

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 –



FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

*Place des méthodes d'étude de l'absorption  
percutanée des médicaments*

Thèse d'exercice de fin d'études

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Session : Août 2020.

Présentée par :

- BOUABBAS Khensaa    - HADRI Yasmina    - MOSTEFAOUI Nabila

Devant le jury :

- Président : Pr O. BENAZIZ, Maitre de conférences en Pharmacie galénique
- Encadreur : Dr S. DJELLOULI, Maitre-assistant en Pharmacologie
- Examineur : Dr L. AZZOUZ, Maitre-assistante en Chimie analytique



# Remerciements

On remercie **DSEU** le tout puissant de nous avoir donné la santé et, la volonté d'entamer et de terminer ce travail. Que sa bénédiction et sa protection accompagnent tous nos actes dans ce monde.

Le travail présenté dans ce mémoire est le fruit de recherche, Sa réalisation a été possible grâce au concours de plusieurs personnes, à qui nous voulons témoigner toute notre reconnaissance.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements ainsi notre profonde reconnaissance à notre promoteur Dr. Djellouli, maître-assistant en pharmacologie, pour la disponibilité, l'orientation, la confiance, la patience et les conseils durant tous ces mois qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.

Nos remerciements vont aussi à l'égard des membres de Jury qui nous ont fait l'honneur de juger notre travail.

Nous souhaitons également remercier tous les enseignants du département de Pharmacie, et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à notre formation et à la réussite de cette étude.

Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenus de près ou de loin.

*Merci*





## إهداء

إلى من سعى من أجل راحتي ونجاحي، إلى من أحبل اسبه بكل فخر... أبي

إلى من أحبل تفاصيل شخصيتها ومن نشأت نسخة منها... أمي

إلى توأم روحي... أختي هند

إلى رجال البيت بعد أبي... إخوتي... هشام وعبد الرحيم

إلى سندی ومن خطى معي خطواتي... إلى من سأكبل معه حياتي... علاء

إلى أختي التي لم تنجبها أمي... إلى ليديا

إلى من رافقني في تجسيد هذه الذكرى وقضيت معهن أفضل أوقات الجامعة... يسبينة ونبيلة

إلى كل صديقاتي في كلية الطب قسم الصيدلة وبالأخص.. نهاد وهاجر

## خنساء



## إهداء

تبنيتُ لو كنتَ حاضرًا فرأيتني وأنا على أعتاب تخرجي، ورأيت ثمرَةَ تعبِكَ وحلم حياتك في أن ترى

أحد بناتك صيدلانية... أبي

إلى التي تضحى بصمت وترى نجاحاتها متجسدة في تفوقك ولا تبالي... شععتي... أمي

إلى اللواتي سبقنني إلى التميز والتفوق فتبنيت أن أكون مثلهن... قدوتي... أخواتي...

المهندسة خديجة والدكتورة أسماء

إلى أخي سندی... عبد الله

إلى اللواتي أنعم الله على بهن... رفيقات الدرب... خنساء ونبيلة

إلى كل ذكرى جميلة في قسم الصيدلة جامعة البليدة... زميلاتي نهاد، روان، ناريمان، هاجر،

حسيبة

يسبينة





## Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À ma mère qui m'a accompagné tout au long de mon parcours, m'a encouragé, m'a soutenue et m'a comblé d'amour et d'affection.

À mon père qui a su m'apprendre le sens de la responsabilité ; de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.

À mes chers frères Mokhtar, Elias & Abdelhak, qui m'ont toujours entouré et motivé, pour leur soutien moral. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

À mon fiancé Naim qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.

À mes grands-parents, pour leurs prières, leur bénédiction et leur amour, j'aurais tant voulu vous avoir à mes côtés ce jour-là.

À mes trinômes Khensaa & Yasmina pour leur aide, leur compréhension et leur appui permanent.

À mes chères collègues, en particulier Kassiba, Ourwa, Amina, Saoucen, Djamila, Hadjer & Hadjer pour leur aide pendant notre cursus.

Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit. Recevez à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude et reconnaissance.

Nabila



# Table des matières

<b>Liste des figures</b> .....	I
<b>Liste des tableaux</b> .....	III
<b>Abréviations</b> .....	IV
<b>Glossaire</b> .....	VIII
<b>Introduction générale</b> .....	1

## Partie bibliographique

### Chapitre I: Généralités et développement des médicaments

1. Généralité sur les médicaments.....	5
1.1 Histoire du médicament .....	5
1.2 Définition.....	6
1.3 Classification .....	6
1.3.1 Classification selon l'origine.....	6
1.3.1.1 Médicaments d'origine naturelle.....	6
1.3.1.2 Médicaments d'origine chimique.....	6
1.3.1.3 Médicaments biotechnologiques .....	7
1.3.2 Classification chimique .....	7
1.3.3 Classification pharmacologique .....	7
1.3.4 Classification thérapeutique .....	7
1.3.5 Classification pharmaco-thérapeutique .....	7
1.4 Composition .....	8
1.4.1 Principe actif .....	8
1.4.2 Excipients .....	8
1.4.3 Articles de conditionnement .....	8

1.5 Dénomination .....	8
1.6 Voies d'administration .....	9
1.6.1 Voie parentérale .....	9
1.6.1.1 Voie intradermique (ID).....	9
1.6.1.2 Voie sous-cutanée (S/C).....	9
1.6.1.3 Voie intramusculaire (IM).....	9
1.6.1.4 Voie intraveineuse (IV).....	9
1.6.1.5 Voie intra-artérielle (IA) .....	10
1.6.1.6 Voies d'injections locales particulières .....	10
1.6.2 Voie entérale ou VO.....	10
1.6.3 Voie pulmonaire .....	10
1.6.4 Voie nasale .....	10
1.6.5 Voie cutanée ou transdermique.....	10
1.6.6 Voies des muqueuses .....	11
2. Développement du médicament .....	11
2.1 Recherche fondamentale .....	11
2.2 Essais précliniques .....	11
2.2.1 Étude pharmacocinétique .....	12
2.2.1.1 Absorption .....	12
2.2.1.2 Distribution.....	12
2.2.1.3 Métabolisme .....	13
2.2.1.4 Excrétion .....	13
2.2.2 Étude pharmacologique.....	13
2.2.2.1 Études de pharmacologie de la recherche .....	13

2.2.2.1.1 Études pharmacologiques de recherche primaires .....	14
2.2.2.1.2 Études pharmacologiques de recherche secondaires .....	14
2.2.2.2 Études pharmacologiques de sécurité .....	14
2.2.3 Étude toxicologique.....	15
2.3 Essais cliniques .....	15
2.4 Autorisation de mise sur le marché (AMM) : feu vert pour la commercialisation .....	17
2.5 Procédure d'enregistrement en Algérie: décision d'enregistrement (DE)....	19

## **Chapitre II: Anatomie et physiologie de la peau**

2.1 Anatomie de la peau.....	21
2.1.1 Epiderme .....	21
2.1.2 Stratum corneum (SC).....	22
2.1.3 Zone de jonction dermo- épidermique (JDE) .....	23
2.1.4 Derme .....	23
2.1.5 Hypoderme .....	23
2.1.6 Annexes de la peau.....	24
2.1.6.1 Poil.....	24
2.1.6.2 Glande sébacée.....	24
2.1.6.3 Glande sudoripare .....	24
2.2 Physiologie de peau.....	25
2.2.1 Maintien de la température corporelle .....	25
2.2.2 Fonction barrière .....	25
2.3 Absorption percutanée.....	26
2.3.1 Mécanisme d'absorption percutanée.....	26
2.3.1.1 Pénétration transépidermique.....	26

2.3.1.2 Pénétration à travers les annexes cutanées.....	28
2.3 Facteurs influençant l'absorption percutanée .....	28
2.3.1 Facteurs liés à la peau.....	28
2.3.1.1 Localisation anatomique .....	28
2.3.1.2 Age .....	28
2.3.1.3 Altération de la peau .....	28
2.3.1.4 Hydratation du SC .....	29
2.3.1.5 Température cutanée .....	29
2.3.1.6 Vascularisation cutanée.....	29
2.3.2 Facteurs liés au PA .....	29
2.3.2.1 Taille/Poids moléculaire (PM) .....	29
2.3.2.2 Solubilité .....	30
2.3.2.3 Point de fusion.....	30
2.3.2.4 Ionisation.....	30
2.3.2.5 Concentration .....	30
2.1.3 Facteurs liés à la formulation du topique .....	30
2.1.3.1 Forme galénique.....	30
2.1.3.2 Additifs .....	30
2.1.4 Facteurs liés au mode d'application .....	31
2.1.5 Facteurs environnementaux .....	31
<b>Chapitre III: Méthodes d'étude de l'absorption percutanée des médicaments</b>	
3.1 Méthodes in vitro .....	33
3.1.1 Perméation cutanée .....	33
3.1.2 Méthode de pénétration .....	34

3.1.3 Modèles de peau perfusés (Perfused Skin Models) .....	36
3.2 Méthodes <i>in vivo</i> .....	39
3.2.1 Méthode de la réponse pharmacodynamique.....	39
3.2.2 Méthode d'étude de récupération (Recovery studies) .....	39
3.2.3 Méthode de stripping.....	39
3.2.4 Microdialyse cutané (Dermal Microdialysis DMD) .....	40
3.3 Estimation de la perméation percutanée par un modèle mathématique.....	42
3.3.1 Modèles empiriques .....	42
3.3.1.1 Mesures de $K_p$ .....	42
3.3.1.2 Bases de données de valeurs de $K_p$ .....	42
3.3.1.3 Modèles de QSPR (quantitative structure-permeation Relationship).....	43
3.3.2 Modèles mécanistiques .....	44

## **Partie expérimentale**

<b>1. Objectifs.....</b>	<b>48</b>
<b>2. Matériels et méthodes.....</b>	<b>48</b>
2.1 Matériel .....	48
2.1.1 Choix de la molécule.....	48
2.1.2 Réactif animal .....	50
2.1.3 Matière première et réactifs chimiques .....	50
2.1.4 Equipement et consommable .....	50
2.1.5 Choix de la cellule de FRANZ.....	51
2.2 Méthode.....	53
2.2.1 Choix et principe de la méthode.....	53
2.2.2 Préparation du milieu récepteur .....	53

2.2.3 Mode opératoire .....	54
2.2.4 Méthode/ dosage analytique.....	56
<b>3. Résultats.....</b>	<b>57</b>
<b>4. Discussion .....</b>	<b>58</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>60</b>
<b>Références</b>	
<b>Résumé</b>	

## Liste des figures

Figure 1: Schéma représentatif des étapes de développement d'un médicament (original) ....	17
Figure 2 : Triangle CTD (Common Technical Document organisé en cinq modules) le module 1 est spécifique de la région et les modules 2, 3,4 et 5 sont destinés à être communs à toutes les régions.....	18
Figure 3: Schéma de la structure de la peau.....	21
Figure 4: Schéma des cellules et des couches cellulaires de l'épiderme.....	22
Figure 5: Structure schématique d'une glande apocrine et eccrine .....	24
Figure 6: Schéma des trois voies de pénétration cutanée : intracellulaire, intercellulaire, et transfolliculaire.....	26
Figure 7: Pénétration transépidermique à travers le modèle «brique et mortier » du <i>stratum corneum</i> .....	27
Figure 8: Diagramme en bâton représentant les rapports d'absorption de l'hydrocortisone en fonction de la localisation (la face antérieure de l'avant-bras étant prise comme référence) ..	29
Figure 9: Schéma représentatif de la cellule de Franz.....	34
Figure 10: Schéma représentatif des différents cas de l'absorption percutanée : perméation, pénétration ou projection.....	35
Figure 11: Modèle de pénétration de SB-M.....	35
Figure 12: Schéma de modèle de pénétration .....	36
Figure 13: Schéma d'intervention chirurgicales pour la préparation de lambeaux de peau de porc perfusés isolés <i>in vitro</i> .....	37
Figure 14: Schéma de l'appareillage de l'IPPSF (Isolated Perfused Porc Skin Flap) .....	38
Figure 15: Schéma du système membranaire implanté dans le derme.....	40
Figure 16: Schéma du placement de la sonde linéaire dans la peau.....	41
Figure 17: Modélisation de la barrière cutanée pour les modèles mécanistiques. ....	45

Figure 18: Simplification de l'anatomie des follicules pileux (a) en un domaine de modélisation 2D (b). Notez que le domaine de modélisation correspond à la zone non ombrée en (a).....	45
Figure 19: Cadre modèle pour la perméation transdermique et la biodisponibilité systémique, y compris les trois voies de passage dans la couche cornée : intercellulaire, transcellulaire et folliculaire. Notez que le cheveu lui-même, illustré comme la zone verticale brune la plus à droite, est supposé imperméable .....	46
Figure 20 : Cellule de Franz menée d'une seringue pour appliquer la formulation topique ....	52
Figure 21: Schéma démonstratif d'une cellule de Franz standard de joint à base plate. ....	52
Figure 22: Emplacement d'une peau dans la cellule de Franz.....	55
Figure 23 : Dermatome .....	57
Figure 24: Cellule de Franz.....	57

## Liste des tableaux

Tableau 1: les principales propriétés physico-chimiques de diclofénac sodique et de diclofenac diéthylamine. ....	49
Tableau 2: Les formulations de Diclofénac sodique et diéthylamine avec leurs renseignements. ....	49
Tableau 3: Spécification d'une CF standard. ....	51
Tableau 4: Epaisseur de la peau, de l'épiderme et de la couche cornée en fonction de l'espèce considérée. ....	58

# Abréviations

## A

**ADME** : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion

**AINS** : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

**AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché

**ANPP** : Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques

**ASC** : Air Sous la Courbe

## B

**BPL** : Bonnes Pratiques de Laboratoire

**BSA**: Bovine serum albumin

## C

**CF** : Cellule de Franz

**CTD** : Common Technical Document

**CYT P450** : Cytochrome P450

## D

**DCI** : Dénomination commune internationale

**DE** : Décision d'Enregistrement

**DL50**: Dose létale 50

**EDETOX** : Evaluation et prédiction de l'absorption cutanée des substances chimiques toxiques

**EI**: Effets indésirables

## F

**FDA**: Food and Drug Administration

## **H**

**HBS:** Solution d'HEPES-Buffered Hank's

**HPLC:** High Performance Liquid Chromatography

**HTS:** High-Throughput Screening (criblage à haut débit)

## **I**

**IA:** Intra-artérielle

**ICH:** International council for Harmonisation

**ID :** Intradermique

**IM :** Intramusculaire

**IMAO :** Inhibiteurs de la monoamine oxydase

**IPPSF:** Isolated Perfused Porc Skin Flap

**IUPAC :** Union internationale de Chimie Pure et Appliquée

**IV :** Intraveineuse

## **J**

**JDE :** Jonction dermo- épidermique

## **K**

**K<sub>o/w</sub> :** Coefficient de partage Octanol / Eau

**K<sub>p</sub> :** coefficient de perméabilité

## **M**

**MD :** Microdialyse

**MM :** Masse molaire

## **N**

**NN :** Nouveau-né

## **V**

## **O**

**Oct** : Octanol

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

## **P**

**PA** : Principe actif

**PBS** : Phosphate Buffered saline

**pH** : Potentiel hydrogène

**PM** : Poids moléculaire

## **Q**

**QSPR** : Quantitative Structure-Permeation Relationship

## **R**

**R & D** : Recherche et développement

**RCP** : Résumé des Caractéristiques du Produit

## **S**

**SB-M**: Saarbrücken's model

**SC**: Stratum Corneum

**S/C** : Sous-cutanée

**SM** : Solution mère

## **T**

**TD** : Tube digestif

## **U**

**UCA** : L'acide urocanique

**UV** : Ultra-violet

**V**

**V<sub>e</sub>** : Volume effectif

**VO** : Voie orale

**VII**

# Glossaire

**Air sous la courbe** : est la surface comprise entre les axes des coordonnées et la courbe des concentrations plasmatiques en fonction du temps.

**Amphiphile** : une molécule amphiphile est une molécule qui possède à la fois un groupe hydrophile et un groupe hydrophobe.

**Autoradiographie** : technique d'imagerie d'émission réalisée à partir d'une source radioactive placée au contact d'une émulsion ou d'un film photographique.

**Biodisponibilité** : est la quantité relative de principe actif absorbé à partir d'une forme pharmaceutique qui atteint la circulation systémique et la vitesse à laquelle elle l'atteint.

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

**Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)** : chromatographie est une technique analytique quantitative et qualitative qui permet la séparation d'un ou de plusieurs composés d'un mélange même très complexe pour leur identification et leur quantification.

**Courbe d'étalonnage** : une courbe d'étalonnage est la relation entre la réponse de l'instrument et les concentrations connues de l'analyte. Une courbe d'étalonnage doit être générée pour chaque analyte dans l'échantillon. Un nombre suffisant de standards doit être utilisé pour définir de façon adéquate la relation entre la concentration et la réponse.

**Cryosectionnement** : est un procédé qui permet de découper des sections extrêmement fines, jusqu'à 20 microns, de tissus congelés pour la microscopie et d'autres applications à l'aide d'un cryomicrotome

**Cycle entéro-hépatique** : Cycle emprunté par certains médicaments à élimination biliaire, excrétés au niveau du cholédoque dans le duodénum où ils sont réabsorbés. Ce phénomène entraîne une « réentrée » du médicament dans la circulation systémique et contribue à prolonger l'exposition de l'organisme à ce médicament.

**Effet de premier passage** : perte de médicament par métabolisme avant son arrivée dans la circulation générale, dès son premier contact avec l'organe responsable de la biotransformation.

**Effets cancérogènes** : toute provocation, aggravation ou sensibilisation de l'apparition d'un cancer

**Effet indésirable** : toute réponse nocive et non voulue à un médicament. Cette définition de l'OMS inclut les dommages considérés comme provoqués par le médicament mais exclut les dommages liés aux médicaments consécutifs à une erreur.

**Effet tératogène** : effet provoqué par certaines substances qui, en cours de grossesse, sont responsables de malformations de l'embryon lors de son développement in-utero.

**Filtration glomérulaire** : C'est un processus d'ultrafiltration du plasma à travers la paroi du capillaire glomérulaire. Le filtrat qui pénètre dans le tubule rénal, très semblable au plasma, est formé de tous les éléments du sang hormis les éléments figurés et les protéines. La filtration glomérulaire est un phénomène passif, non sélectif, laissant traverser les molécules de PM < 68 KD. Seule la fraction libre du médicament non fixée aux protéines plasmatiques sera filtrée.

**Générique** : Le médicament générique est défini comme la copie d'un médicament innovant dont la production et la commercialisation ont été rendues possibles par l'expiration de son brevet de propriété industrielle.

**Génie Génétique** : ensemble des outils et des techniques de la biologie moléculaire permettant, de manière contrôlée, l'étude de la modification des gènes dans un but de recherche fondamentale ou appliquée.

**ICH** : Conseil international d'harmonisation des exigences techniques pour l'enregistrement de produits pharmaceutiques à usage humain (ICH) est une initiative qui réunit les autorités réglementaires et l'industrie pharmaceutique pour discuter des aspects scientifiques et techniques du développement et de l'enregistrement des produits pharmaceutiques.

**Interaction médicamenteuse** : résulte de l'administration concomitante ou successive de deux ou plusieurs médicaments (ou parfois d'autres substances comme certains aliments) chez un même patient et dans laquelle l'une des substances absorbées affecte l'activité thérapeutique d'un ou plusieurs des autres médicaments administrés.

**Médicaments dérivés du sang** : sont des médicaments à base de sang ou de composants de sang préparés industriellement (exemple : les facteurs de coagulation, albumine...).

**Normes BPL** : sont l'ensemble de règles à respecter lors des essais précliniques afin de garantir la qualité et l'intégrité des données obtenues.

**Organisation Mondiale de la Santé** : institution spécialisée, fondée en 1948 au sein de l'organisation des nations unies, et qui a notamment pour objet d'amener tous les peuples au niveau de santé le plus élevé possible.

**Pharmacopée** : est une norme pharmaceutique qui uniformise la composition qualitative et quantitative des médicaments grâce à un recueil de monographies

**Pharmacovigilance** : surveillance des effets secondaires nocifs éventuels d'un médicament.

**Placébo** : est un médicament qui ne contient pas de principe actif. Les placebos n'ont aucun effet médical connu.

**pKa** : Logarithme de la constante d'acidité

**Prodrogue** : est une substance pharmacologique (un médicament) qui est administré sous une forme inactive. Une fois administrée, la prodrogue est métabolisée in vivo en un métabolite actif.

