80	63,18	Cinétiques semblables
DIPICOR [®]	200 mg	4,93	61,92	Cinétiques semblables
AMEP [®]	120 mg	3,00	75,82	Cinétiques semblables
CALCINIB [®]	120 mg	3,75	66,95	Cinétiques semblables
AMCARD [®]	200 mg	3,23	71,80	Cinétiques semblables

Les résultats des facteurs f_1 et f_2 (tableau XVI) montrent une similarité entre les profils de dissolution de cinq génériques avec le produit de référence.

Les résultats hors spécifications sont obtenus avec un seul générique dont la vitesse de libération est retardée par rapport à celle du princeps. Cette différence de profils de libération peut être due à plusieurs facteurs tel que la composition qualitative et quantitative des excipients, la forme des comprimés, le procédé de fabrication. Nous ne pouvons pas tirer de conclusion car d'autres tests doivent être réalisés.

IV. CONCLUSION

La méthode utilisée pour doser l'amlodipine bésilate dans les comprimés dosés à 5mg est une méthode par HPLC. Cette méthode utilise un mélange d'acétate d'ammonium et de méthanol (40 : 60 v/v) comme phase mobile, une colonne monolithique RP-18e avec une détection UV à 237 nm. La fiabilité de la méthode a été démontrée par les principaux tests de validation : sélectivité (absence d'interférence des excipients et des impuretés), linéarité ($R^2 = 0,9932$), répétabilité (CV = 1,81%), fidélité intermédiaire (CV = 1,78%), exactitude (IC = $99,92 \% \pm 1,62$), seuil de détection (SD = 1,47 $\mu\text{g/ml}$) et seuil de quantification (SD = 4,47 $\mu\text{g/ml}$).

L'optimisation des conditions de dissolution à l'aide de la méthodologie des plans d'expériences a montré que les conditions optimales pour le test sont

- 500 ml comme volume du milieu
- tampon acétate pH = 4,5
- vitesse de rotation des palettes de 75 rpm

L'étude comparative des profils de dissolution a permis l'évaluation des formulations et des procédés de fabrications des génériques. Le test de dissolution permettrait de prévoir le comportement de la forme galénique in vivo mais une étude de bioéquivalence est indispensable pour apprécier le degré de rapprochement avec la réalité.

CONCLUSION GENERALE

Ce présent travail nous a permis d'effectuer des contrôles de dissolution in vitro de certaines spécialités d'amlodipine comprimés dosés à 5 mg après optimisation des conditions opératoires à partir du princeps afin de les rendre peu sensibles aux fluctuations et aux incertitudes.

Pour doser le principe actif libéré, nous avons mis au point et optimisé une méthode par HPLC. La validation a été réalisée selon les démarches classiques de l'ICH et la SFSTP.

L'optimisation a été réalisée en mettant en œuvre un plan d'expériences du type plan factoriel complet 2^3 (soit 8 expériences). Nous avons étudié l'influence de variations des facteurs les plus influents sur la vitesse de libération : le pH du milieu de dissolution, la vitesse de rotation et le volume du milieu. Nous avons déterminé les conditions optimales en utilisant la méthode des surfaces de réponse. Les conditions optimales retenues sont 500 ml de tampon acétate pH 4,5 et la vitesse de rotation des palettes de 75 rpm.

L'optimisation des conditions de dissolution nécessite des expériences souvent coûteuses en temps, mais elle est facilitée par l'utilisation de la méthodologie des plans d'expériences.

Par ailleurs, cette approche pratiquée sur les comprimés d'amlodipine peut être appliquée à d'autres tests de dissolution et à d'autres formes galéniques solides (formes à libération modifiée ou contrôlée) afin de garantir la qualité, la sécurité et l'efficacité d'un médicament.

RESUMES

RÉSUMÉ

Thèse n°67 : Optimisation du test de dissolution à l'aide de la méthodologie des plans d'expériences. Cas de l'amlodipine comprimés.

Auteur : EL BERBOUCHI Loubna

Mots clés : Optimisation, Plans d'expériences, Surfaces de réponse, Test de dissolution, Validation.