**Screening**: c'est un criblage des molécules par des tests codifiés pour découvrir d'éventuelles propriétés pharmacologiques.

**Solution de Ringer** : un mélange de chlorure de sodium (NaCl), de lactate de sodium, de chlorure de potassium (KCl) et de chlorure de calcium (CaCl<sub>2</sub>) dans l'eau.

**Superfamille de Cyt P450** : sont des hémoprotéines (protéines ayant une molécule d'hème comme cofacteur) qui interviennent dans les réactions d'oxydoréduction d'un grand nombre de molécules. Elles sont principalement exprimées dans les microsomes hépatiques mais aussi dans l'intestin, le rein, le poumon. Les composés qu'ils oxydent deviennent plus polaires et peuvent être ainsi excrétés, en particulier par les reins, dans les urines.

**Test de Draize** : est un protocole d'expérimentation animale et test toxicologique invasif, mis au point en 1944 par John H. Draize et Jacob M. Spines, toxicologues de la FDA. Le test consiste à tester un produit sur la peau d'un animal afin d'évaluer son innocuité dermatologique.

# Introduction générale

La recherche de nouveaux médicaments est un long processus, coûteuse et très risquée, mais potentiellement très gratifiante (**Kwang-Jin, 2011**). Les modèles traditionnels de découverte et de développement sont en cours de changement, car de nombreuses sociétés pharmaceutiques règnent dans les coûts de la recherche et de développement (R & D), en consolidant les sites de recherche, en réduisant le personnel de recherche, en s'engageant dans des collaborations extérieures et en externalisant (**Chast, 1999**).

La sélection de molécules de médicaments à partir d'une abondance de candidats potentiels est une stratégie clé et décision risquée que l'industrie doit prendre régulièrement (**Lüllmann et al, 2001**). L'industrie a commencé à réagir en essayant d'éliminer des molécules ayant de mauvaises propriétés ADME lors de la découverte, avant qu'elles n'atteignent le développement. On estime qu'environ 33 % des molécules atteignant la phase préclinique sont finalement rejetées en raison de problèmes liés à l'ADME (**Chast, 1999**).

Dans la dernière décennie, l'absorption des médicaments continue d'être un problème important dans la R&D pharmaceutiques modernes. La compréhension des processus d'absorption percutanée est nécessaire pour plusieurs raisons, telles que l'évaluation des aspects de sécurité des médicaments topiques cutanés et l'étude de la possibilité du passage des médicaments à travers la peau et à la circulation systémique (**Kwang-Jin, 2011**). En revanche la fonction barrière de la peau et notamment de sa couche la plus externe, le *stratum corneum*, fait de l'administration par voie cutanée un véritable challenge relevé par la connaissance approfondie de la structure de la peau et ses couches constitutives, l'évaluation de la pénétration cutanée par différentes méthodes et la large gamme de stratégies et modes d'administration actuellement proposés (**Bolzinger, 2012**) (**Jepps et al, 2012**) (**Kis et al, 2012**) (**Van der Maaden et al, 2012**)

Notre travail s'inscrit dans cette logique, il comprend une partie bibliographique et une partie expérimentale, dont la première partie aborde les bases fondamentales de l'absorption percutanée organisées en trois (3) chapitres ; généralités et développement du médicament, anatomie et physiologie de la peau et nous terminons par les différentes méthodes d'étude de l'absorption percutanée des médicaments. Dans la partie pratique nous établissons un protocole d'étude de l'absorption percutanée de gels de diclofénac sodique et diclofénac diéthylamine

avec l'une des techniques classiques les plus utilisées : étude de perméation par la cellule de Franz. Nous finissons par une discussion de la place et l'apport de cette technique.

**Partie**

**bibliographique**

# **Chapitre I:**

## **Généralités et développement des médicaments**

## 1. Généralité sur les médicaments

### 1.1 Histoire du médicament

De mémoire d'homme, on a toujours cherché à soulager les maux de l'homme ou des animaux. La connaissance des vertus curatives de certaines plantes ou de certains minéraux était déjà inscrite dès l'antiquité dans les traités de botanique. Claude Galien (129-200) cherche le premier à déterminer les bases théoriques de l'utilisation des médicaments. A part égale avec la pratique, la théorie qui permet d'interpréter les observations et les résultats expérimentaux doit conduire à une utilisation rationnelle des médicaments. Les empiristes disent que tout sera trouvé par l'expérience. Cependant, nous pensons que les découvertes résultent en partie de la théorie. En effet, ni l'expérience seule, ni la théorie seule ne permettent d'aboutir.

Théophraste von Hohenheini, surnommé Paracelse (1493-1541), commença à remettre en question les enseignements transmis depuis l'Antiquité. A partir de la connaissance des substances actives il créa un système de prescription, s'opposant ainsi aux absurdes mélanges de la médecine du Moyen Age. En raison du succès de ses ordonnances, il fut même accusé d'empoisonnement et se défendit par une phrase devenue un axiome en pharmacologie : « Si vous vouliez expliquer de façon précise l'action de chaque poison, il faut alors se demander ce qui n'est pas un poison ? Toute substance est un poison et aucune n'est inoffensive. C'est simplement la dose qui fait qu'une substance n'est pas toxique » (**Lüllmann et al, 2001**).

Avec la découverte du nouveau monde, les explorateurs rapporteront des grands principes actifs (PA) comme le quinquina, l'ipéca, le coca, le café etc. Grâce aux progrès de la chimie et de la physiologie le XIX e siècle marque une étape nouvelle avec l'isolement des PA: de l'opium, on isole la morphine puis la codéine, de l'ipécacuana on extrait l'émétine, du quinquina, la quinine. La colchicine supplante la colchique et l'acide acétylsalicylique, l'écorce de saule. On dispose alors de la papavérine extrait du pavot, de la digitaline de la digitale et de l'ergotamine de l'ergot de seigle. L'aspirine sera synthétisée en 1897 par Hoffman. Apparaîtront au début du XX e siècle la novocaïne en 1901, les antisiphilitiques en 1906 et les antipaludéens de synthèse en 1927. Mais l'ère moderne débute avec la découverte en 1937 de l'action antibactérienne des sulfamides. 1943 est l'année de la découverte par Fleming de la pénicilline et 1947 de la streptomycine. On assiste alors à un emballement des découvertes : les antihistaminiques de synthèse en 1942, les anticoagulants coumariniques en 1947, la cortisone en 1949, l'isoniazide et les neuroleptiques en 1952, les IMAO, la chlorothiazide et les antidépresseurs imipraminiques en 1957. Ces découvertes sont souvent le fruit du hasard. À partir des années soixante, après la découverte de l'effet tératogène de la thalidomide (1957), les pharmacologues mettent au point des méthodes d'évaluation préclinique moléculaire à partir de méthode de sélection qu'on appelle « screening ». Cette méthode va permettre d'élaborer de nouveaux médicaments à partir de modèles de médicaments existants. Durant les deux décennies qui suivent seules quelques classes ont enrichi les possibilités thérapeutiques comme les bêta-bloquants, les antihistaminiques H2.

Les années quatre-vingt-dix sont des années du génie génétique, du génie cellulaire et de la thérapie génique (**Chast, 1999**).

## **1.2 Définition**

D'après les articles 208 et 209 de la loi n° 18-11 du 18 Chaoual 1439 correspondant au 2 juillet 2018 relative à la santé :

« Le médicament est toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, et tous produits pouvant être administrés à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, de corriger et de modifier ses fonctions physiologiques. Sont considérés également comme médicaments, notamment : les produits diététiques qui renferment des substances non alimentaires leur conférant des propriétés utiles à la santé humaine, les produits stables dérivés du sang, les concentrés d'hémodialyse ou solutés de dialyse péritonéale et les gaz médicaux. Sont assimilés à des médicaments, notamment : les produits d'hygiène corporelle et produits cosmétiques contenant des substances vénéneuses à des doses et concentrations supérieures à celles fixées par voie réglementaire » (**Loi sanitaire, 2018**).

## **1.3 Classification**

On peut définir des classes de médicaments de différentes manières : classes selon leurs origines, classes chimiques, classes pharmacologiques selon leurs actions sur l'organisme, classes thérapeutiques selon les pathologies traitées.

### **1.3.1 Classification selon l'origine**

#### **1.3.1.1 Médicaments d'origine naturelle**

On distingue : les médicaments d'origine minérale, les médicaments d'origine animale et les médicaments d'origine végétale, cette dernière classe a été longtemps très importante, tant que les médicaments d'origine végétale ont dominé la pharmacopée.

#### **1.3.1.2 Médicaments d'origine chimique**

C'est la plupart des médicaments utilisés actuellement. Les médicaments d'origine chimique sont soit des composés de synthèse à partir de principes de chimie minérale, soit des composés de semi-synthèse c'est-à-dire des dérivés obtenus par synthèse chimique à partir de substances naturelles extraites de végétaux, de fermentation ou de tout autre procédé (**Dangoumau et al, 2006**).

### **1.3.1.3 Médicaments biotechnologiques**

On entend par médicament d'origine biotechnologique, tout médicament dont la substance active est produite à partir d'une source biologique ou en est extraite et dont la caractérisation et la détermination de la qualité nécessitent une combinaison d'essais physiques, chimiques et biologiques ainsi que la connaissance de son procédé de fabrication et de son contrôle. Beaucoup plus lourdes que les molécules chimiques (de l'ordre de plusieurs centaines de fois), il n'est pas possible de reproduire par voie de synthèse les séquences polypeptidiques de plusieurs centaines d'acides aminés qui les composent. Ces structures glucidiques sont souvent nécessaires à son activité biologique. C'est pourquoi les protéines thérapeutiques sont souvent produites par la voie de l'ADN recombinant en utilisant un micro-organisme comme outil de synthèse.

Les biomédicaments représentent une part sans cesse croissante des nouvelles voies thérapeutiques, le marché des biomédicaments suit une évolution exponentielle Ceci peut être illustré par le fait que les deux médicaments les plus vendus dans le monde en 2017 sont d'origine biologique (**Ezzarad et al, 2018**).

### **1.3.2 Classification chimique**

La classification par séries chimiques est évidemment pertinente pour le chimiste et le pharmacien. C'est dans ce cadre que se placent les études structure – activité. Elle est utile au chercheur et à la découverte de nouveaux PA.

### **1.3.3 Classification pharmacologique**

La classification pharmacologique est une classification par effet pharmacologique, donc par cibles et par mécanismes d'action.

### **1.3.4 Classification thérapeutique**

La classification thérapeutique consiste à lister les médicaments par les pathologies qu'ils traitent.

### **1.3.5 Classification pharmaco-thérapeutique**

Pour le médecin, la classification usuelle doit être pragmatique. Elle doit être applicable dans la pratique médicale, mais dans une pratique intelligente. De ce fait la classification utilisée couramment est hybride. La plupart des classes sont définies à la fois par les effets pharmacologiques et thérapeutiques des médicaments ; ce sont les classes pharmaco-thérapeutiques (**Dangoumau et al, 2006**).

## **1.4 Composition**

Un médicament tel qu'il est présenté au malade est constitué par un ou plusieurs PA, des substances auxiliaires ou excipients et des articles de conditionnement (**Le Hir et al, 2009**).

### **1.4.1 Principe actif**

Le PA est tout composant destiné à exercer une action pharmacologique ou un autre effet direct en rapport avec le traitement, le diagnostic ou la prophylaxie d'une maladie. Un médicament peut contenir un ou plusieurs principes actifs (**González, 2008**).

### **1.4.2 Excipients**

Tout composant, autre que le PA qui est présent dans un médicament ou utilisé pour sa fabrication. La fonction d'un excipient est de servir de vecteur (véhicule ou base) au PA, ou d'entrer dans la composition du vecteur, contribuant ainsi à certaines propriétés du produit telles que la stabilité, le profil biopharmaceutique, l'aspect et l'acceptabilité pour le patient et la facilité de fabrication. La formulation d'un médicament comprend généralement plusieurs excipients. La propriété commune à tous les excipients est l'inertie vis-à-vis du principe actif, du matériau de conditionnement et de l'organisme. En fait, la neutralité absolue vis-à-vis de l'organisme n'existe pas toujours et ils peuvent parfois provoquer des réactions au sein de l'organisme, on appelle ce type d'excipients « excipients à effet notoire », ce sont des substances dont la présence peut être nocive pour certains malades et qui doivent être particulièrement signalées (**Le Hir et al, 2009**).

### **1.4.3 Articles de conditionnement**

Le conditionnement ou l'emballage d'un médicament se compose de différents éléments dont les principaux rôles sont le rôle protecteur, le rôle fonctionnel et le rôle d'identification et d'information. Les propriétés essentielles demandées à un matériau de conditionnement sont la résistance physique suffisante tout en étant aussi léger et aussi peu encombrant que possible, l'imperméabilité aux constituants du médicament, l'isolation du médicament des facteurs extérieurs qui pourraient nuire à sa conservation (air, humidité, lumière), l'inertie vis-à-vis du contenu et l'innocuité absolue (**Le Hir et al, 2009**).

## **1.5 Dénomination**

Les PA sont désignés par une appellation abrégée en un mot, la dénomination commune. Celle-ci rappelle de plus ou moins loin la formule chimique, qui serait évidemment inutilisable en langage courant et surtout comporte un suffixe commun pour les produits apparentés. Elle est officialisée par l'organisation mondiale de la santé (OMS), d'où le nom de dénomination commune internationale (DCI) (**Dangoumau et al, 2006**).

Le système DCI tel qu'il existe aujourd'hui a été créé en 1950 et a commencé à fonctionner en 1953, lorsque la première liste des DCI pour les substances pharmaceutiques a

été publiée. La liste des DCI compte désormais près de 7000 noms choisis depuis cette date et quelque 120 à 150 nouvelles DCI viennent la compléter chaque année (OMS, 2020).

## **1.6 Voies d'administration**

Le choix de la voie d'administration dépend du médicament d'une part, c'est-à-dire de l'existence de préparations appropriées à l'utilisation et de l'état du malade d'autre part, si on recherche un effet général le médicament est administré par voie orale, toutefois l'urgence ou l'impossibilité de prise par VO font utiliser la voie parentérale, si on veut obtenir un effet local, on utilise des préparations spéciales comme les collyres, mais la diffusion systémique est toujours possible après administration locale.

### **1.6.1 Voie parentérale**

Pour qu'un produit puisse être injecté par voie parentérale, il faut qu'il soit stérile et peu irritant. L'injection nécessite une seringue et une aiguille ou un dispositif d'administration déjà mis en place.

#### **1.6.1.1 Voie intradermique (ID)**

Elle est surtout utilisée pour les intradermoréactions. Le terme de mésothérapie désigne une technique qui consiste à administrer un médicament en injections ID multiples.

#### **1.6.1.2 Voie sous-cutanée (S/C)**

Le volume de liquide injecté est limité et la vitesse de résorption est variable, dépendant des facteurs locaux.

#### **1.6.1.3 Voie intramusculaire (IM)**

La vitesse de résorption est rapide et il est possible d'injecter des solutions aqueuses ou huileuses. Il existe des préparations « retard » qui libèrent progressivement en une ou plusieurs semaines le produit actif à partir du point d'injection. L'injection IM ne doit pas être faite dans un vaisseau ni au contact d'un nerf. Elle est contre-indiquée si le malade est sous traitement anticoagulant.

#### **1.6.1.4 Voie intraveineuse (IV)**

Il y a deux possibilités : injection directe à la seringue ou administration par perfusion. La biodisponibilité est par définition de 100%; il faut toutefois être attentif à la vitesse d'administration car elle ne doit être ni trop rapide, ce qui peut être le cas lors d'administration directe à la seringue car on risque de provoquer des réactions parfois graves, ni trop lente, ce qui peut s'observer au cours de certaines perfusions, car si la vitesse d'élimination est grande, on n'atteint pas la concentration thérapeutique efficace. Les solutions huileuses ne doivent pas

être administrées par voie IV. Il existe un dispositif d'administration IV, dit chambre à cathéter implantable qui est mis en place chirurgicalement et utilisé aux longs cours.

#### **1.6.1.5 Voie intra-artérielle (IA)**

Elle est peu utilisée.

#### **1.6.1.6 Voies d'injections locales particulières**

Elles sont utilisées pour introduire localement un médicament à visée diagnostique, par exemple des produits de contraste destinés à l'exploration radiologique, ou à visée thérapeutique, antalgique ou antibiotique. Elles sont : la voie intrarachidienne, la voie intra-articulaire, la voie intrapleurale et la voie intrapéritonéale.

#### **1.6.2 Voie entérale ou VO**

Le tube digestif (TD) va de la bouche au rectum. Les membranes que le médicament doit franchir sont l'épithélium digestif et l'endothélium vasculaire.

La VO peut être utilisée pour un traitement local ou général : le traitement local pour obtenir un effet limité au TD lui-même comme le traitement d'une infection intestinale ou d'une parasitose, dans ce cas on souhaite, en général, que le médicament ne soit pas absorbé ou seulement très peu absorbé, le traitement général est la voie habituelle d'administration des médicaments et l'absorption digestive est suivie de leur diffusion dans l'organisme. La VO n'est pas utilisable si le traitement général est dégradé dans le TD (pH, flore microbienne ou enzymes) ou n'est pas absorbé ou encore si le malade vomit.

L'absorption digestive peut se faire à tous les niveaux du tube : la bouche, l'estomac, l'intestin ou le rectum.

#### **1.6.3 Voie pulmonaire**

C'est une voie d'absorption et d'élimination rapide car elle évite l'effet de premier passage hépatique, la voie pulmonaire est utilisée à visée locale bronchique mais avec possibilité d'absorption partielle et d'effets généraux, ou bien à visée générale.

#### **1.6.4 Voie nasale**

Elle est utilisée généralement à visée locale mais avec possibilité d'absorption et d'effets généraux.

#### **1.6.5 Voie cutanée ou transdermique**

La perméabilité de la peau à un médicament dépend du médicament lui-même, en particulier de sa liposolubilité et du véhicule. Elle varie en fonctions de plusieurs paramètres : la région, la température et la circulation cutanée, l'état de la peau et l'âge.

La voie cutanée est utilisée pour des traitements locaux qui peuvent parfois être absorbés, diffuser dans l'ensemble de l'organisme et être à l'origine d'effets généraux.

La voie cutanée est utilisée comme moyen d'introduction des médicaments dans l'organisme, notamment lorsque on veut éviter un premier passage hépatique est appelée voie transdermique.

### **1.6.6 Voies des muqueuses**

Ces voies sont utilisées pour des traitements à visée locale mais une diffusion dans l'organisme est toujours possible. Ce sont la voie oculaire, la voie auriculaire et la voie vaginale (Allain, 1996).

## **2. Développement du médicament**

De la découverte de la molécule à l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) par les autorités publiques, un médicament passe par un processus complexe comprend diverses phases (Chéry-Cros, 2020).

### **2.1 Recherche fondamentale**

Elle s'acharne d'abord à comprendre les mécanismes de la maladie afin de déterminer la cible que le médicament devra atteindre (le plus souvent un récepteur dont on veut modifier l'activité). Puis le criblage à haut débit (High-throughput, screening, HTS) : de très nombreuses molécules (plusieurs milliers) sont testées afin de ne retenir que celles éventuellement efficaces (généralement une centaine) (Chéry-Croise , 2020).

### **2.2 Essais précliniques**

La recherche sur les animaux est actuellement nécessaire avant qu'une autorisation réglementaire ne soit accordée pour tester un nouveau médicament chez l'homme.

Une fois sélectionné, le médicament candidat passe au développement préclinique. Bien que le but ultime soit la thérapie pharmacologique humaine, il est essentiel de comprendre la sécurité et l'efficacité des médicaments non cliniques pour pouvoir ensuite procéder à des essais éthiques et rationnels sur l'homme. Le terme "efficacité" est utilisé dans le développement de médicaments pour désigner l'effet thérapeutique (biologique) souhaité du médicament candidat. La recherche non clinique comprend des essais *in vivo* et *in vitro* et permet de recueillir des informations essentielles sur les effets thérapeutiques des médicaments, la dose, la fréquence et la voie d'administration (Turner, 2007).

Il existe deux raisons principales pour mener des études précliniques *in vitro* et *in vivo*:

- Caractériser le médicament et étudier son utilité dans des modèles de cibles thérapeutiques possibles.

- Satisfaire aux exigences réglementaires permettant de faire progresser le développement clinique du médicament (**Chorghade, 2007**).

Trois domaines d'étude sont considérés ici : la pharmacocinétique, la pharmacologie et la toxicologie (**Turner, 2007**).

### **2.2.1 Étude pharmacocinétique**

La compréhension et la caractérisation des propriétés d'absorption, de métabolisme, de distribution et d'excrétion (ADME) de nouvelles entités chimiques et de nouveaux candidats médicaments font partie intégrante de la conception et du développement des médicaments. L'ADME est la discipline qui intervient dans l'ensemble du processus de développement des médicaments, depuis la découverte, l'optimisation des produits et la sélection des médicaments candidats cliniques jusqu'au développement des médicaments et au processus réglementaire (**Zhang et Surapaneni, 2012**).

#### **2.2.1.1 Absorption**

Lorsqu'un composé est administré par voie IV, la dose est délivrée directement dans la circulation systémique. Après une administration par les autres voies, le médicament doit être absorbé dans la circulation sanguine à travers une ou plusieurs barrières membranaires avant d'être disponible pour être distribué sur son site d'action. Le médicament peut traverser ces membranes par diffusion passive, facilitée ou transport actif. L'absorption est déterminée par les propriétés physicochimiques du médicament, le type de formulation administrée et la voie d'administration (**Chao Han et al, 2010**).

L'épiderme humain (en particulier la couche cornée) est une barrière de perméabilité efficace contre la perte d'eau et le transfert de composés hydrosolubles. Bien que les médicaments liposolubles soient capables de franchir cette barrière, le taux et l'étendue de l'entrée sont très limités. Par conséquent, cette voie n'est efficace que pour l'utilisation de médicaments puissants et non irritants, ou pour produire un effet local.

L'absorption lente et continue par voie cutanée (par exemple, par des patchs adhésifs) peut être utilisée pour produire des concentrations sanguines faibles mais relativement constantes de certains médicaments (**Waller et Sampson, 2018**).

#### **2.2.1.2 Distribution**

La distribution concerne le transfert du composé médicamenteux du site d'administration à la circulation systémique, puis aux tissus corporels. Les études *in vivo* et *in vitro* sont ici instructives. Les études *in vitro*, par exemple, examinent la liaison aux protéines plasmatiques. Les études *in vivo* utilisent l'autoradiographie du corps entier qui peut montrer visuellement la quantité de médicament qui a atteint différentes parties du corps (**Turner, 2007**).

### 2.2.1.3 Métabolisme

La plupart des médicaments subissent une certaine biotransformation de la drogue mère vers le métabolite. Ce métabolisme peut prendre la forme d'un métabolisme de phase I, qui est le plus souvent facilité par les enzymes de la superfamille des cytochromes P450 et qui se traduit par des métabolites oxydés ou réduits. L'autre grande catégorie de métabolisme des médicaments est le métabolisme de phase II, qui ajoute généralement un groupe moléculaire ou une molécule de taille importante à la structure de la molécule mère par conjugaison (**Chao et al, 2010**).

### 2.2.1.4 Excrétion

Les mécanismes physiologiques les plus courants de l'excrétion des médicaments sont assurés par les reins, via les processus de filtration glomérulaire et de sécrétion tubulaire, et par le foie via la sécrétion biliaire. D'autres voies d'élimination de la drogue sont possibles (par exemple, la sueur, les larmes, le lait maternel, la salive et même les cheveux), mais ces voies sont, d'un point de vue pratique, relativement peu importantes pour le bilan de masse.

L'excrétion concerne l'élimination du composé médicamenteux de l'organisme. Le composé médicamenteux d'origine et ses métabolites peuvent tous deux être excrétés. Le principal mode d'investigation ici est l'étude de l'équilibre de l'excrétion. Le composé médicamenteux radiomarqué est administré et la radioactivité est ensuite mesurée à partir des sites d'excrétion (par exemple, urine, fèces, air expiré). Ces études fournissent des informations sur les organes impliqués dans l'excrétion et sur la durée de l'excrétion (**Chao et al, 2010**).

L'extrapolation des données pharmacocinétiques de l'animal à l'homme est limitée et doit être effectuée avec précaution, en gardant à l'esprit les hypothèses nécessaires à cette extrapolation. Il est important de choisir un modèle *in vitro* ou animal approprié qui soit pertinent pour l'homme. L'extrapolation de données animales à l'homme a peu de chances de réussir dans les cas où la pharmacocinétique est dépendante de l'espèce, lorsque des processus actifs sont impliqués, lorsque l'action du médicament (effets bénéfiques ou indésirables) est due à un mécanisme mal compris, ou lorsque des mécanismes de tolérance ou d'induction enzymatique dépendants de l'espèce sont présents (**Schoenwald, 2002**).

## 2.2.2 Étude pharmacologique

La pharmacologie est la discipline scientifique qui se spécialise dans les mécanismes d'action, les utilisations et les effets indésirables des drogues. Les études de pharmacologie se divisent en deux catégories :

### 2.2.2.1 Études de pharmacologie de la recherche

Les études pharmacologiques de recherche sont menées au début d'un programme de développement de médicaments et elles n'ont pas besoin d'être effectuées selon les normes des bonnes pratiques de laboratoire (BPL).

Les trois régions de l' International Conference on Harmonisation (ICH) (l'Europe, le Japon et les États-Unis) classent les actions pharmacologiques d'un médicament en primaire et secondaire. Les actions primaires sont liées à l'utilisation thérapeutique proposée, tandis que les actions secondaires ne sont pas liées (Turner, 2007).

#### **2.2.2.1.1 Études pharmacologiques de recherche primaires**

Les études de pharmacologie primaire se concentrent sur le mécanisme d'action du composé médicamenteux et peuvent être menées *in vitro* et/ou *in vivo*. Les études menées *in vitro* peuvent inclure des études de liaison aux radio-ligands et se concentrent sur l'action du médicament sur des sites récepteurs spécifiques dans des préparations de tissus ou dans des lignées cellulaires génétiquement modifiées. Les études menées *in vivo* examinent l'action pharmacologique potentielle du médicament dans des modèles animaux en fonction de son utilisation thérapeutique prévue.

L'objectif des études pharmacologiques primaires est de démontrer que le composé médicamenteux a une activité pharmacologique (biologique) liée à son utilisation thérapeutique proposée. La compréhension du mécanisme d'action d'un médicament est bénéfique à plusieurs égards. Elle est utile pour prévoir les problèmes de sécurité potentiels et aussi pour prévoir les interactions potentielles avec d'autres médicaments qui peuvent être pris en même temps par les patients à l'avenir. Elle peut également fournir des indices permettant de comprendre les effets indésirables et d'expliquer les résultats des études toxicologiques (Turner, 2007).

#### **2.2.2.1.2 Études pharmacologiques de recherche secondaires**

Les études pharmacologiques secondaires se concentrent sur l'activité pharmacologique globale du composé médicamenteux, activité qui peut se produire sans être directement liée à l'utilisation thérapeutique proposée du médicament. Ces études peuvent également être menées *in vitro* et / ou *in vivo*. Les études menées *in vitro* portent notamment sur la liaison probable de la molécule de médicament avec des récepteurs non ciblés. Les études menées *in vivo* examinent l'action pharmacologique générale du médicament dans des modèles animaux.

Outre l'usage thérapeutique auquel il est destiné, un médicament peut avoir d'autres effets qui peuvent se classer dans plusieurs catégories. Certains d'entre eux peuvent être réellement bénéfiques, tandis que d'autres provoquent des effets indésirables (EI) (Turner, 2007).

#### **2.2.2.2 Études pharmacologiques de sécurité**

La pharmacologie de sécurité est un élément réglementaire incontournable dans le développement préclinique des médicaments. Avant les études cliniques de phase I, les effets du candidat médicament sur les fonctions vitales (systèmes cardiovasculaire, respiratoire et nerveux central) doivent d'abord être étudiés et caractérisés chez l'animal en respectant les BPL.

Les objectifs des études de pharmacologie de sécurité sont les suivants :

- Identifier les effets pharmacodynamiques indésirables affectant la sécurité d'emploi du candidat médicament.
- Evaluer les effets pharmacodynamiques indésirables d'un candidat médicament dans les études de toxicologie ou dans les essais cliniques.
- Etudier le mécanisme des effets pharmacodynamiques indésirables observés (**Guillon, 2010**).

### **2.2.3 Étude toxicologique**

La toxicité aiguë recherche la dose qui tue, en administration unique, 50 % des animaux : elle est appelée dose létale 50 ou DL 50. Son intérêt est limité.

La toxicité chronique recherche les effets nocifs chez l'animal après administration répétée du médicament, à différentes doses, pendant 3 mois minimum jusqu'à plusieurs années. Cette étude doit se faire sur au moins deux espèces animales (rongeurs et non rongeurs). La surveillance est clinique, biologique et, à terme, anatomique (étude systématique de tous les organes après sacrifice des animaux). On recherche aussi les effets tératogènes, les effets mutagènes, les effets cancérogènes (**Guillon, 2010**).

## **2.3 Essais cliniques**

Ce n'est qu'après les multiples étapes du développement préclinique que les premiers essais thérapeutiques sur l'homme peuvent être réalisés. On parle alors de développement clinique.

Les essais cliniques sont une étape obligatoire et systématique du développement d'un médicament.

Ils permettent de préciser l'effet d'un traitement chez l'homme, d'en déterminer l'efficacité ainsi que les éventuels EI (**Novartis Belgium, 2020**).

On distingue 4 phases dans les essais cliniques :

### **Phase I**

Lors de la phase 1, les essais sont, généralement, réalisés chez le volontaire sain. Ces essais ont lieu dans des centres spécialisés qui ont reçu un agrément de la part des autorités de santé.

Ces études ont deux objectifs majeurs :

Premièrement, il s'agit de s'assurer que les résultats concernant la toxicité obtenue lors du développement préclinique, sont comparables à ceux obtenus chez l'homme. Cela permet de déterminer la dose maximale tolérée chez l'homme.

Deuxièmement, il s'agit de mesurer, via des études de pharmacocinétique, le devenir du médicament au sein de l'organisme en fonction de son mode d'administration ADME (**Novartis Belgium, 2020**).

## **Phase II**

Les essais de phase II ont pour objectif de déterminer la posologie optimale du produit en termes d'efficacité et de tolérance sur une population limitée et homogène de patients (quelques centaines).

Les interactions médicamenteuses ainsi que la pharmacocinétique font parfois l'objet d'études dès cette phase (**Novartis Belgium, 2020**).

## **Phase III**

Ces essais, de plus grande envergure, sont conduits sur plusieurs milliers de patients représentatifs de la population de malades à laquelle le traitement est destiné.

Il s'agit d'essais comparatifs au cours desquels le médicament en développement est comparé à un traitement efficace déjà commercialisé ou, dans certains cas, à un placebo.

Cette comparaison se fait, le plus souvent, en double aveugle et avec tirage au sort, c'est-à-dire que les traitements sont attribués de manière aléatoire sans que le patient et le médecin chargé du suivi soient informés de quelle attribution ils ont fait l'objet.

Ces essais visent à démontrer l'intérêt thérapeutique du médicament et à en évaluer son rapport bénéfice/risque.

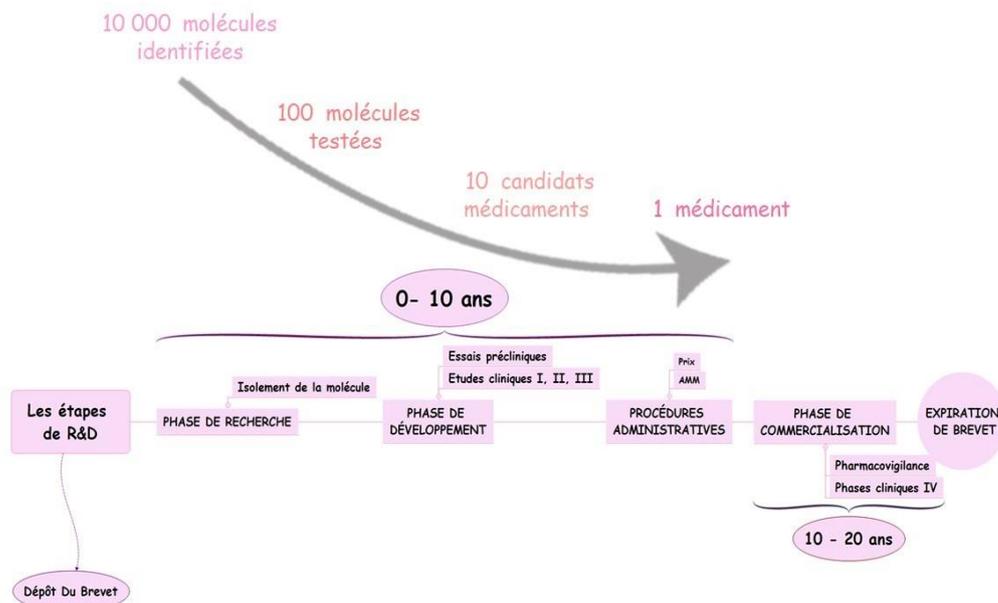
La phase 3 aboutit à la présentation du dossier d'autorisation de mise sur le marché (AMM). Si elle est accordée, cette AMM comportera la définition des conditions d'utilisation du médicament rassemblées dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP), la notice d'information aux patients et les conditions d'étiquetage des boîtes de médicaments (**Novartis Belgium, 2020**).

## **Phase IV**

Les essais de phase IV sont réalisés une fois le médicament commercialisé, sur un nombre de patients souvent très important (jusqu'à plusieurs dizaines de milliers de personnes).

Ils permettent d'approfondir la connaissance du médicament dans les conditions réelles d'utilisation et d'évaluer à grande échelle sa tolérance.

La pharmacovigilance permet ainsi de détecter des EI très rares qui n'ont pu être mis en évidence lors des autres phases d'essai (**Novartis Belgium, 2020**).

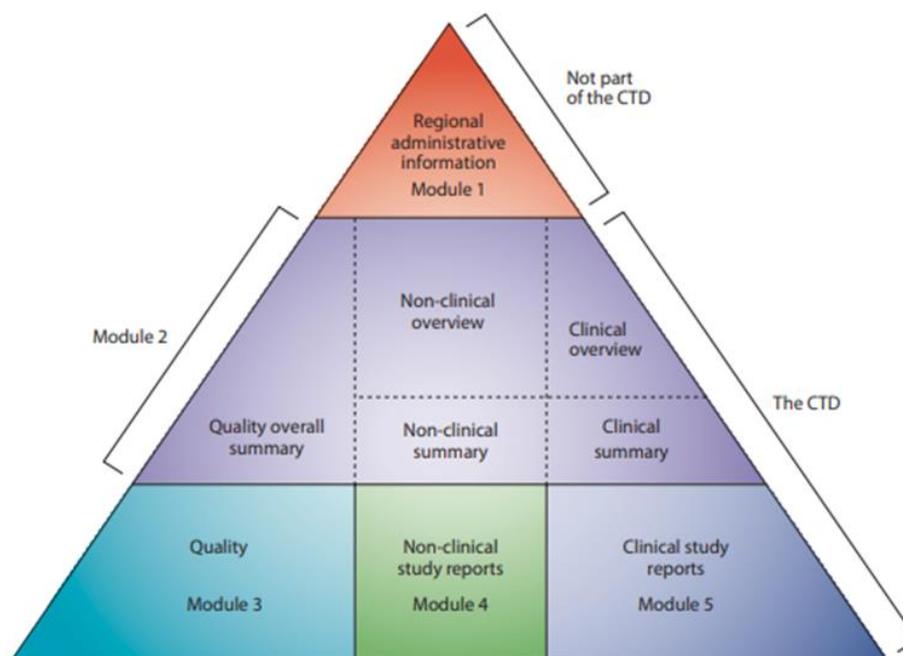


**Figure 1:** Schéma représentatif des étapes de développement d'un médicament (**original**)

## 2.4 Autorisation de mise sur le marché (AMM) : feu vert pour la commercialisation

Un laboratoire qui souhaite commercialiser un médicament doit déposer une AMM auprès d'une agence du médicament. Elle repose sur un dossier d'évaluation établi à partir des données de développement pharmaceutique, précliniques et cliniques issues des précédentes phases de développement (**Bégaud et al, 2014**), il s'agit de dossier CTD (Common Technical Document), organisé en cinq modules; le module 1 est spécifique à chaque région et les modules 2, 3, 4 et 5 sont destinés à être communs à toutes les régions.

- Module 1 contient des informations administratives et de prescription, il devrait contenir des documents spécifiques à chaque région; par exemple, les formulaires de demande ou l'étiquette proposée pour l'utilisation dans la région. Le contenu et le format de ce module peuvent être spécifiés par les autorités réglementaires compétentes.
- Module 2 regroupe des résumés des documents techniques communs (résumés des modules 3, 4 et 5).
- Module 3 contient les informations sur la qualité.
- Module 4 regroupe les rapports d'études précliniques.
- Module 5 contient les rapports d'études cliniques (**ICH, 2004**).



**Figure 2 :** Triangle CTD (Common Technical Document organisé en cinq modules) le module 1 est spécifique de la région et les modules 2, 3,4 et 5 sont destinés à être communs à toutes les régions (ICH, 2019).

Le dossier d'AMM comporte plusieurs parties dont la structure est harmonisée au niveau international pour faciliter la compilation des données et leur évaluation par les autorités :

Une partie qualité renseigne sur la fabrication industrielle du médicament : la production des matières premières, du produit fini et les procédures de contrôle garantissant une parfaite reproductibilité du procédé de fabrication.

Une partie sécurité compile les données de pharmacologie, toxicologie et pharmacocinétique issues des essais précliniques et cliniques.

Une partie efficacité correspond à l'ensemble des résultats des essais menés chez l'homme qui permettent de définir les conditions exactes d'utilisation du médicament et d'établir son rapport bénéfice/risque.

Il faut compter minimum un an entre le dépôt du dossier et l'obtention de l'AMM.

Les données administratives du dossier d'AMM tombent quant à elles dans le domaine public 8 à 10 ans après l'obtention de l'AMM : cela permet à des laboratoires de génériques de préparer leur copie en vue d'une commercialisation ultérieure, dès la chute du brevet du princeps.

Le médicament générique est une copie du médicament princeps, mais pas nécessairement une copie stricte. Il doit :

- Avoir la même composition qualitative et quantitative en PA.
- Avoir la même forme pharmaceutique que la spécialité de référence (gélule, comprimé, sirop...).
- Démontrer la bioéquivalence avec cette dernière, c'est à dire la même biodisponibilité (vitesse et quantité de principe actif libéré dans l'organisme).

Aucune obligation juridique ou technique n'exige une identité de la composition en excipients entre la spécialité générique et la spécialité de référence (**Bégaud et al, 2014**).

## **2.5 Procédure d'enregistrement en Algérie: décision d'enregistrement (DE)**

Selon l'article 230 de la Loi n° 18 – 11 du 18 Chaoual 1439 correspondant au 2 Juillet 2018 relative à la santé :

« Tout produit pharmaceutique et dispositif médical prêt à l'emploi fabriqué industriellement, importé ou exporté doit faire l'objet, avant sa mise sur le marché, d'une décision d'enregistrement ... ».

La DE est fournie par l'agence nationale des produits pharmaceutiques ANPP, après l'évaluation des dossiers scientifiques et techniques déposés par le fabricant, pour une durée de validité de cinq (5) ans, renouvelable par période quinquennale (**Décret, 1992**) (**Loi de santé algérienne, 2018**).