Le test de dissolution est un outil important pour l'évaluation de la qualité des médicaments car il fournit une idée sur le comportement du médicament in vivo. Pour cela le test de dissolution doit être bien mené et maîtrisé. Ce travail présente une approche pour développer et optimiser le test de dissolution des comprimés du princeps d'amlodipine bésilate dosés à 5 mg qui n'est décrit dans aucune pharmacopée à part quelques recommandations décrites par la FDA (food and drug administration). Dans ce travail, nous avons tout d'abord mis au point une méthode du dosage de l'amlodipine bésilate dans les comprimés par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Cette méthode a été validée selon les critères de l'ICH et de la SF STP. Nous avons ensuite optimisé les conditions de dissolution à l'aide de la méthodologie des plans d'expériences qui consiste à planifier les expériences à mener et à établir le meilleur modèle mathématique. Un plan factoriel complet 2^3 a été utilisé pour étudier l'effet des trois facteurs à deux niveaux : pH du milieu (4,5 ; 6,8), volume (500, 900 ml) et vitesse de rotation des palettes (50, 70 rpm) sur le pourcentage de libération de l'amlodipine. Les données ont été analysées par la méthode des surfaces de réponse. Les conditions optimales trouvées sont le tampon acétate pH 4,5, la vitesse de rotation de 75 rpm et le volume de 500 ml. Ces conditions optimales ont été appliqué pour la comparaison de six génériques au princeps, nous avons comparé les profils de six génériques au princeps en utilisant la méthode du « fit factor ».

SUMMARY

Thesis n°67 : Optimization of dissolution test using the methodology of plans experiences.
Case of amlodipine tablets.

Author: EL BERBOUCHI Loubna

Keywords: Optimization, Design of experiments, Response surfaces, Dissolution test, Validation.

The dissolution test is an important tool for assessing the quality of drugs because it provides an idea about the behavior of the drug in vivo. For this, the dissolution test should be conducted and well controlled. This work presents an approach to develop and optimize the dissolution test of tablets of the princeps besilate amlodipine 5 mg tablets which is described in any pharmacopoeia with some recommendations outlined by the FDA (Food and Drug Administration). In this work, we first developed a method of determination of amlodipine besilate in tablets by high performance liquid chromatography (HPLC). This method has been validated by the standards of the ICH and the SF PTS. We then optimized dissolution conditions using the methodology of experimental design that involves planning and conducting experiments to determine the best mathematical model. A full factorial 2^3 was used to study the effect of three factors at two levels: medium pH (4.5, 6.8), volume (500, 900 ml) and speed of rotation of vanes (50, 70 rpm) on the percentage of release of amlodipine. The data were analyzed using response surface. The optimal conditions were found the acetate buffer pH 4.5, the rotation speed of 75 rpm and 500 ml. These optimum conditions were applied for comparison of six generic princeps, we compared the profiles of six generic princeps with using the method of "fit factor".

ملخص

- أطروحة رقم 67: تحسين اختبار الانحلال باستعمال منهجية تصميم التجارب.
- حالة أقراص الأملوديبين -
- من طرف: البربوشي لبنى
- الكلمات الأساسية: تحسين - تصميم التجارب - مساحات الإجابة - اختبار الانحلال - التصديق.

إن اختبار الانحلال ضروري لتقييم جودة الأدوية لأنها تعطي فكرة عن سلوك الدواء داخل الجسم. لهذا ينبغي لاختبار الانحلال أن يكون مصمم بشكل جيد وبطريقة تحد من تغيير نتائجه. هذا العمل يطرح نهجا لتطوير وتحسين اختبار انحلال أقراص الأملوديبين 5 ملغ الذي لم يوصف في أية أقرابادين سوى بعض الشروط التي أوصت بها إدارة الغذاء والدواء الأمريكية. أولا قمنا بتطوير طريقة لتحديد كمية الأملوديبين في الأقراص بواسطة التحليل الكروماتوغرافي ذي جودة عالية. وقد تم التحقق من صحة هذا الطريقة بإظهار خطية، وفاء، دقة و انتقائية هذه الطريقة التحليلية. بعد ذلك تم تحديد أحسن الظروف لإنجاز الاختبار باستعمال منهجية تصميم التجارب. هذه المنهجية تعتمد على التخطيط لإجراء التجارب ثم إنشاء نموذج رياضي ومن ثم تحليل النتائج. تم استعمال تصميم 2^3 لدراسة تأثير عوامل حمضية وسط الانحلال (68, 4,5 و 50) ، حجم وسط الانحلال (500 و 900 مل) و سرعة دوران (50 و 75 دورة في الدقيقة) على سرعة انحلال الأملوديبين في 30 دقيقة. ثم تحليل النتائج بواسطة مساحات إجابة. وعلى إثرها تم تحديد الظروف المثلى وهي وسط ذو درجة حموضة 4,5 ، سرعة دوران 75 دورة في الدقيقة و 500 مل. تم تطبيق هذه الظروف لمقارنة لستة أدوية جنيسة بالمنتج الأصلي. وقد تم استعمال طريقة "الفيت فكتور" لمقارنة حركية انحلالها.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. HOENER B, BENET LZ. Factors influencing drug absorption and drug availability. In: Banker GS, Rhodes CT, Modern Pharmaceutics. New York: Marcel Dekker, 2002.
- [2]. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System, August 2000.
- [3]. LE HIR A, CHAUMEIL JC, BROSSARD D. Pharmacie galénique Bonnes pratiques de fabrication des médicaments 9^{ème} édition. Paris : Masson ; 2009.
- [4]. FURLANETTO S, MAESTRELLI F, ORLANDINI S, PINZAUTI S, MURA P. Optimization of dissolution test precision for a Ketoprofen oral extended-release product. J Pharm Biomed Anal. 2003; 32: 159-165.
- [5]. KINCL M, TURK S, VRECER F. Application of experimental design methodology in development and optimization of drug release method. Int J Pharm. 2005; 291: 39-49.
- [6]. AKHGARI A, AFRASIABI GAREKANI H, SADEGHI F, AZIMAIE M. Statistical optimization of indomethacin pellets coated with pH-dependent methacrylic polymers for possible colonic drug delivery. Int J Pharm. 2005; 304: 22-30.