# **Chapitre II:**

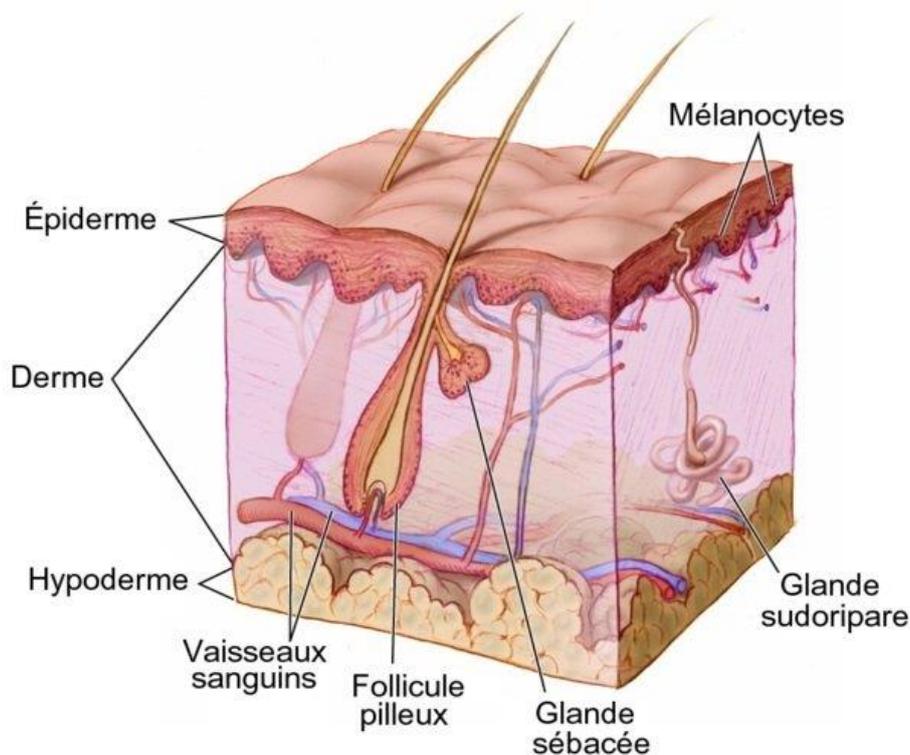
## **Anatomie et physiologie de la peau**

## 2.1 Anatomie de la peau

La peau, appelée aussi tégument (du latin tegumentum, couverture), est l'organe le plus lourd, le plus grand et le plus étendu de l'organisme, pesant 4 kg et représentant environ 15 % du poids total du corps adulte et une surface de 2m<sup>2</sup>. L'épaisseur de la peau est de 2 mm en moyenne, mais elle varie de 1 mm au niveau des paupières (peau fine) à 4 mm au niveau des paumes et des plantes (peau épaisse) (Mélissopoulos, 2012) (Kanitakis, 2002).

Elle remplit de nombreuses fonctions vitales, notamment la protection contre les agressions physiques, chimiques et biologiques extérieures, ainsi que la prévention de la perte excessive d'eau du corps et un rôle dans la thermorégulation (Kanitakis, 2002).

La peau est constituée de plusieurs couches qui diffèrent par leur composition et structure. Ils sont de la plus profonde à la surface de la peau: l'hypoderme, le derme et l'épiderme.



**Figure 3:** Schéma de la structure de la peau (WordPress 2020).

### 2.1.1 Epiderme

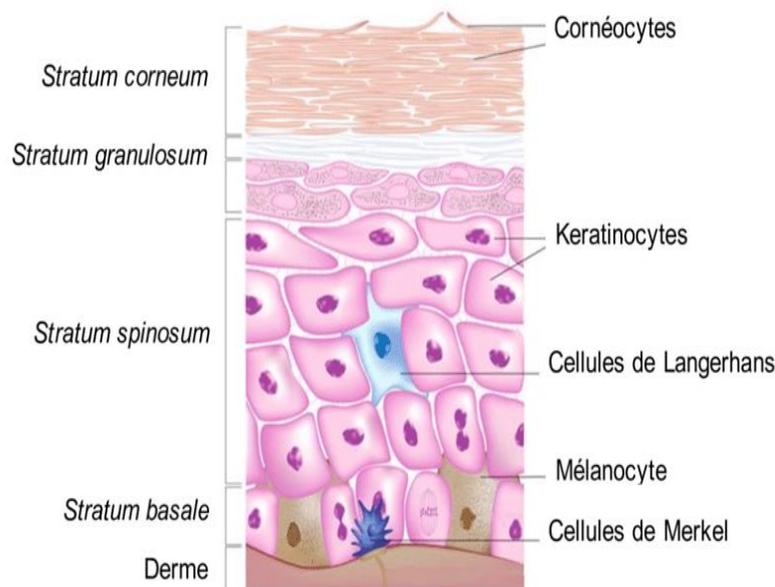
L'épiderme est un épithélium pavimenteux stratifié kératinisé, il est très mince, sa population cellulaire n'est pas homogène et il est constitué de cellules vivantes : les kératinocytes, des mélanocytes, cellules de Langerhans et de Merkel (Barbaras, 1996) (Girotti-Chanu, 2006) (ROBERT pierre et al, 1985) (Pruniéras, 1981).

Les kératinocytes représentent les éléments cellulaires dominants de l'épiderme par leur nombre et sont ainsi nommés en raison de leur fonction principale : kératinisation, c'est-à-dire

la différenciation en vue de former la kératine; élément constitutif majeur de la couche cornée (**Pruniéras, 1981**).

L'examen histologique d'une coupe transversale d'épiderme, après coloration standard, permet de reconnaître 4 couches cellulaires traduisant de bas en haut les différents événements métaboliques qui transforment le kératinocyte basal en kératinocyte corné :

- La couche des cellules basales (*Stratum germinativum*).
- Le corps muqueux de Malpighi (*Stratum spinosum*).
- La couche granuleuse (*stratum granulosum*).
- La couche cornée (*Stratum corneum*) (**Pruniéras, 1981**).



**Figure 4:** Schéma des cellules et des couches cellulaires de l'épiderme (**Twarog, 2017**).

### 2.1.2 Stratum corneum (SC)

Est constituée par la superposition de cellules complètement kératinisées, anucléées, formant des lamelles très allongées de 0,5 à 0,8  $\mu\text{m}$  d'épaisseur et jusqu'à 30  $\mu\text{m}$  de longueur. Le nombre des couches cellulaires est très variable: 15 à 20 au niveau de l'abdomen et du dos, plusieurs centaines de couches au niveau de la région plantaire. On peut distinguer au microscope optique, plusieurs sous couches au niveau de SC (*Stratum lucidum*, *Stratum compactum* et *Stratum disjonctum*) (**Pruniéras, 1981**). La dernière couche de l'épiderme viable (*Stratum granulosum*) est en contact avec des cellules mortes de la couche cornée (**Dancik et al, 2012**).

### 2.1.3 Zone de jonction dermo- épidermique (JDE)

La JDE est visible sur une coupe histologique, c'est une ligne ondulée par des invaginations du derme dans l'épiderme, appelées les papilles dermiques (**Marieb, 1999**) (**Falson-Reig et al, 2004**), occupe une position stratégique aux frontières de deux tissus, l'un épithélial, l'autre conjonctif, qui lui confère d'importantes fonctions tant physiologiques (zone d'échange nutritifs) que physiopathologiques (siège de processus pathologique de nombreuses dermatoses). Au microscope électronique, la JDE est constituée de 4 composantes :

- La membrane plasmique des cellules basales.
- La lamina lucida.
- La lamina basale.
- Les éléments fibreux de la lame sous-basale.

Ces cellules basales envoient de nombreuses digitations cytoplasmiques séparées par des invaginations dermiques qui font de cette zone jonctionnelle une surface d'échange très étendue (**Pruniéras, 1981**).

### 2.1.4 Derme

Le derme est souple et situe sous l'épiderme, constitué d'un réseau de tissu de connexion fait de collagènes et fibres élastiques dans un lit de substance matricielle. Il assure les rôles de charpente structurelle de la peau et de protection contre les chocs mécaniques. Il se compose de deux couches : le derme papillaire et le derme réticulaire (**Ostojic et al, 2012**).

Le derme papillaire est constitué de fines fibres de collagènes, souvent orientées vers la membrane basale dermo- épidermique. A l'instar de ce réseau, les fibres élastiques sont dirigées verticalement dans les papilles dermiques.

Le derme réticulaire contient un réseau de faisceaux ondulés dont l'orientation générale est parallèle à la surface de l'épiderme. Ils forment des étages unis entre eux par des faisceaux d'ancrage entrelacés (**Pruniéras, 1981**).

### 2.1.5 Hypoderme

Hypoderme ou tissu sous cutané est un matelas adipeux, d'épaisseur très variable selon la localisation, sur lequel repose le derme et qui possède la même structure que le derme mais on observe une prédominance de fibres de collagène, de protéoglycanes et de tissu graisseux. Il isole le derme des membranes fibreuses enveloppant les parties sous-jacentes profondes telles que les muscles, dont il se moule sur les plans musculo-squelettiques, assurant ainsi une protection mécanique contre les forces de pression des couches dermo- épidermiques ainsi bien que les tissus et organes sous-jacents (**ROBERT Pierre et al, 1985**) (**Pruniéras, 1981**) (**Freinkel et Woodley et al, 2001**) (**Martini, 2003**).

## 2.1.6 Annexes de la peau

### 2.1.6.1 Poil

C'est une structure kératinique morte, sécrétée par un sac allongé dérivé de l'épiderme, appelé follicule pileux. Le fond du sac, formé par le bulbe pileux creusé d'une papille dermique, produit sans cesse des cellules dont l'empilement et la kératinisation donnent naissance à la tige pileuse. Le follicule pileux apparaît semblable à une glande holocrine dont le produit de sécrétion, solide, est le poil (**Pruniéras, 1981**).

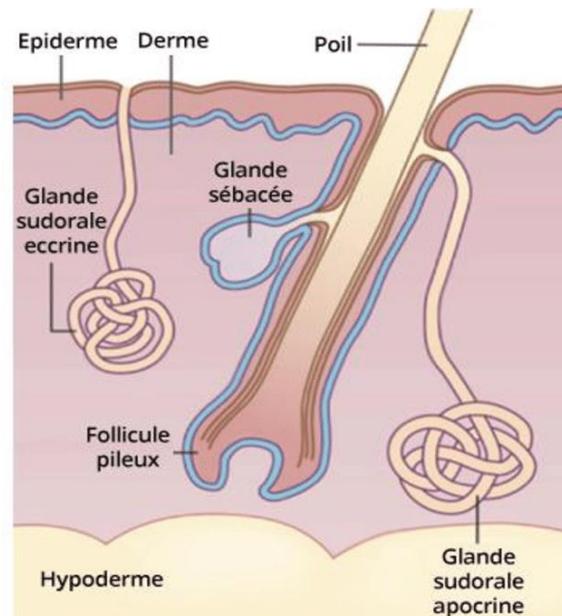
### 2.1.6.2 Glande sébacée

Est un sac bourré de volumineuses cellules claires à petit noyau central, prenant intensément les colorants des graisses neutres, le sébum est le résultat de l'excrétion puis de la rupture de ces cellules chargées de graisse, type de sécrétion appelée holocrine (**Pruniéras, 1981**).

### 2.1.6.3 Glande sudoripare

Les glandes sudoripares eccrines est une glande tubulaire dont la partie enroulée dans le derme sécrète la sueur qui est conduite par le canal excréteur jusqu'à la surface de la peau.

Les glandes sudoripares apocrines sont plus grosses que les glandes eccrines et leur conduit débouche dans un follicule pileux. En plus des composants de base de la sueur, leur sécrétion contient des lipides et des protéines qui, une fois transformés par des bactéries de la flore cutanée, sont responsable d'une odeur déplaisante (**Marieb, 1999**).



**Figure 5:** Structure schématique d'une glande apocrine et eccrine (**Twarog, 2017**).

## 2.2 Physiologie de peau

### 2.2.1 Maintien de la température corporelle

La sécrétion de sueur aide à réguler la température corporelle, elle augmente avec la température et provoque un rafraîchissement grâce à son évaporation en surface. Elle diminue avec l'abaissement de la température (**Dréno, 2009**).

### 2.2.2 Fonction barrière

L'efficacité de la barrière cutanée tien à la structure du SC. En effet, les cornéocytes se recouvrent entre eux comme des tuiles d'un toit et sont recouvertes d'une enveloppe protéique qui leur assure une protection et une imperméabilité, de plus, ces cellules sont reliées entre elles par un ciment lipophile (**Dréno, 2009**).

Le film hydrolipidique est déposé à la surface du SC, provient de la sécrétion sébacée et sudorale (**Barbaras, 1996**) (**Girotti-Chanu, 2006**) (**Martini, 2003**). Sa composition en acides gras lui confère un pH entre 5 et 6, qui a un rôle dans le maintien du pH acide de la peau (**Barbaras, 1996**) (**Martini, 2003**).

Sa composante lipophile crée une barrière à l'évaporation de l'eau. Ainsi, elle joue un rôle dans l'établissement de la barrière cutanée en freinant également la pénétration de substances hydrophiles (**Robert Pierre et al, 1985**) (**Martini, 2003**).

La peau protège aussi notre organisme des traumatismes mécaniques, des toxines chimiques, des rayons ultraviolets (UV) et des agents infectieux tels que les bactéries et les champignons. La peau est continuellement exposée aux bactéries, mais la structure des cellules du SC prévient la pénétration des bactéries. En revanche, certains champignons peuvent infiltrer et abîmer l'intégrité de la kératine, ce qui explique que les infections fongiques sont plus fréquentes que les infections bactériennes. Enfin, c'est une protection contre les rayons du soleil, notamment grâce à sa pigmentation (**Dréno, 2009**).

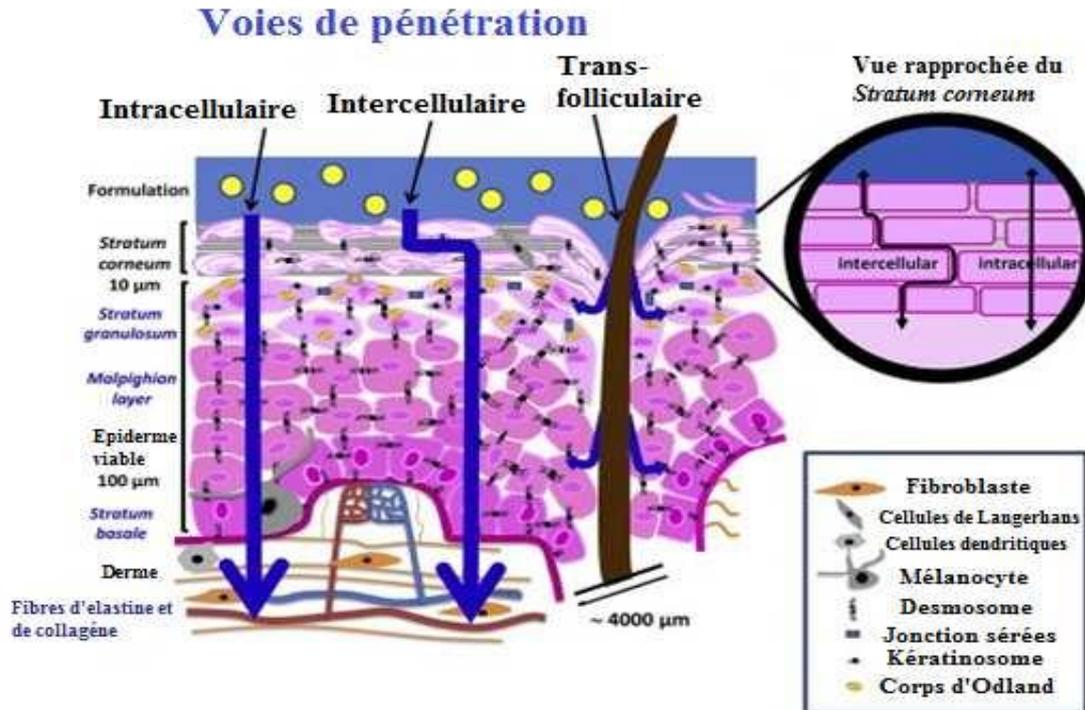
Photoprotection ; L'acide urocanique contribue à l'absorption d'une partie du rayonnement UV et joue ainsi le rôle de filtre solaire naturel complétant l'action des mélanines de la couche basale (**De Fine Olivarius, 1999**) (**Gibbs et al, 2008**).

Résistance mécanique à la friction ; le frottement est impliqué dans la qualité de préhension ou du maintien des objets, cette résistance du SC est le résultat de trois (3) composantes; la matrice fibreuse présente à l'intérieur des cornéocytes, l'enveloppe cornée qui forme une coque rigide autour de cette matrice et qui remplace la membrane plasmique et les cornéodesmosomes qui sont les seules structures jonctionnelles du SC, dérivées des desmosomes et qui assurent la cohésion entre les cornéocytes (**Pruniéras, 1981**) (**Leclerc Moussie, 2010**).

## 2.3 Absorption percutanée

### 2.3.1 Mécanisme d'absorption percutanée

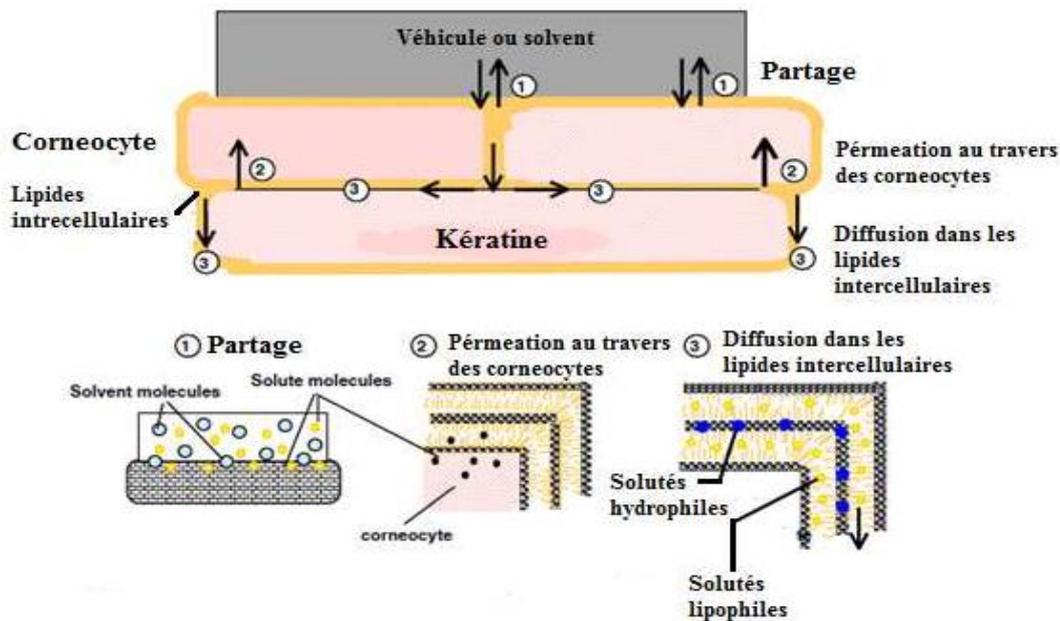
Deux voies distinctes s'offrent pour la pénétration transcutanée des substances chimiques.



**Figure 6:** Schéma des trois voies de pénétration cutanée : intracellulaire, intercellulaire, et transfolliculaire (Bolzinger et al, 2012).

#### 2.3.1.1 Pénétration transépidermique

Ce fait à travers les espaces tortueux laissés libres entre les cornéocytes, voie intercellulaire, ou à travers les cornéocytes elles-mêmes avec traversée successive des cellules et des espaces extracellulaires, voie intracellulaire. Le SC peut être représenté par le modèle « briques et mortier », où les briques sont représentées par les cornéocytes de nature hydrophile par leur contenu en protéines, entourées d'un ciment lipophile constitué par les lipides qui remplissent les espaces extracellulaires et par les lipides des membranes cellulaires.



**Figure 7:** Pénétration transépidermique à travers le modèle «brique et mortier» du *stratum corneum* (Anissimov et al, 2012).

Compte tenu de la faible surface relative des espaces intercellulaires, qui ne représente que 5 % du volume du SC, il a été longtemps admis que la diffusion par la voie la plus directe, transcellulaire, constituait l'unique route d'entrée des molécules exogènes. Or c'est la voie intercellulaire qui prédomine sur la voie intracellulaire (Bolzinger et al, 2012). Les médicaments hydrophobes empruntent la voie intercellulaire et les médicaments hydrophiles préfèrent passer par la voie intracellulaire à travers les cornéocytes.

Certains promoteurs de pénétration cutanée qui agissent par altération de la structure de la kératine, sont susceptibles de promouvoir la diffusion de nombreuses substances en augmentant leur passage transcellulaire.

Le transport du médicament est contrôlé par son coefficient de diffusion dans les lipides du SC, la rétention par adsorption à la kératine des cornéocytes et le coefficient de partage entre le véhicule du médicament et les lipides du SC.

Parmi les paramètres physico-chimiques les plus importants liés à la drogue:

- La masse molaire (MM), qui détermine le coefficient de diffusion.
- Le coefficient de partage octanol/eau ( $K_{o/w}$ ) qui représente le partage SC-eau (Mignani et al, 2011).

Il a été démontré dans plusieurs études *in vitro* et *in vivo* que les molécules idéales pour la perméation dans les couches viables ont pour caractéristiques physicochimiques : Un caractère lipophile modéré, une certaine solubilité dans l'eau et un petit volume moléculaire relatif.

Dans la majorité des cas, la pénétration ne s'effectue pas uniquement par l'une des voies, les deux participent au phénomène et la pénétration globale est la résultante d'un passage transépidermique et d'un passage par les annexes (Mignani et al, 2011).

### **2.3.1.2 Pénétration à travers les annexes cutanées**

Elle emprunte les annexes cutanées (follicules pilosébacés et/ou glandes sudoripares), où elle peut être importante dans certains cas. En moyenne, les follicules pileux ne représentent que 0,1% de la surface de la peau humaine (Mignani et al, 2011).

Les glandes sébacées associées aux follicules pileux fournissent une autre cible potentielle pour délivrer des médicaments contre l'acné, l'alopécie androgénétique et d'autres dysfonctionnements des glandes sébacées (Bolzinger et al, 2012).

## **2.3 Facteurs influençant l'absorption percutanée**

### **2.3.1 Facteurs liés à la peau**

#### **2.3.1.1 Localisation anatomique**

L'épaisseur du SC varie selon la localisation. Elle est très fine sur les paupières, dans les plis et sur le scrotum qui constituent des zones où la diffusion transcutanée est maximale. Le SC est au contraire épais aux paumes et aux plantes, zones où la diffusion est beaucoup plus faible. À titre d'exemple, les rapports d'absorption de l'hydrocortisone en fonction de la localisation sont indiqués dans la (Figure 8) (Lebrun-Vignes, 2016).

#### **2.3.1.2 Age**

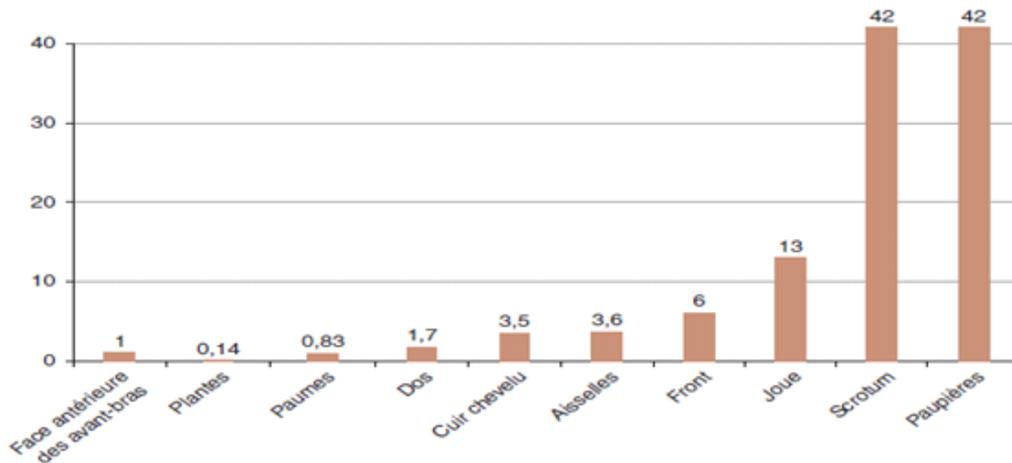
La biodisponibilité cutanée varie peu en fonction de l'âge du patient. À surface traitée identique, il n'existe pas de différence majeure de perméabilité entre la peau du nouveau-né (NN) à terme et de l'enfant par rapport à la peau de l'adulte. En revanche, l'absorption cutanée est majorée chez le prématuré en raison d'une immaturité cutanée. Chez le sujet âgé, alors que l'on pourrait attendre une augmentation de la pénétration en raison de l'atrophie épidermique, les données ne semblent pas montrer de différence majeure en fonction de l'âge du patient (Lebrun-Vignes, 2016).

#### **2.3.1.3 Altération de la peau**

Une peau altérée se laisse pénétrer beaucoup plus facilement que dans le cas d'une peau intègre. L'altération du SC entraîne également une diminution, voire une perte de l'effet réservoir, situation dont il faut savoir tenir compte en thérapeutique (augmentation du nombre quotidien d'applications) (Lebrun-Vignes, 2016).

### 2.3.1.4 Hydratation du SC

Bien qu'augmentant l'épaisseur du SC, son hydratation favorise de façon importante l'absorption cutanée. L'hydratation du SC est possible d'une part en lui apportant de l'eau associée à diverses substances favorisant sa rétention, d'autre part en empêchant l'élimination de l'eau par une occlusion (pansements ou substance grasse) (Lebrun-Vignes, 2016).



**Figure 8:** Diagramme en bâton représentant les rapports d'absorption de l'hydrocortisone en fonction de la localisation (la face antérieure de l'avant-bras étant prise comme référence) (Lebrun-Vignes, 2016).

### 2.3.1.5 Température cutanée

L'élévation de la température de la peau augmente l'absorption cutanée.

### 2.3.1.6 Vascularisation cutanée

Un flux sanguin dermique important favorise l'absorption cutanée en drainant la substance appliquée à la surface cutanée et donc en augmentant son gradient de concentration entre la surface et la profondeur de l'épiderme. Les territoires cutanés les plus richement vascularisés sont le visage, le cou ou la peau pulpaire.

## 2.3.2 Facteurs liés au PA

Les caractéristiques physicochimiques d'une substance conditionnent leur capacité à diffuser à travers la peau. Les principales caractéristiques influençant cette absorption sont les suivantes :

### 2.3.2.1 Taille/Poids moléculaire (PM)

La diffusion transcutanée d'une molécule est favorisée par sa petite taille, un poids moléculaire de plus de 500 daltons étant un frein à cette diffusion au travers d'une peau normale.

### **2.3.2.2 Solubilité**

Les molécules les plus aptes à traverser le SC sont les molécules amphiphiles et les molécules de lipophilie moyenne.

### **2.3.2.3 Point de fusion**

Une molécule ayant un point de fusion bas (inférieur à 200°C) (**Mignani et al, 2013**) est associée à une meilleure absorption cutanée.

### **2.3.2.4 Ionisation**

L'ionisation diminue l'absorption cutanée d'une molécule. La formulation contenant la molécule doit tenir compte de son pKa afin de déterminer le bon équilibre entre les formes ionisées et non ionisées. Le pH de la surface cutanée étant acide, le contact avec la formulation peut modifier cet équilibre et altérer l'absorption cutanée de la molécule.

### **2.3.2.5 Concentration**

L'absorption cutanée est favorisée par une forte concentration de la molécule dans le véhicule (**Lebrun-Vignes, 2016**).

## **2.1.3 Facteurs liés à la formulation du topique**

### **2.1.3.1 Forme galénique**

La forme galénique du topique est donnée par les excipients utilisés, ceux-ci participant à l'activité thérapeutique du topique. Le véhicule doit être le plus neutre possible et faciliter le passage transdermique du PA. Celui-ci diffusera d'autant mieux au travers de la barrière cutanée qu'il a peu d'affinité pour son véhicule. Une molécule hydrophile aura donc idéalement un véhicule lipophile et vice versa. On rappelle par ailleurs que l'absorption est augmentée si le véhicule est saturé en PA. Les formes galéniques destinées à une application cutanée sont nombreuses. Le choix du véhicule dépend des caractéristiques physicochimiques du PA, de sa concentration, du site cutané à traiter (**Lebrun-Vignes, 2016**).

### **2.1.3.2 Additifs**

L'adjonction de substances telles qu'un kératolytique comme l'acide salicylique ou l'acide lactique, ou qu'un agent hydratant de la kératine comme l'urée augmente la pénétration cutanée du PA. Ces additifs sont cependant susceptibles de passer dans la circulation systémique en quantité non négligeable et de donner des effets locaux spécifiques (irritation), ce qui implique de limiter, voire d'éviter leur utilisation dans des populations et/ou sur des zones ou lésions particulières (NN, nourrissons, altération de la barrière cutanée, etc.) (**Lebrun-Vignes, 2016**).

#### **2.1.4 Facteurs liés au mode d'application**

L'occlusion augmente très significativement la biodisponibilité cutanée des topiques en augmentant l'hydratation du SC, la température locale et la durée du contact. À titre d'exemple, l'occlusion multiplie par dix la pénétration des dermocorticoïdes. L'occlusion peut être une aide thérapeutique en augmentant l'efficacité du topique utilisé. Elle est alors réalisée à l'aide de films plastiques, de pansements hydrocolloïdes ou de bandages (**Lebrun-Vignes, 2016**).

#### **2.1.5 Facteurs environnementaux**

Le contact entre la surface cutanée et l'environnement est à l'origine d'un microclimat pouvant varier fortement en fonction des conditions extérieures de température et d'hygrométrie. Les modifications de ce microclimat influencent significativement l'absorption cutanée des molécules appliquées sur la peau (**Lebrun-Vignes, 2016**).

# **Chapitre III:**

## **Méthodes d'étude de l'absorption percutanée des médicaments**

Les méthodes d'étude de l'absorption percutanée des médicaments se divisent en deux grandes catégories: les méthodes *in vivo* et les méthodes *in vitro*. Les méthodes *in vivo* sont bien connues et fournissent des informations pharmacocinétiques sur les espèces mammifères (**OCDE 428, 2004**), mais elles sont peu réalisables pour des raisons économiques et éthiques. Elles sont aussi limitées car elles ne donnent qu'un aperçu approximatif de l'absorption percutanée des médicaments. Par conséquent, une grande attention a été donnée pour développer et valider les méthodes *in vitro* (**Kwang-Jin, 2011**) qui ont été mises au point à la fin du XX<sup>e</sup> siècle (**OCDE 427, 2004**). Néanmoins, l'obtention des paramètres pharmacocinétiques et des échantillons de peau humaine sont difficiles. Les peaux animales et les membranes artificielles sont des alternatives de la peau humaine, mais il y a une grande variabilité d'absorption qu'il faut la tenir en compte (**Kwang-Jin, 2011**).

### 3.1 Méthodes *in vitro*

#### 3.1.1 Perméation cutanée

Aujourd'hui, le dispositif le plus utilisé pour cette méthode est la cellule de Franz (CF). Elle est construite d'une matière inerte et résistante aux matériaux d'essai ( en verre ou en Téflon® ), elle se compose de deux compartiments: Un compartiment donneur et un compartiment récepteur (**Lebrun-Vignes, 2016**) (**Robert et al, 2005**).

Le compartiment donneur contient la préparation médicamenteuse à une quantité prédéterminée, il doit être fermé si la préparation à tester est volatile (**Kwang-Jin, 2011**).

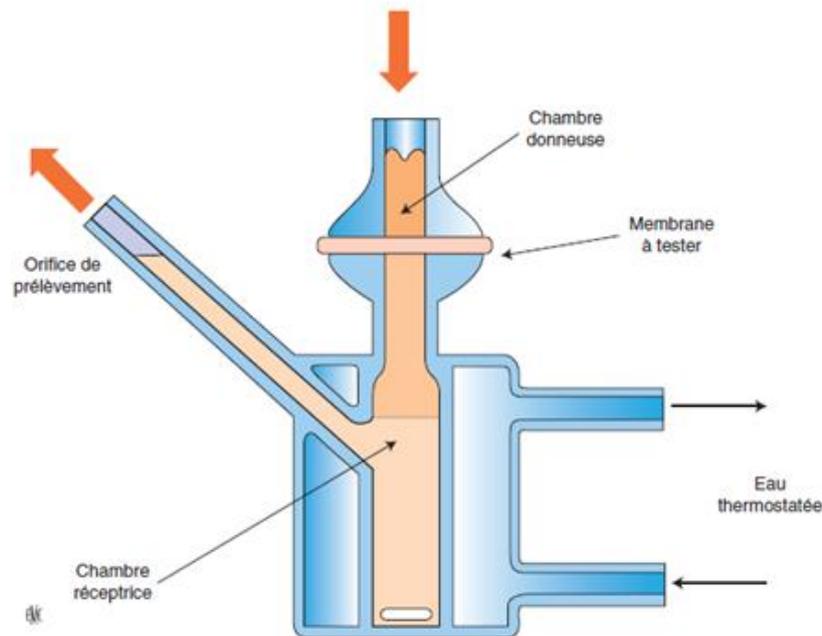
La composition du milieu récepteur dépend de la solubilité de la molécule à étudier et de la nature de la membrane utilisée. Une solution de chlorure de sodium (NaCl) 0.9% pour une molécule hydrophile, mélangé d'un sérum albumine bovin (BSA) et d'un tensio-actif non ionique pour une molécule lipophile. Si la peau est non viable, une solution saline tamponnée suffit, mais si la peau est viable une solution d'HEPES-Buffered Hank's est nécessaire, on peut même rajouter un conservateur si l'incubation est longue (**Le Hir et al, 2009**). Le compartiment récepteur est agité avec un barreau magnétique pour qu'il soit toujours homogène (**Chast, 1999**).

Une membrane synthétique, une peau animale ou une peau humaine partielle ou totale est placée entre les deux compartiments (**Lebrun-Vignes, 2016**).

La cellule est placée au bain-marie à 37° C ce qui permet d'obtenir une température de 32°C au niveau de la peau (**Kwang-Jin, 2011**).

La durée de cette méthode est généralement de 24 heures, elle doit être étendue jusqu'à 48 heures voire plus pour les molécules lipophiles à cause de l'effet réservoir (**Ronald et al, 2005**).

Le compartiment récepteur comporte un orifice d'échantillonnage qui est bouché pendant l'expérience, le volume prélevé doit être remplacé par un liquide récepteur frais (**Moss et al, 2015**). Une fois le liquide du compartiment récepteur a été recueilli il sera quantifié par une méthode analytique appropriée. Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g/h}$  ou bien en  $\text{mg/cm}^2/\text{h}$  (**Borchardt et al, 1996**).

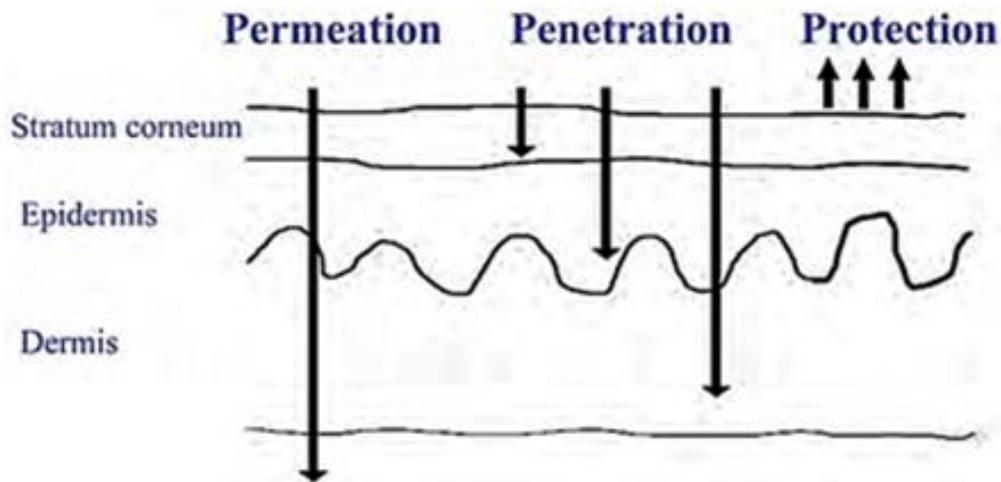


**Figure 9:** Schéma représentatif de la cellule de Franz (**Lebrun-Vignes, 2016**).

La CF est facile à manipuler, elle permet d'utiliser des membranes de différentes épaisseurs et son matériel de construction est inerte vis-à-vis du PA et des différents constituants des deux compartiments. Ainsi, elle peut être maintenue à une température constante. Enfin, l'échantillonnage du milieu récepteur est facile (**Lehr, 2002**). L'une des limites de cette cellule est que la solubilité du PA dans le compartiment récepteur ne doit pas dépasser 10 %. Il est à noter que le protocole et la conception de la CF peuvent influencer les résultats de l'expérience (**Moss et al, 2015**).

### 3.1.2 Méthode de pénétration

Le modèle d'étude de pénétration de Saarbrücken (SB-M) a été développé pour évaluer la pénétration dans les différentes couches de la peau, en plus les quantités du médicament au niveau du SC et les couches les plus profondes peuvent être obtenues séparément.



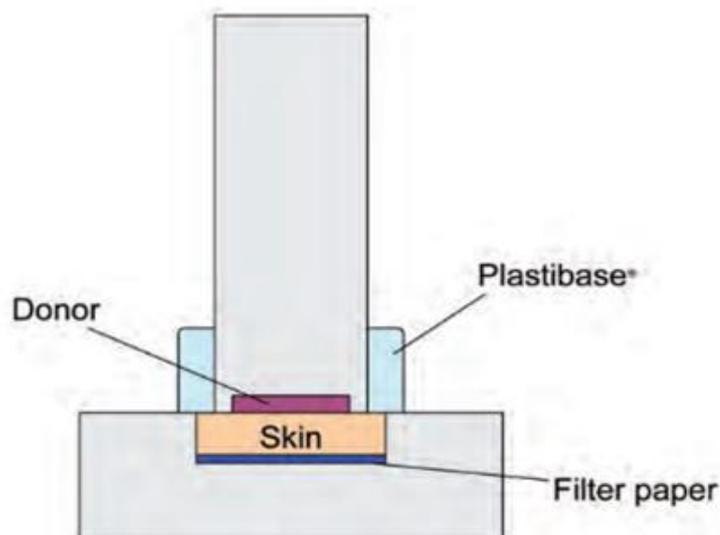
**Figure 10:** Schéma représentatif des différents cas de l'absorption percutanée : perméation, pénétration ou projection (Schaefer et Lehr 2010).

Contrairement à la CF, la peau représente elle-même un compartiment récepteur pour le médicament pénétrant. L'avantage majeur est que l'hydratation excessive et non-physiologique est évitée, ainsi que les changements possibles affectant la qualité de la peau et la fonction barrière causés par le milieu donneur soient prévenues.

Tout dépend du médicament et de sa formulation, le temps d'incubation doit être limité jusqu'à ce que le médicament atteigne les couches les plus profondes du derme et commence à s'accumuler, et ceci est dû au fait que la peau est le seul accepteur du médicament.



**Figure 11:** Modèle de pénétration de SB-M (Schaefer et Lehr 2010).



**Figure 12:** Schéma de modèle de pénétration (Schaefer et Lehr 2010).

En utilisant le SB-M, la peau est placée sur un papier filtre qui est imbibé de solution de Ringer pour empêcher la déshydratation de la peau pendant la durée de l'expérience.

La peau et le papier filtre sont placés ensemble dans une cavité d'un bloc de téflon. La préparation de médicament est introduite dans une cavité d'un poinçon en téflon de 2 mm de profondeur.

Le poinçon en téflon est appliqué sur la surface de la peau, et un poids de 0,5 kg est placé au-dessus du poinçon pendant deux minutes pour améliorer le contact entre la peau et la préparation médicamenteuse. Après deux minutes, le poinçon de téflon est fixé dans sa position et l'espace entre les deux parties en téflon est scellé avec Plastibase® pour éviter la perte d'eau de la peau. L'ensemble de l'appareil est transféré dans une boîte en plastique et placé dans un bain-marie à  $32 \pm 1$  °C pour la thermostatisation.

Pour obtenir des informations sur la teneur en médicaments des différentes couches de la peau, la couche cornée, ainsi que les couches plus profondes de la peau; épiderme et derme, sont segmentées horizontalement à la fin de chaque expérience à l'aide d'une technique standardisée de tape stripping et de cryosectionnement ultérieur. Ensuite, le médicament peut être extrait de chaque échantillon en utilisant une méthode d'extraction appropriée, et la quantité peut être analysée, par exemple, en utilisant une méthode de chromatographie liquide haute performance (HPLC) (Lehr, 2002).

### 3.1.3 Modèles de peau perfusés (Perfused Skin Models)

Les modèles peau perfusée sont considérés comme le lien entre les méthodes *in vivo* et *in vitro*. Contournant les dommages potentiels des essais de composés dangereux chez les humains ou les animaux vivants, ainsi que les inconvénients liés aux prélèvements répétés du système veineux ou à des biopsies étendues, les modèles de peau perfusée offrent les avantages des tissus vivants avec une microcirculation et un métabolisme pleinement actif.