- [7]. ORTIGOSA Cl.A, LASSERRE YL. Optimisation de la cinétique de dissolution de la théophylline en matrices semi-solides de Gélucire. *Ann Pharm Fr.* 2004 ; 62: 128-132.
- [8]. LEBLANC PP, AÏACHE JM, BESNER JG, BURI P, LESNE M *et al.* *Traité de Biopharmacie et de Pharmacocinétique*, 3^{ème} édition. Paris : Vigot ; 1997.
- [9]. BEYSSAC E, BILLON-CHABAUD 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.
- [10]. NOYES AA, WHITNEY WR. The rate of solution of solid substances in their own solutions. *J Am Chem Soc.* 1897; 19: 930–934.
- [11]. ABELLI C, BECART A *et al.* Test de Dissolution appliqué aux formes orales à libération immédiate. *STP Pharma Prat* 1999 ; 9 (4) : 287-293.
- [12]. BROSSARD D. L'essai de vitesse de dissolution pourquoi ? comment ? *STP Pharma Prat.* 1986 ; 2 (19) : 719-722.
- [13]. TALL ML. Contrôle qualité de princeps et génériques de comprimés de métformine A propos de 7 spécialités. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V, n°10, 2006.

- [14]. BAUER M, COUTEAU A, MONJANEL F, PAGES M, VIDEAU JY, YAMEOGO O. Influence des caractéristiques physiques du furosémide sur sa libération à partir de comprimés génériques. STP Pharma Prat. 2002 ; 12 (2) : 76-84.
- [15]. LAMALMI F, DRAOUI M, BENRAMDANE L, CHERRAH Y, IDRISSE M OB, ZAHIDI A, IMBENOTTE M. Etude de la cinétique de libération de la théophylline à partir d'une matrice phosphatée élaborée par voie sous-gel. Biologie et santé. 2004, 4 (2) : 1-16.
- [16]. BA A, BAUER M, HAMDANI H, DE LA TORRE N, VIDEAU JY, YAMEOGO O. Etude du comportement en dissolution de différents comprimés génériques de Glibenclamide comparativement au produit princeps. STP Pharma Prat. 2005 ; 15 (3) : 213-230.
- [17]. EATON J, DENG G, HAUCK WW, BROWN W, MANNING RG, WAHAB S. Perturbation study of dissolution apparatus variables – A design of experiment approach. Dissolution Technol. 2007; 14 (1): 20-26. http://www.dissolutiontech.com/DTresour/200702Articles/DT200702_A03.pdf, consulté le 27 juin 2010.
- [18]. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms, August 1997.

- [19]. KRÄMER J, GRADY LT, GAJENDRAN J. Historical Development of Dissolution Testing. In: Dressman J, Krämer J, éd. Pharmaceutical Dissolution Testing. Taylor & Francis Group; 2005: 1-38.
- [20]. BROWN WE. Compendial Requirements of Dissolution Testing – European Pharmacopoeia, Japanese Pharmacopoeia, United States Pharmacopoeia. In: Dressman J, Krämer J, éd. Pharmaceutical Dissolution Testing. Taylor & Francis Group; 2005: 69-80.
- [21]. PHARMACOPEE EUROPEENNE, conseil de l'Europe, Strasbourg France. Essai de dissolution des formes solides (2.9.3), supplement 6.8 de la 6^{ème} édition, référence 01/2010 : 20903.
- [22]. UNITED STATES PHARMACOPOEIA, Rockville USA. Dissolution <711>, 32th edition.
- [23]. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: Extended Release Oral Dosage Forms: Development, Evaluation, and Application of in Vitro/in Vivo Correlations, September 1997.
- [24]. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION. Specifications: Test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: Chemical Substances Q6A, October 1999.

- [25]. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Scale-up and Post-Approval Changes: Chemistry, Manufacturing and Controls, In Vitro Dissolution Testing, and In Vivo Bioequivalence Documentation [SUPAC-IR], November 1995.
- [26]. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE. 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.
- [27]. SHAH VP. The Role of Dissolution Testing in the Regulation of Pharmaceuticals: The FDA Perspective. In: Dressman J, Krämer J, éd. Pharmaceutical Dissolution Testing. Taylor & Francis Group; 2005: 80-96.
- [28]. AMIDON GL, LENNERNAS H, SHAH VP, CRISON JR. A theoretical basis for a biopharmaceutics drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm Res* 1995; 12: 413–420.
- [29]. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: Bioavailability and Bioequivalence Studies for orally Administered Drug Products – General Considerations, March 2003.

- [30]. EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Guideline on the investigation of bioequivalence, CPMP/QWP/EWP/1401/98 Rev. 1, 20 January 2010.
- [31]. CIRCULAIRE DU MINISTÈRE DE LA SANTÉ N° 49 DMP/00 DU 16/07/03 modifiant et complétant la circulaire n° 48 DMP/00 du 10 décembre 1988 relative a la procédure de demande d'obtention de l'autorisation de débit d'une spécialité pharmaceutique en pharmacie d'officine ou a l'hôpital.
- [32]. REUNION DU CONSEIL DE L'ORDRE DES PHARAMCIENS FABRICANTS ET REPARTITEURS/ LABORATOIRE NATIONAL DE CONTROLE DES MEDICAMENTS. Guide des Modalités dépôt de la documentation et des échantillons des spécialités pharmaceutiques à usage humain au laboratoire national de contrôle des médicaments, 06 Février 2008.
- [33]. LOI N° 17-04 portant code du médicament et de la pharmacie, Bulletin officiel n° 5480 DU 15 Kaada 1427 (7 décembre 2006).
- [34]. PROJET DE DECRET N° 004874 DRC/00 DU 5 Mars 2010 relatif à la bioéquivalence des médicaments génériques.
- [35]. ABELLI C, ANDRIOLLO O, MACHURON L, VIDEAU JY, VENNAT B, POUGET MP. Equivalence pharmaceutique des médicaments essentiels génériques. STP Pharma Prat 2001 ; 11 (2) : 89-101.
- [36]. BROWN CK. Dissolution Method Development: An Industry Perspective. In: Dressman J, Krämer J, éd. Pharmaceutical Dissolution Testing. Taylor & Francis Group; 2005: 351-374.

- [37]. PHARMACOPEE EUROPEENNE, conseil de l'Europe, Strasbourg France. Recommandations relatives à l'essai de dissolution (5.17.1), supplément 6.8, 6^{ème} édition, référence 07/2010: 51701.
- [38]. ABELLI C, BECART A ET AL. Test de Dissolution appliqué aux formes orales à libération immédiate. STP Pharma Prat 1999 ; 9 (4) : 287-293.
- [39]. CHAGNON P. Les plans d'expériences (partie 1) – Principes généraux. Contrôles-essais-mesures, avril 2005: 69-72. http://www.mesures-and-co.com/pdf/avis_expert/55_AE_Chagnon.pdf, consulté le 30 mars 2010.
- [40]. GOUPY J. Les plans d'expériences. Modulade 34, 2006: 74-116. <http://www-rocq.inria.fr/axis/modulad/archives/numero-34/Goupy-34/goupy-34.pdf>, consulté le 31 mars 2010.
- [41]. LEPADATU D. Optimisation des procédés de mise en forme par approche couplée plans d'expériences, éléments finis et surfaces de réponse. Thèse de doctorat en Sciences de l'Ingénieur, Institut des Sciences et Techniques de l'Ingénieur d'Angers, Université d'Angers, 2006, n° 327.
- [42]. BODSON C. Application de la technologie analytique des procédés dans l'étude de l'homogénéité de mélanges de poudres pour compression directe. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Faculté de Médecine, Université de Liège, 2006-2007.
- [43]. 4^{ème} Rencontre Internationale sur l'Analyse et la Chimométrie. 12 et 13 Mars 2010 ; Béni Mellal, Maroc.