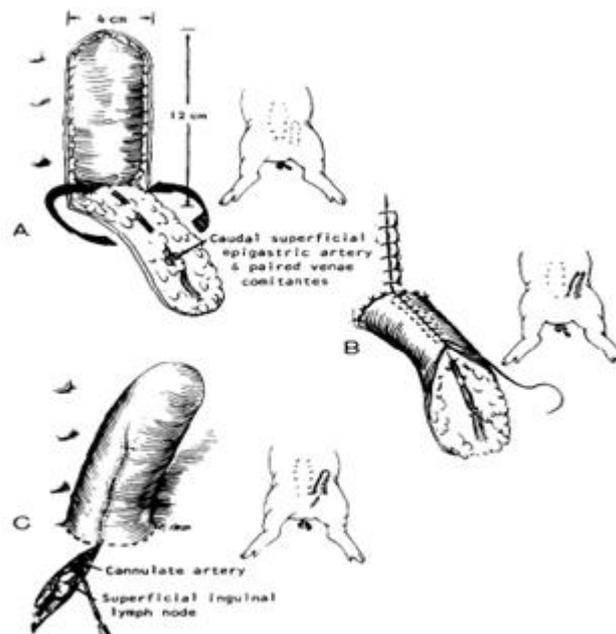
Des oreilles d'origine animale différentes, comme des souris glabres, des lapins ou des porcs ont été utilisées grâce à leur implication dans la thermorégulation qui permet une vascularisation élevée des oreilles (**Kwang-Jin, 2011**).

Autres systèmes d'organes perfusés isolés ont été appliqués dans des études de cinétique d'absorption transdermique notamment : le membre postérieur de rat, le membre antérieur de porc, le pis de vache et la peau de porc perfusée isolée (Isolated Perfused Porcine Skin Flap IPPSF) (**Ronald et al, 2005**).

Exemple : Isolated Perfused Porcine Skin Flap (IPPSF)

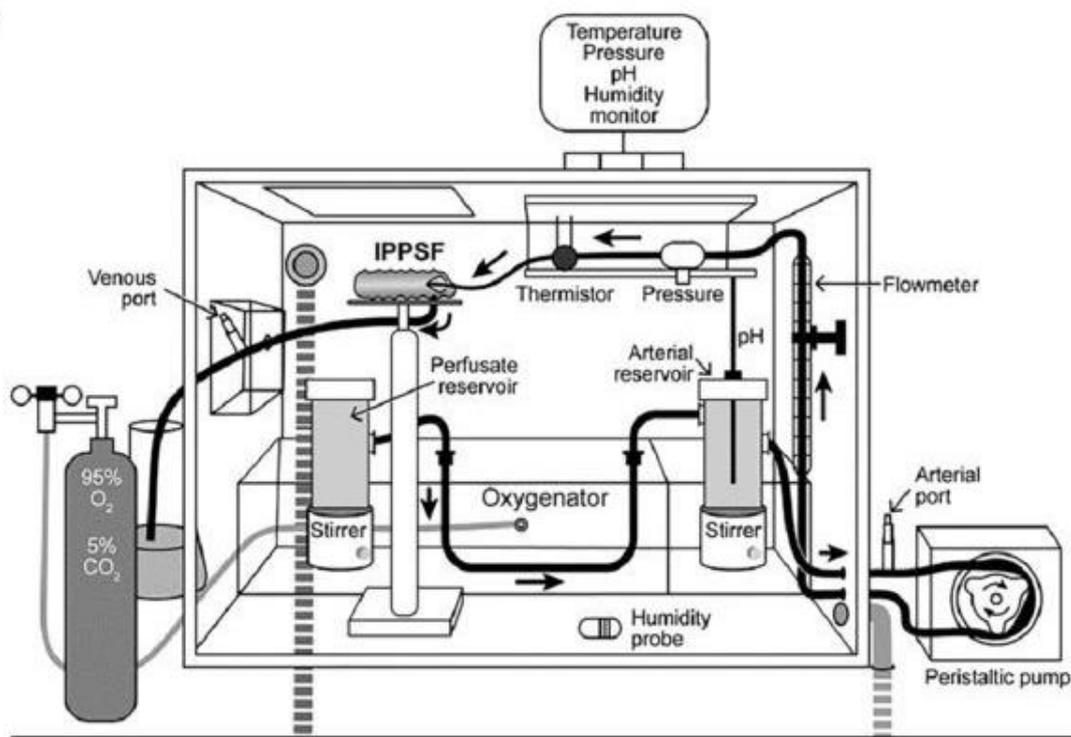
Les porcs ont été sélectionnés parce que leur peau est fonctionnellement et structurellement similaire à celle de l'homme. La peau de la région épigastrique caudo-latérale du porc a une vascularisation cutanée directe, représentée par l'artère épigastrique superficielle caudale et ses paires veines accompagnantes, ce qui est compatible avec les techniques de perfusion d'organes isolés fermés (**Lartize et al, 2018**).

Sur des porcs d'espèce déterminé et de poids bien précisé (environ 20 kg), un lambeau cutané fournis par l'artère épigastrique superficielle caudal est relevé et utilisé (mesurant environ 4×12 cm) (**Riviere et al, 1986**).



**Figure 13:** Schéma d'intervention chirurgicales pour la préparation de lambeaux de peau de porc perfusés isolés *in vitro* (**Riviere et al, 1986**).

(B)



**Figure 14:** Schéma de l'appareillage de l'IPPSF (Isolated Perfused Porc Skin Flap) (Riviere Jim et al, 2018).

Les études d'absorption percutanée sont réalisées en plaçant la formulation étudiée à la surface de l'IPPSF et en dosant l'effluent veineux au fil du temps pour le composé absorbé.

Une zone de dosage relativement grande allant jusqu'à 10 cm<sup>2</sup> est disponible pour l'application de composés et constitue un avantage majeur de ce système. L'analyse du profil d'efflux veineux permet ensuite d'étudier la cinétique de l'absorption percutanée à l'aide des modèles pharmacocinétiques.

L'IPPSF a été développé pour occuper spécifiquement une place entre les méthodes *in vitro* et *in vivo*. Cette juxtaposition lui donne des avantages et des inconvénients similaires aux deux.

Les principaux avantages sont liés au fait que l'IPPSF est une technique *in vitro* qui représente un système isolé dont il permet l'accès et le contrôle expérimentaux inhérents à d'autres systèmes *in vivo*.

La complexité de cette méthode constitue le principal inconvénient. Il s'agit de l'expertise chirurgicale requise pour créer la préparation, l'hébergement des animaux, l'équipement de perfusion et l'expertise. Le coût réel d'une expérience est semblable à celui d'une étude *in vivo* sur des porcs.

En conclusion, l'IPPSF est une préparation tissulaire isolée sophistiquée qui occupe une place unique dans la hiérarchie des modèles expérimentaux liés à l'absorption percutanée. Son

principal avantage est sa similitude avec la situation *in vivo* tout en maintenant l'accès et le contrôle d'un système *in vitro* (**Borchardt et al, 1996**).

### 3.2 Méthodes *in vivo*

#### 3.2.1 Méthode de la réponse pharmacodynamique

La réponse pharmacodynamique est notée visuellement par un ou plusieurs chercheurs qualifiés. Le test de Draize est un exemple classique de cette méthode.

En traçant la courbe de la réponse en fonction du temps et en intégrant l'air sous la courbe (ASC), différentes formulations peuvent être comparées : c'est la méthode de choix pour déterminer l'équivalence thérapeutique des produits génériques topiques.

La face antérieure de l'avant-bras est recommandée pour l'application du médicament; huit sites d'application aux maximums, chacun d'une superficie de 1 cm<sup>2</sup> et espacés de 2,5 cm du centre au centre.

Les inconvénients de cette méthode sont les erreurs subjectives susceptibles, le nombre limité du PA qui évoque une réponse pharmacodynamique locale quantifiable (**Kwang-Jin, 2011**) et le profil qualitatif de la méthode.

Enfin, cette méthode a une utilité limitée pour l'absorption percutanée des médicaments car la réponse observée ne reflète que l'effet local (**Ronald et al, 2005**).

#### 3.2.2 Méthode d'étude de récupération (Recovery studies)

Une quantité bien connue de médicament est appliqué à la surface de la peau qui sera récupéré après une période d'incubation par un lavage avec un solvant approprié (**Ronald et al, 2005**). La quantité de médicament ayant pénétré dans la peau sera déduite en dosant la quantité résiduelle récupérée à la surface (**Lebrun-Vignes, 2016**). Pour les composés volatils, des mesures supplémentaires doivent être prises pour prévenir les pertes (**EFSA, 2012**).

Cette méthode est peu coûteuse, non-invasive et peut être essayée sur la peau humaine (**Ronald et al, 2005**). Cependant elle est limitée du fait qu'une partie inconnue de la quantité pénétrée va passer à la circulation systémique. Un bilan massique complet comprenant les concentrations de médicaments et de métabolites dans la formulation récupérée, les produits de lavage, la couche cornée, le sang, l'urine et les matières fécales peut fournir un aperçu plus détaillé (**Kwang-Jin, 2011**).

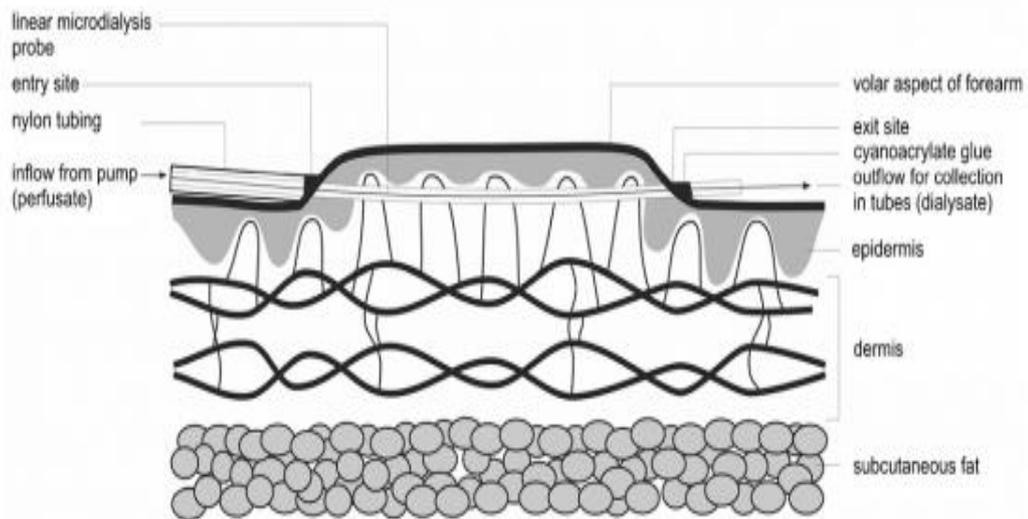
#### 3.2.3 Méthode de stripping

La méthode de stripping consiste à arracher des couches du SC à l'aide d'un adhésif posé à la surface de la peau et arraché de façon répétée. Cette méthode permet au maximum de prélever la totalité du SC. La concentration de la substance préalablement appliquée sur la peau peut ensuite être mesurée dans les strates arrachées afin d'en déduire la quantité absorbée par

le SC (Lebrun-Vignes, 2016). Il est à noter qu'avec cette méthode, le champ de vision se limite à la partie non viable de la peau (Kwang-Jin, 2011).

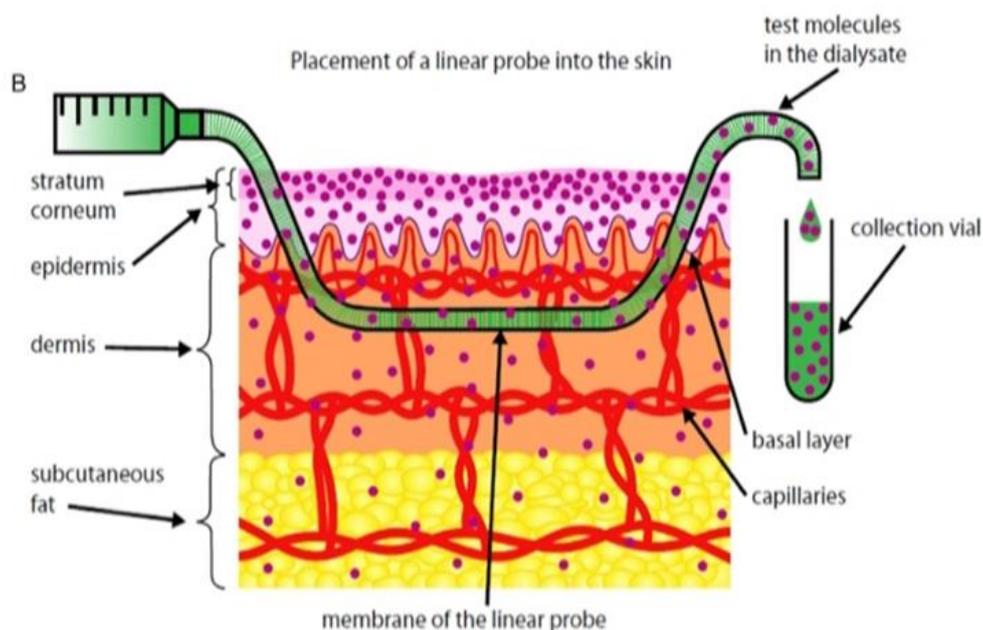
### 3.2.4 Microdialyse cutané (Dermal Microdialysis DMD)

La microdialyse cutanée est une application relativement nouvelle de microdialyse (MD) qui permet une surveillance continue de solutés endogènes ou exogènes dans le liquide interstitiel du tissu cutané. Cette technique implique le placement de petits systèmes de membranes perfusées à l'intérieur du derme (Figure 15).



**Figure 15:** Schéma du système membranaire implanté dans le derme (Okai et al ,2009).

Lorsqu'une formulation topique est appliquée sur la peau où le liquide de perfusion est pompé à travers le système de membrane implanté, les molécules médicamenteuses de la formulation topique présente dans le liquide interstitiel cutané diffusent dans la lumière de la membrane, entraînées par le gradient de concentration. Il en résulte la présence du médicament dans le milieu de perfusion (dialysat) qui est recueilli à des intervalles de temps et la concentration du médicament peut être quantitativement déterminée (Okai et al ,2006).



**Figure 16:** Schéma du placement de la sonde linéaire dans la peau (Benfeldt et al, 2007).

La mise en place d'une sonde de MD provoque un traumatisme mineur, comme une piqûre d'aiguille, et déclenche une réaction cutanée. Ces réactions tissulaires peuvent modifier la récupération de la sonde pendant la période de prélèvement. Par conséquent, une période d'équilibrage d'au moins 90 min dans la peau humaine et 30 min dans la peau de rat après l'insertion de la sonde est nécessaire pour permettre aux effets du traumatisme de diminuer, et un étalonnage de la sonde in situ pré-expérimental et post-expérimental pourrait être utile (Ronald et al, 2005) (Lehr, 2002).

Un nombre croissant d'études utilisent la MD d'une vaste gamme de médicaments chez les animaux et les humains, ce qui appuie le potentiel de cette technique pour les études de biodisponibilité et de bioéquivalence (Kwang-Jin, 2011).

Cette technique comporte certaines limites. La sonde de MD évalue l'absorption de produits chimiques ou de médicaments directement sous le site d'application. Contrairement aux autres techniques de bilan massique, il n'y a aucune assurance que tout le composé traversant la peau sera absorbé dans la sonde. Une fraction de la dose absorbée à tout moment peut être absorbée dans le système vasculaire plus profond ou rester liée au tissu cutané. La limite la plus importante est l'échantillonnage de substances lipophiles en raison de la faible récupération relative, ceci est lié à la nature hydrophile du perfusât appliqué. Ces limitations pour l'échantillonnage de substances hautement lipophiles sont liées à la nature hydrophile de perfusât appliqué pour les expériences de MD et à l'adhésion de la substance à l'appareil de MD. L'ajout de solvants (par ex : polyéthylène glycol, cyclodextrine, protéines ou lipides) aux perfusât est une façon de résoudre la faible solubilité des substances lipophiles (Ronald et al, 2005).

### 3.3 Estimation de la perméation percutanée par un modèle mathématique

Comme tous les phénomènes d'absorption, la perméation percutanée a fait l'objet de modélisations mathématiques dans le but de réaliser des prédictions rapides à moindre coût. Les équations de perméation sont établies selon deux approches principales : l'approche empirique, basée sur l'exploitation des données expérimentales d'un grand nombre de molécules et l'approche mécanistique qui utilise la connaissance de la peau et des voies de l'absorption (Guy et Russel, 2009).

Dans tous les cas, la perméabilité d'une molécule est décrite par le coefficient de perméabilité  $K_p$ , selon la loi suivante:

$$K_p = K \times D / h$$

Avec :

- $K$  : Coefficient de distribution entre le véhicule et le SC.
- $D$  : Coefficient de diffusion du composé dans le SC.
- $h$  : Epaisseur du SC.

#### 3.3.1 Modèles empiriques

La modélisation empirique a pour but d'établir une relation quantitative entre la structure des molécules et leur paramètre de perméation ( $K_p$ ). Les relations sont obtenues par régression statistique à partir de bases de données expérimentales d'études *in vitro* d'un grand nombre de molécules.

##### 3.3.1.1 Mesures de $K_p$

$K$  et  $D/h^2$  sont déduits des quantités cumulées dans le milieu receveur grâce à la seconde loi de Fick, selon l'équation suivante :

$$Q = KhC_v \left( \frac{D}{h^2} t - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} e^{\left( \frac{-Dn^2\pi^2 t}{h^2} \right)} \right)$$

- $Q$  : Quantité cumulée passée par unité de surface en fonction du temps  $t$ .
- $K$  : Coefficient de distribution entre le véhicule et le SC.
- $h$  : Epaisseur du SC.
- $C_v$  : Concentration en composé dans le milieu donneur.
- $D$  : Coefficient de diffusion du composé dans le SC.
- $t$  : Temps.
- $n$  : Nombre d'échantillon.

Ainsi,  $K_p$  peut être déduit (Guy et Russel, 2009).

##### 3.3.1.2 Bases de données de valeurs de $K_p$

Le statisticien dispose de plusieurs bases de données de valeurs de  $K_p$ . La plus utilisée est la base de données de Flynn qui comprend 97 composés de MM comprises entre 18 et 765 et de coefficient de partage octanol/eau ( $K_{o/w}$ ) compris entre -3 et +6 (Flynn, 1990). Ces données sont issues d'études de perméation réalisées *in vitro* sur peau humaine à partir d'une solution aqueuse du produit étudié. Les limites de la base de données de Flynn sont :

- La faible proportion de composés hydrophiles.
- La faible proportion de composés fortement lipophiles.
- L'absence de prise en considération de l'état d'ionisation des molécules.
- L'absence de prise en considération de la température d'étude (Guy et Russel, 2009).

Plus récente, la base de données européenne EDETOX (Evaluation et prédiction de l'absorption cutanée des substances chimiques toxiques) comprend 300 études sur peau humaine et permet des comparaisons de type peau humaine versus peau de rat, étude statique versus dynamique, dose finie versus dose infinie... etc. (Univ of N Castle, 2009).

### 3.3.1.3 Modèles de QSPR (quantitative structure-permeation Relationship)

Le modèle le plus cité est celui de Potts et Guy qui est une régression linéaire entre les données de MM et de coefficient de partage octanol/eau ( $K_{o/w}$ ) et les données de  $K_p$  de la base de données de Flynn. Le meilleur ajustement est obtenu avec l'équation suivante :

$$\log K_p \text{ (cm} \cdot \text{h}^{-1}\text{)} = -2,72 + 0,71 \cdot \log K_{o/w} - 0,0061 \cdot MM$$

Avec

- $K_p$  : Coefficient de perméabilité (cm/h).
- $K_{o/w}$  : Coefficient de partage octanol/eau.
- MM : Masse molaire (g/mole).

Les principales limites de ce modèle sont la surestimation de la perméabilité des composés très lipophiles et le fait que l'ionisation des molécules n'est pas prise en compte (Buchwald et Bodor, 2009).

Ce modèle a été évalué et recalculé dans des travaux plus récents. Des modèles utilisant d'autres variables explicatives ont été calculés. Par exemple, Buchwald et Bodor, pour s'affranchir de la co-linéarité des deux variables  $\log K_{o/w}$  et MM, ont proposé de les remplacer par N, la capacité des composés à former des liaisons hydrogènes et  $V_e$ , leur volume effectif de Van der Waals (Geinoz et al, 2004).

Les méthodes QSPR tentent de relier statistiquement les données cinétiques déterminées expérimentalement de l'absorption percutanée d'une gamme de produits chimiques exogènes à des paramètres physico-chimiques connus (Moss et al, 2002).