- [44]. GOUPY J, CREIGHTON L. Introduction aux plans d'expériences. Paris : Dunod ; 2006.
- [45]. AFNOR, FD X 06-081 : juin 2003. Plans d'expériences – Guide pour le choix d'un plan d'expériences.
- [46]. SERGENT M. Les plans d'expériences: un outil pour l'analyse chimique. In : 4^{ème} Rencontre Internationale sur l'Analyse et la Chimiométrie. 12 et 13 mars 2010; Béni Mellal, Maroc.
- [47]. CARDOT JM, PICCERELLE Ph, WEHRLE P. Outils statistiques pour l'optimisation et le suivi de la qualité des formes et des procédés pharmaceutiques. In : Wehrlé P, éd. Pharmacie galénique Formulation et technologie pharmaceutique. Paris : Maloine ; 2007: 321-356.
- [48]. GILLON F. Modélisation et optimisation par plans d'expériences d'un moteur à commutations électroniques. Thèse de doctorat en Sciences de l'Ingénieur, Institut des Sciences et Techniques de Lille, Université de Lille, 1997, n° 2166.
- [49]. KETTANI N. Guide des Médicaments au Maroc, 3^{ème} édition. Rabat : Médika ; 2008 : 730-738.
- [50]. PHARMACOPEE EUROPEENNE, conseil de l'Europe, Strasbourg France. Monographie Amlodipine (bésilate d'). Supplément 6.7, 6^{ème} édition, référence 04/2010 : 1491.

- [51]. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Dissolution Methods. http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults_Dissolutions.cfm?PrintAll=1, consulté le 28 juin 2010.
- [52]. CAPORAL-GAUTIER J, NIVET JM. Guide de validation analytique. Rapport d'une commission SFSTP Méthodologie, 1992 : 205-226.
- [53]. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION. Validation of analytical procedures: Text and Methodology Q2, October 1994.
- [54]. COLORCON. Formulation and processing options for an Amlodipine besylate. American Academy of pharmaceutical sciences. http://www.colorcon.com/literature/marketing/ex/Starch%201500/poster_amlodipine_besylate.pdf, consulté le 28 Juin 2010.
- [55]. TZANAVARAS PD, THEMELIS DG, ZOTOU A, STRATIS J, KARLBERG B. Optimization and validation of a dissolution test for selegiline hydrochloride tablets by a novel rapid HPLC assay using a monolithic stationary phase. *J Pharm Biomed Anal.* 2008; 46: 670–675.
- [56]. MOHAMMADI A, REZANOUR N, ANSARI DOGAHEH M, GHORBANI BIDKORBEH F, HASHEM M, WALKER R.B. A stability-indicating high performance liquid chromatographic (HPLC) assay for the simultaneous determination of atorvastatin and amlodipine in commercial tablets. *J Chrom B Biomed Sci Appl.* 2007, 846 (1/2): 215-221.
- [57]. KOUSTUBMANI KAMAT, S.C CHATURVEDI. Stability indicating assay method for amlodipine tablets. *Indian J Pharm Sci.* 2005; March-Avril : 236-239.

جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
-- الرباط

قسم الصيدلي

أقسم بالله

- ❖ أن أراقب الله في مهنتي
- ❖ أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيما 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

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 humaine.
- ❖ 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.

تحسين اختبار الإنحلال باستعمال
منهجية تصميم التجارب
حالة أقراص الأملوديبين

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرف

الآنسة: لبنى البربوشي

المزداة في: 24 يوليوز 1985 بالدار البيضاء

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: تحسين – تصميم التجارب – مساحات الإجابة – اختبار الانحلال – التصديق.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

مشرف

السيد: يحيى الشراح

أستاذ في علم الصيدلة

السيد: عبد العزيز بوكلوز

أستاذ في التطبيقات الصيدلانية

السيد: رضوان أبوقال

أستاذ في الإنعاش الطبي

السيد: مصطفى الدراوي

أستاذ في الكيمياء التحليلية

أعضاء

}