Ces relations quantitatives structure-perméation ne reposent pas sur des études humaines coûteuses et longues ou sur l'utilisation de modèles animaux. En outre, elles sont plus précises pour les composés appartenant à des classes similaires et sont également utiles pour prédire l'absorption au stade de la conception (c'est-à-dire avant leur synthèse et leur développement ultérieur) (**Geinoz et al, 2004**).

Parmi les limites de cette approche la surinterprétation des données (**Geinoz et al, 2004**), ainsi que la plupart des modèles de QSPR existants sont basées sur les résultats expérimentaux obtenus avec des solutions aqueuses saturées ou solutions éthanoliques d'un perméant, donc ces aspects devraient être prise en compte lors de l'évaluation des risques (**Godin et Toutou, 2007**).

### 3.3.2 Modèles mécanistiques

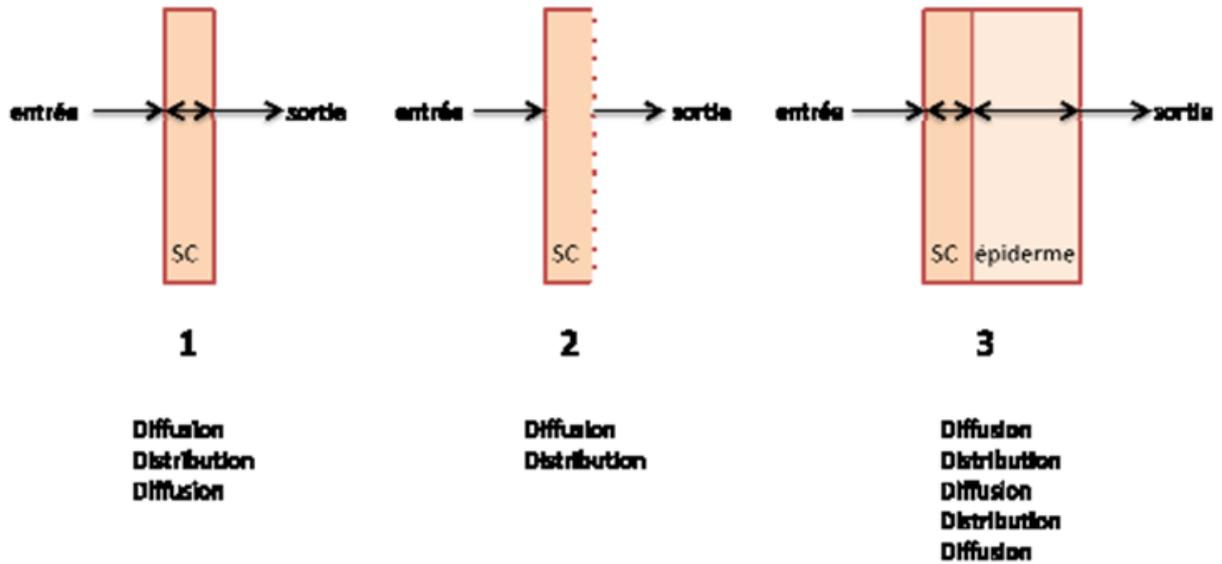
Les modèles mécanistiques dérivent des connaissances théoriques du passage transcutané des molécules.

Les propriétés de partage et de diffusion des solutés dans la matrice lipidique SC et les cornéocytes sont calculées à partir des propriétés physico-chimiques fondamentales du  $K_o/w$ , de la taille moléculaire et des coefficients de diffusion dans l'eau et les lipides, en utilisant des équations établies (**Chen et al, 2016**).

Pour décrire la barrière cutanée, trois modèles ont été retenus :

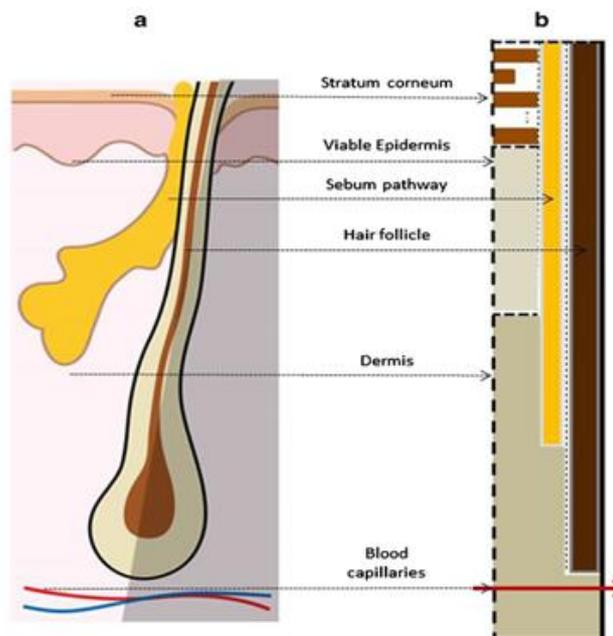
- le SC seul en tant que membrane finie.
- le SC en tant que membrane semi-infinie.
- le SC et l'épiderme viable comme une membrane composite finie (**Figure 17**).

Le calcul s'appuie sur la *scaled particle theory* selon laquelle, la diffusion des composés dans l'espace intercellulaire dépend de la densité et de l'organisation des bicouches lipidiques, mais aussi du rayon moléculaire du soluté. Le modèle obtenu est très proche du modèle de Potts et Guy (**Guy et Russel, 2009**).

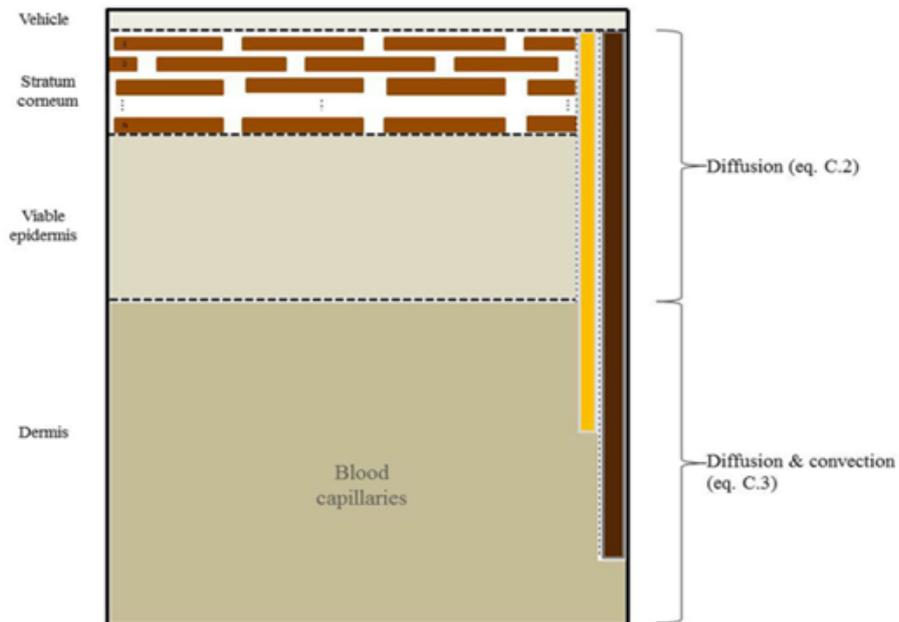


**Figure 17:** Modélisation de la barrière cutanée pour les modèles mécanistiques (Lemoine, 2012).

Chen et al, 2008 ; présentait un modèle informatique général permettant de prédire la perméation transdermique des solutés *in vivo*. Le modèle "brique et mortier" est utilisé pour représenter la couche cornée (SC), la principale barrière à la perméation transdermique. La structure hétérogène représentée de ce modèle "brique et mortier" a été introduite dans la modélisation *in silico*.



**Figure 18:** Simplification de l'anatomie des follicules pileux (a) en un domaine de modélisation 2D (b). Notez que le domaine de modélisation correspond à la zone non ombrée en (a) (Panayiotis et al, 2017).



**Figure 19:** Cadre modèle pour la perméation transdermique et la biodisponibilité systémique, y compris les trois voies de passage dans la couche cornée : intercellulaire, transcellulaire et folliculaire. Notez que le cheveu lui-même, illustré comme la zone verticale brune la plus à droite, est supposé imperméable (**Panayiotis et al, 2017**).

**Panayiotis et al, 2017** trouvaient que les données *in vivo* semblent être en accord avec la prédiction d'un modèle intégré qui a été appliqué pour prédire les données cliniques publiées sur la perméation transdermique de la caféine.

Toutefois, cela est extrêmement difficile à réaliser pour des raisons toxicologiques et logistiques, notamment la disponibilité constante de volontaires (**Moss et al, 2015**).

# **Partie expérimentale**

## **1. Objectifs**

L'étude de l'absorption percutanée des médicaments est une étape importante dans le développement pharmaceutique pour fabriquer des formulations topiques. Elle permet de déterminer le passage systémique de la molécule en question.

Comme décrit préalablement dans l'étude bibliographique, il existe plusieurs méthodes d'étude de l'absorption percutanée dont la méthode de perméation, qui fait l'objet de notre étude.

L'objectif principal de cette étude est de prédire l'absorption percutanée de gel de Diclofénac sodique et de gel de Diclofénac diéthylamine à travers une peau animale. Ceci en utilisant la cellule de Franz (CF) pour vérifier la possibilité et la faisabilité de réalisation de cette technique en comparant le protocole avec les données des études relatives à l'absorption percutanée établie antérieurement.

## **2. Matériels et méthodes**

### **2.1 Matériel**

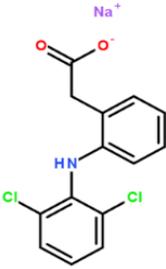
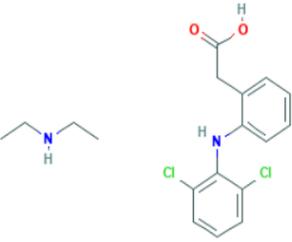
#### **2.1.1 Choix de la molécule**

Le choix dans la présente étude est porté sur le Diclofénac sodique et le Diclofénac diéthylamine pour la validation des méthodes d'étude de l'absorption percutanée.

Le diclofénac est un dérivé arylacétique, produit qui entre dans la classe des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), sous forme de sel sodique ou d'ester diéthylamine est bien connu pour son utilisation clinique dans le traitement des troubles musculo-squelettiques douloureux.

Le tableau ci-dessous représente les principales propriétés physico-chimiques des deux molécules

**Tableau 1:** les principales propriétés physico-chimiques de diclofénac sodique et de diclofénac diéthylamine.

	Diclofénac Na	Diclofénac DEA
Formule moléculaire	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> NNaO <sub>2</sub> ( <b>PubChem, 2020</b> )	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ( <b>PubChem, 2020</b> )
Nom de l'IUPAC	Sel de sodium d'acide 2-[2-(2,6-dichlorophenyl) aminophényl] éthanoïque ( <b>PubChem, 2020</b> )	Ester d'acide 2-[2-(2,6-dichloroanilino) phényl]acétique; N éthyléthanamine ( <b>PubChem, 2020</b> )
Poids moléculaire (PM)	318.13 g/mol ( <b>PubChem, 2020</b> )	369.3 g/mol ( <b>PubChem, 2020</b> )
Point de fusion	284.0 °C ( <b>PubChem, 2020</b> )	145-148 °C ( <b>Chembk, 2015</b> )
pK <sub>a</sub>	4.15 ( <b>PubChem, 2020</b> )	4.18 ( <b>Andreeta et al, 2011</b> )
Viscosité s/f de gel	24.82 Pa.s ( <b>Pradal et al; 2020</b> )	10.29 Pa.s ( <b>Pradal et al; 2020</b> )
Log K <sub>o/w</sub>	0.7 ( <b>PubChem, 2020</b> )	0.08 ( <b>Fini et al, 2012</b> )
Structure	 <p>(<b>PubChem, 2020</b>)</p>	 <p>(<b>PubChem, 2020</b>)</p>

**Tableau 2:** Les formulations de Diclofénac sodique et diéthylamine avec leurs renseignements.

	N°de lot	FAB	EXP
Diclofénac sodique	03005	02/2020	02/2022
Diclofénac diéthylamine 1 %	0481726	11/2019	10/2022

### 2.1.2 Réactif animal

Trois rats males Wistar pesant de 180 à 250 g sont utilisés. Les rats sont logés dans une pièce maintenue dans des conditions standards tout en fournissant de l'eau et de la nourriture sèche.

Normalement, un seul sexe devrait suffire. De jeunes rats adultes (généralement âgés de 8 à 14 semaines) ne présentant aucun signe de maladie (**Scott et al, 1993**).

### 2.1.3 Matière première et réactifs chimiques

- Diclofénac sodique (substance active).
- Diclofénac diéthylamine (substance active).
- Gel de Diclofénac sodique à 1%.
- Gel de Diclofénac diéthylamine 1%.
- Solution de chlorure de sodium NaCl 0,9%.
- Solution de caféine.
- Chlorure de potassium KCl.
- Phosphate dissodique  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .
- Phosphate monopotassique  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

### 2.1.4 Equipement et consommable

- Cellule de Franz.
- Dermatome.
- Spectrophotomètre UV/VISIBLE.
- Bain marie.
- Pompe de circulation.
- Agitateur magnétique.
- Fiole jaugée 100 ml.
- Compresse.
- Matériel de dissection.
- Bloc de polystyrène.
- Aiguilles hypodermique.
- Spatules.
- Micropipette.
- Tube à essais.
- Balance analytique.
- Eprouvette.
- Eau distillée.

### 2.1.5 Choix de la cellule de FRANZ

Pour étudier la perméation cutanée de la peau des rats, nous utilisons une CF (Figure 20), qui est un dispositif d'expérimentation *in vitro* couramment utilisée pour l'étude du passage de PA à travers une membrane biologique.

Elle se compose de deux compartiments séparés par une membrane qui peut être artificielle ou constituée de peau humaine ou animale. Le compartiment donneur reçoit le PA qui passe à travers la membrane vers le compartiment récepteur. Ce dernier contient une solution tampon PBS, qui hydrate et maintient l'intégrité physiologique de la peau.

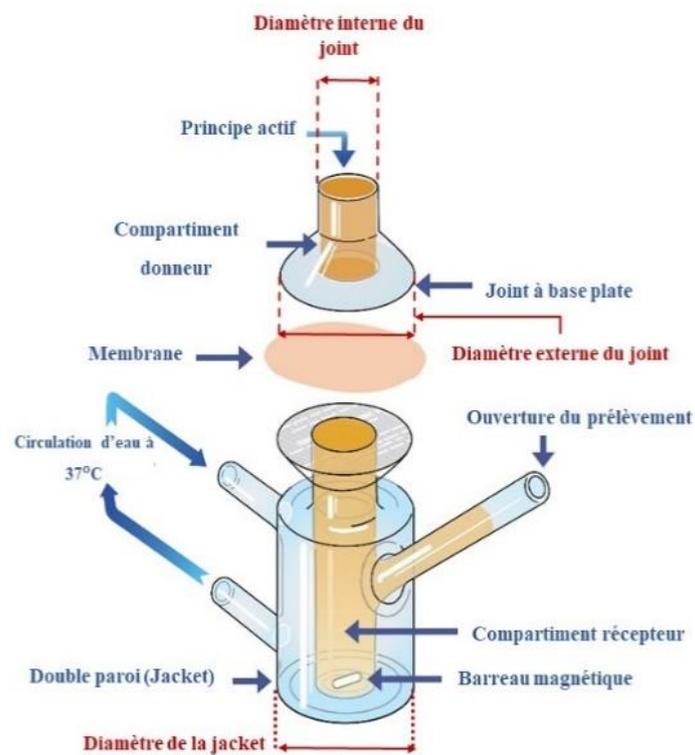
Le prélèvement des échantillons à intervalles réguliers permet de remonter à la quantité exacte du PA qui traverse la peau à tout instant. Il est à noter que la CF est thermostatée à 32 °C grâce à une pompe qui fait circuler l'eau dans la double paroi à partir d'un réservoir déposé dans un bain marie constamment maintenu à une température de 37° C, elle dispose d'un système d'agitation magnétique pour assurer l'homogénéité de la solution.

**Tableau 3:** Spécification d'une CF standard (PermeGear, 2019).

Spécifications de la CF standard a double paroi de 15 mm (joint à base plate)	
<b>Diamètre Interne Du Joint</b>	15 mm
<b>Diamètre Externe Du Joint</b>	30 mm
<b>Volume Récepteur</b>	12 ml
<b>Surface D'orifice</b>	1,77 cm <sup>2</sup>
<b>Diamètre De La Jacket</b>	30 mm



**Figure 20** : Cellule de Franz menée d'une seringue pour appliquer la formulation topique (PermeGear, 2019).



**Figure 21**: Schéma démonstratif d'une cellule de Franz standard de joint à base plate (PermeGear, 2019).

## 2.2 Méthode

### 2.2.1 Choix et principe de la méthode

La méthode de perméation est un procédé robuste permettant l'étude de l'absorption percutanée du médicament. Cette méthode a permis de surmonter les problèmes éthiques et économiques imposés par les méthodes *in vivo*.

Aujourd'hui, elle est largement employée pour sa manipulation facile, sa reproductibilité et la possibilité d'effectuer plusieurs échantillonnages.

Le choix est conditionné également par la faisabilité de la technique et la disponibilité du réactif animal. L'étude devait être menée au niveau du laboratoire de pharmacologie du département de pharmacie à l'université de Blida.

La substance d'essai est appliquée à la surface d'un échantillon de peau séparant les deux chambres d'une cellule à diffusion. La substance chimique reste sur la peau pendant un certain temps et dans des conditions spécifiques. Au cours de l'étude, on réalise des prélèvements au niveau du milieu récepteur à des moments donnés, ensuite on l'analyse pour chercher la substance d'essai.

### 2.2.2 Préparation du milieu récepteur

#### a. Préparation de la solution saline tamponnée au phosphate pH=7,4 (PBS)

- 800 mg NaCl.
- 20 mg KCl.
- 144 mg Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.
- 24 mg KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.
- 80 mL eau distillée.

Dans une fiole jaugée de 100 mL on verse 80 mL d'eau distillée puis on ajoute du NaCl, KCl, du Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> et du KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. On mélange, puis on complète avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge et on homogénéise (AAT Bioquest, 2019).

#### b. Préparation de la solution de caféine

La pénétration de la caféine est limitée par son hydrophilie et sa détection dans le compartiment récepteur signifie que la peau est endommagée.

100 ml de solution PBS mélangée avec 1 g de caféine (Sachaa et al, 2019).

10 mg de caféine → 1 mL

m → 100 mL

$m = 100 \times 10 = 1000 \text{ mg}$

### **2.2.3 Mode opératoire**

#### **a. Sacrifice des animaux**

Pesez les rats Wistar à jeun à chaque fois avant de les sacrifier. Mettez les rats dans une enceinte fermée où la concentration d'éther (diethyl-ether), sous forme de gaz, est augmentée progressivement jusqu'à 70 % ou plus.

#### **b. Préparation des membranes**

Les médicaments topiques sont absorbés par les vaisseaux sanguins situés directement sous l'épiderme, c'est pour cela on utilise une membrane dont la majeure partie du derme a été enlevée à l'aide d'un dermatome (figure 23) qui est réglé au préalable à une épaisseur de 500  $\mu\text{m}$ .

La peau pleine épaisseur des animaux est épinglée (épiderme vers le haut) à la surface d'un bloc de polystyrène. Cette dernière est coupée de façon que la peau chevauche les bords du bloc et y soit fixée au moyen des aiguilles hypodermiques qui sont à l'écart de la lame de dermatome.

Chaque rat va fournir au moins deux prélèvements de la peau dorsale, un va servir pour évaluer l'absorption de diclofénac sodique et l'autre pour le diclofénac diéthylamine.

#### **c. Mode opératoire du dispositif expérimental**

- Une CF munie d'un barreau aimanté au niveau du milieu récepteur et qui est déposée sur l'agitateur magnétique.
- La cellule est ensuite reliée au système de circulation d'eau à 37°C.
- Le compartiment récepteur est rempli de la solution PBS.
- La peau est déposée entre les deux compartiments. Le système est maintenu à l'aide d'un clapet.
- A ce stade, une attention particulière doit être portée à la formation de bulles d'air sous la peau, ceci pourrait bloquer complètement le passage des PA (figure 22).



**Figure 22:** Emplacement d'une peau dans la cellule de Franz  
(Talbi, 2018).

- **Etude de l'intégrité de la peau**

Les échantillons de la peau de chaque donneur sont d'abord qualifiés en évaluant leur perméabilité à la caféine, qui présente normalement une faible perméabilité à travers la peau.

Dans le compartiment donneur, on ajoute 1,2 mL de la solution de caféine. Le compartiment récepteur est agité à 400 tours/minute.

Des échantillons de 320  $\mu$ L du compartiment récepteur sont prélevés à 4, 6, 8, 20, 24, 28, 32, 46 et 48 h. Après chaque échantillonnage, un volume équivalent de PBS est ajouté au compartiment récepteur (Sachaa et al, 2019).

- **Application de la formulation topique**

Après un nettoyage approprié de la membrane, 200 mg de chaque formulation est déposé sur la peau.

Un premier échantillon de 320  $\mu$ l est prélevé à  $t = 0$ . Ceci afin de s'assurer que la quantité au départ est bien nulle et que la peau n'est pas endommagée. Remettre le même volume prélevé avec du PBS vierge.

Des échantillons à 2, 5, 9, 24, 28, 32, 46 et 48 h sont prélevés. Après chaque échantillonnage, un volume équivalent de PBS est rajouté au compartiment récepteur (Talbi, 2018).

## 2.2.4 Méthode/ dosage analytique

### a) Préparation des standards de référence

On prépare les différentes solutions en précisant leurs concentrations massiques (2mg/L, 10mg/L, 25mg/L, 50mg/L, 100mg/L, 200mg/L).

L'analyse spectroscopique est réalisée pour obtenir la courbe d'étalonnage Absorbance=f(C) (Derraji et al, 2014).

### b) Spectrophotométrie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-visible est une technique d'analyse sensible, quantitative, sélective, rapide, et moins couteuse. Le domaine spectral est compris entre 200-750 nm.

Elle permet de mesurer la concentration d'une solution, selon le principe d'absorbance de la lumière par les molécules ou ions d'un échantillon à chaque longueur d'onde des bandes ultraviolettes et visibles du spectre électromagnétique, qui peut être appliquée en routine pour le screening du Diclofénac soit dans des spécialités pharmaceutiques (Talbi, 2018) (Derraji et al, 2014).

Une méthode de dosage des sels de diclofénac [sodium ou diéthylamine] établie par Gouda et al, 2013, sur le gel de diclofénac sodique et le gel de diclofénac diéthylamine, le sel de diclofénac est déterminé à la fois en mesurant l'absorbance des solutions à une longueur d'onde fixe ( $\lambda = 276$  nm) et en utilisant un programme de calcul multi-longueurs d'onde pour traiter les données spectrophotométriques dans une plage sélectionnée ( $\lambda = 230 - 340$  nm). Dans ce cas, l'analyse est effectuée en mesurant l'amplitude pic à pic dans le spectre UV de première dérivée.

### 3. Résultats

Nous nous sommes déplacées au CHU-DOUIRA au laboratoire d'anatomo-pathologie où ils nous ont orienté vers l'université de Boumerdes -faculté de Biologie- afin de ramener un dermatome (figure 23). Malheureusement à cause de la pandémie COVID-19 et à raison des mesures de confinement nous n'avons pas pu déplacer.



**Figure 23 :** Dermatome

Nous avons contacté un souffleur de verre à Zemmouri (W Boumerdes) le 12/03/2020 afin de nous fabriquer une cellule de Franz, où il nous a proposé ce modèle (figure 24), et dû aux mêmes raisons nous n'avons pas pu compléter cette démarche.



**Figure 24:** Cellule de Franz

La réalisation de la pratique et l'analyse spectrophotométrique devraient être réalisées au niveau de laboratoire de pharmacologie de l'université de Blida. Mais, vue la pandémie COVID-19 et les mesures de confinement, nous n'avons pas pu mettre en œuvre le protocole opératoire de notre partie expérimentale.

#### 4. Discussion

Notre étude a porté sur l'élaboration d'un protocole d'étude de l'absorption percutanée de diclofénac sodique et de diclofénac diéthylamine, en utilisant la CF pour évaluer la perméation *in vitro* à travers une membrane issue d'une peau de rat.

Des résultats antérieurs ont décrit cette méthode en utilisant des différentes sources de peau (humaine, porcine et du rat), notant que la peau humaine est considérée comme la meilleur pour imiter les études *in vivo*.

Nous avons choisi le rat comme espèce expérimentale. En effet, sa peau est la plus proche de la peau humaine après la peau porcine (tableau 4).

**Tableau 4:** Epaisseur de la peau, de l'épiderme et de la couche cornée en fonction de l'espèce considérée (Talbi, 2018).

Espèce	Peau entière (mm)	Epiderme ( $\mu\text{M}$ )	CS ( $\mu\text{M}$ )
Homme	3,0	70	16,8
Porc	3,4	66 – 72	21 – 26
Rat	0,9 – 2,8	30,4 – 61,1	13,7 – 34,7
Souris	0,7	29	9
Souris Glabre	0,7	28,6	8,9

Toutefois, Il a été conclu que la peau de rat était plus perméable que la peau humaine dans une étude où ils ont comparé les deux peaux avec huit produits chimiques (Barber et al, 1992). D'autres résultats (Hughes et Edwards, 2010) (Marquet et al, 2019) confirment ces derniers où ils ont trouvé que l'absorption était plus importante chez le rat que dans la peau humaine.

L'étude de l'absorption percutanée dans la peau humaine excisée donne effectivement des informations qui sont pertinentes pour son homologue vivant lorsque des techniques équivalentes sont utilisées. Les données obtenues à partir des études de Franz, 1975 sur des préparations de peau *in vitro* montrent une bonne corrélation avec celles obtenues *in vivo*. Plus précisément, ces données démontrent que la technique *in vitro* est capable de différencier les

composés de faible perméabilité de ceux de forte perméabilité et de les classer dans un ordre qui se rapproche de celui observé *in vivo*.

**Scott et al, 1992** ont trouvé un accord étroit entre les valeurs *in vivo* et *in vitro* pour les quantités de composés rincés n'ayant pas pénétrés et celles associées à la peau des rats à tout moment avec huit composés. La concordance pour la quantité absorbée apparaît après un laps de temps de 2h. A 4, 10 et 24 heures, 84, 79 et 96%, respectivement, des données sur la dose absorbée *in vitro* se trouvaient dans la plage cible de concordance avec les données *in vivo*.

Cependant, des études de **Van Ravenzwaay et Leibold 2004** montrent que les essais *in vitro* sur les rats donnent toujours des résultats surestimés par rapport à ceux obtenus *in vivo* sur les rats des 14 composés étudiés préalablement.

La CF est moins coûteuse, facile à concevoir et manipuler, contrairement à la cellule à flux continu où la difficulté de connexion et la liaison potentielle du perméat à la tuyauterie constituent un problème majeur. Les cellules à flux continu fournissent le remplacement continu d'un milieu nutritif nécessaire pour maintenir des conditions physiologiques et sont donc recommandés pour les études sur le métabolisme.

**Addicks et al, 1987** Trouvent que ces deux cellules donnent des résultats comparables. Compte tenu des avantages offerts en termes de temps et de travail économisés grâce à son utilisation, la cellule à flux continu est préférable à la cellule statique pour la plupart des applications.

Une autre étude comparative de **Leveque et al, 2003** montre une similitude entre la CF et la MD où les profils de perméation déterminés étaient similaires. Cependant, le flux de l'acide salicylique était plus élevé avec la MD qu'avec la CF.

La crise sanitaire causée par la COVID – 19 nous a empêchée d'effectuer notre partie expérimentale et par la suite il n'y avait pas des résultats qui pouvaient être discutées avec les études citées ci – dessus.

## Conclusion

Lors du développement pharmacologique des formulations topiques cutanées, les études de perméation cutanée menées *in vitro* permettent d'obtenir des résultats pertinents pour l'étude d'absorption percutanée. Bien que les corrélations *in vitro/in vivo* pour la peau ne soient pas souvent présentées, les expériences ont montré que les essais *in vitro* sont prédictifs. Les expériences de perméation *in vitro* sont des outils utiles pour obtenir des informations sur l'absorption des médicaments à travers la peau.

Notre travail propose un protocole qui constitue un préambule pour réaliser une étude comparative entre l'absorption de diclofénac sodique et diclofénac diéthylamine. Nous avons proposé comme dispositif pour cette étude la cellule de Franz et comme source de membrane la peau de rat. Cette dernière donne des résultats potentiellement représentatifs et permet de faire une comparaison entre les différentes formulations topiques.

Dans une perspective d'améliorer ce protocole dans les prochaines études, il serait intéressant de :

- Remplacer la peau de rat par la peau humaine afin d'obtenir des résultats plus représentatifs.
- Multiplier les essais et augmenter le nombre des prélèvements de peau.
- Utiliser une cellule à flux continu à la place de la cellule conventionnelle pour garder la viabilité de la peau.
- Utiliser une deuxième méthode de dosage tel que l'HPLC et confronter ses résultats avec ceux obtenus avec le spectrophotomètre.

Toutefois, à condition que ces points critiques soient correctement traités, les études d'absorption percutanée *in vitro* peuvent fournir de nombreuses informations précieuses.

Malheureusement, due à la pandémie COVID – 19 ce protocole n'a pas été mis en œuvre afin de vérifier sa faisabilité, on souhaite qu'il serve de support pour d'autres travaux au futur qui viseront à compléter et continuer ce qu'on a entrepris et qu'on aimerait bien voir aboutir.

## Références

- AAT Bioquest. 2019. <https://www.aatbio.com/resources/buffer-preparations-and-recipes/pbs-phosphate-buffered-saline> consulté le 18 juin 2020.
- Addicks William J; Flynn Gordon L and Norman Weiner. Validation of a Flow-Through diffusion cell for use in transdermal research. Pharmaceutical research. 1987.
- Andreetta Alfredo, Verde Claudio; Babusci Maximo, Muller Raul, Simpson Maria I et Landoni Maria Fabiana. Comparison of Diclofenac Diethylamine Permeation Across Horse Skin from Five Commercial Medical Human Formulations. Journal of Equine Veterinary Science. 2011
- Anissimov Yuri G et al. Mathematical and pharmacokinetic modelling of epidermal and dermal transport processes. Advanced Drug Delivery Reviews. 2012.
- Article 230 de la Loi n° 18 – 11 du 18 Chaoual 1439 correspondant au 2 Juillet 2018 relative à la santé.
- Articles 208 et 209 de la loi n° 18-11 du 18 Chaoual 1439 correspondant au 2 juillet 2018 relative à la santé.
- Barbaras, Myriam. Soins du visage et produits cosmétiques en officine. Th: Pharmacie: Nancy 1. 1996.
- Barber Eugene ; Teetsel Nancy M; Kolberg Kathleen F; Derek Guest. A Comparative Study of the rates of in vitro percutaneous absorption of eight chemicals using rat and human skin. Toxicological Sciences: volume 19: Issue 4. 1992.
- Bégau Bernard et al. Institut national de la santé et de la recherche médicale. 07.01.2014 <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/medicament-developpement> consulté le 17/03/2020
- Benfeldt E; Hansen SH; Volund A; Menné T et Shah VP. Bioequivalence of topical formulations in humans: evaluation by dermal microdialysis sampling and the dermatopharmacokinetics method. J Invest dermatol. 2007.
- Bolzinger Marie-Alexandrine; Brinçon Stéphanie; Pelletier Jocelyne; Chevalier Yves. Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane. Current Opinion in Colloid & Interface Science 17. 2012.

- Borchardt T. Ronald; Philip L. Smith et Glynn Wilson. Models for Assessing Drug Absorption and Metabolism. The University of Kansas Lawrence. Springer. 1996.
- Buchwald P et Bodor N. J. A simple, predictive, structure-based skin permeability model. Journal of pharmacy and pharmacology. 2001.
- Chao Han, Charles B. Davis, Binghe Wang. Evaluation of Drug Candidates for Preclinical Development: Pharmacokinetics, Metabolism. Wiley-Interscience. 2010.
- Chast François. Histoire contemporaine des médicaments. Paris : Éd de la découverte, coll. Histoire des sciences. 1999.
- ChemBK.Diclofenac Diethylamine. 2015. <https://www.chembk.com/en/chem/Diclofenac%20Diethylamine> consulté le 18/08/2020
- Chen L; Lian G et Han L. Use of “bricks and mortar” model to predict transdermal permeation: model development and initial validation. Ind Eng Chem Res. 2008.
- Chen Tao et Lian Guoping; Kattou Panayiotis. In silico modelling of transdermal and systemic kinetics of topically applied solutes: model development and initial validation for transdermal nicotine. Springer Pharm Res. 2016.
- Chéry-Croze Sylviane, tinnitissimo - 1er trimestre 2010. <https://www.france-acouphenes.org/index.php/pathologies/dossiers/77-les-diverses-etapes-du-developpement-d-un-nouveau-medicament-et-de-son-acces-au-marche> consulté le 25/05/2020
- Chorghade Mukund S. Drug Discovery and Development. Two Volume Set. volume 2- Wiley-Interscience. 2007.
- Common technical document for the registration of pharmaceuticals for human use: organization of common technical document (CPMP/ICH/2887/99): European medicines agency. Février 2004. consulté le 02/08/2020
- Dancik Yuri; Miller Matthew A; Jaworska Joanna; Kasting Gerald B. Design and performance of a spreadsheet-based model for estimating bioavailability of chemicals from dermal exposure. Advanced Drug Delivery Reviews. 2012.
- Dangoumau jaques, et al. Pharmacologie Générale. Université Victor Segalen Bordeaux 2. ISBN N° 2-909176-24-X. 2006.
- De Fine Olivarius, F; Wulf, H. C; Crosby, J; Norval, M. Isomerization of urocanic acid after ultraviolet radiation is influenced by skin pigmentation: J Photochem Photobiol. 1999.
- Décret exécutif n°92-284 du 6 juillet 1992 relatif à l'enregistrement des produits pharmaceutiques à usage de la médecine humaine. Algérie 1992.

- Derraji S; EL M'Rabet M; Dahchour A; Cherrah Y; Bouklouze A. Validation d'une Méthode de Dosage du Diclofénac Sodique par UV-visible: Application à la décontamination de ce principe actif par des Adsorbants Naturels (Validation of an UV-Visible method for the assay of diclofenac sodium: Its use in decontamination rate of this active ingredient by natural adsorbents). *J. Mater. Environ. Sci.* 2014.
- Dréno B. Anatomie et physiologie de la peau et de ses annexes : *Annales de dermatologie.* Elsevier Masson France. 2009.
- European Food Safety Authority (EFSA). *Guidance on Dermal Absorption: Parma, Italy.* 2012.
- EZZARAD Soukaina et al. *Médicaments biologiques: Spécificités et applications en oncologie.* Rabat: Faculté de médecine et de pharmacie. 2018.
- Falson-Reig, F; Faivre, V et Pirot; F. *Nouvelles formes médicamenteuses.* Paris : Edition TEC & Doc, éditions médicales internationales. 2004.
- Fini Adamo; Bassini Glenda ; Monastero Annamaria and Cavallari Cristina. *Diclofenac Salts, Effect of the Counterions on the Permeation through Porcine Membrane from Aqueous Saturated Solutions Pharmaceutics v.4(3);* 2012.
- Flynn G.L. Physicochemical determinants of skin absorption, in *Principles of route to route extrapolation for risk assessment.* Elsevier Science. 1990.
- Franz Thomas J. *Percutaneous absorption on the relevance of in vitro data.* *The journal of investigative dermatology* 64. 1975.
- Freinkel Ruth K et Woodley David T. *The biology of the skin* New York: The Partenon Publishing Group, 2001.
- Geinoz Sandrine; Guy Richard H; Testa Bernard and Carrupt Pierre-Alain. *Quantitative Structure-Permeation Relationships (QSPR) to Predict Skin Permeation: A Critical Evaluation Pharmaceutical Research, Vol. 21, No. 1.* 2004.
- Gibbs, N; K., Tye, J et Norval, M. *Recent advances in urocanic acid photochemistry, photobiology and photoimmunology: Photochem Photobiol Sci.* 2008.
- Girotti-Chanu, Catherine. *Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de Microtea debilis.* Lyon. 2006.
- Godin Biana et Toutilou Elka. *Transdermal skin delivery: Predictions for humans from in vivo, ex vivo and animal models.* *Advanced drug delivery reviews.* 2007.

- González Michelle. ISPE Glossary of Pharmaceutical and Biotechnology Terminology. Florida. 2008.
- Gouda Ayman A; Kotb El-Sayed Mohamed I; Amin Alaa S; El Sheikh Ragaa. Spectrophotometric and spectrofluorometric methods for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs. Arabian journal of chemistry. 2013.
- Guillon J.M. Annales Pharmaceutiques Françaises. Elsevier Masson SAS, Volume 68, Numéro 5. 2010.
- Guy R. H et Russel L.M. Measurement and prediction of the rate and extent of drug delivery into and through the skin. Expert opinion of drug delivery.2009
- Hughes Michael F; Edwards Brenda C. In vitro dermal absorption of pyrethroid pesticides in human and rat skin. Elsevier. Toxicology and Applied Pharmacology. 2010.
- ICH. Le triangle de la CTD. 2019. [https://admin.ich.org/sites/default/files/2019-05/CTD\\_triangle.pdf](https://admin.ich.org/sites/default/files/2019-05/CTD_triangle.pdf) consulté le 15/08/2020
- Jepps Owen G; Dancik Yuri; Anissimov Yuri G; Roberts Michael S. Modeling the human skin barrier towards a better understanding of dermal absorption. Advanced Drug Delivery Reviews. 2012.
- Kanitakis J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. Eur. J. Dermatol. 2002.
- Kis Elsa E; Winter Gerhard; Myschik Julia. Devices for intradermal vaccination. Vaccine 30. 2012.
- Kwang-Jin Kim. Drug Absorption Studies; In Situ, In Vitro and in Silico Models. 2011.Lartize. R; Bouyer. M; Vinit. L et Bettega. G. Journal of Stomatology Oral and Maxillofacial Surgery 119: Porcine abdominal cutaneous flap model: A simple and reliable method. Elsevier. 2018.
- Le Hir, et al. Pharmacie galénique: Bonnes pratiques de fabrication des médicaments. Paris: Elsevier Masson.2009.
- Lebrun-Vignes B. Généralités et principes de la pharmacologie des traitements topiques cutanés : EMC – Dermatologie. 2016.
- Leclerc Moussie Emilie. Caractérisation fonctionnelle de deux acteurs de la différenciation terminale épidermique: cornéodesmosine et dermokine. 2010.
- Lehr Claus-Michael. Germany Cell Culture Models of Biological Barriers: In vitro test systems for drug absorption and delivery. Saarland University, Saarbrücken, 2002.

- Leveque N; Makki S; Hadgraft J; Humbert Ph. Comparison of Franz cells and microdialysis for assessing salicylic acid penetration through human skin. International Journal of Pharmaceutics. 2004.
- Lüllmann Heinz; Mohr Klaus; Ziegler Albrecht. Atlas de poche de pharmacologie. Paris : Lavoisier. 2001.
- Marieb, E.N. Anatomie et physiologie humaine. Paris, Bruxelles : DeBoeck Université, 1999.
- Marquet Fabrice ; Grandclaude Marie-Christine ; Ferrari Elisabeth et Catherine Champmartin. Capacity of an in vitro rat skin model to predict human dermal absorption: Influences of aging and anatomical site. Elsevier. Toxicology in Vitro. 2019.
- Martini, Marie-Claude. Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie Paris : Editions médicales internationales. 2003.
- Méliopoulos Alexandre; Christine Levacher. La peau structure et physiologie, 2ème édition : Lavoisier TEC & DOC. 2012.
- Mignani Serge; El Kazzouli Saïd; Bousmina Mosto et Majoral Jean-Pierre. Expand classical drug administration ways by emerging routes using dendrimer drug delivery systems: A concise overview. Advanced Drug Delivery Reviews. 2013.
- Moss G.P; Dearden J.C; Patel H et Cronin M.T.D. Quantitative structure– permeability relationships (QSPRs) for percutaneous absorption. Toxicol in vitro. 2002.
- Moss P Gary; Darren R et Gullick Simon C. Wilkinson. Predictive Methods in Percutaneous Absorption. Springer. 2015.
- Novartis Belgium. Les différentes phases d'un essai clinique. 2020. <https://www.novartis.be/fr/nos-activites/essais-cliniques/les-differentes-phases-d-un-essai-clinique> consulté le 20/03/2020
- OCDE. Ligne directrice 427 – Absorption cutanée : méthode in vivo. OCDE, Paris. 2004.
- OCDE. Ligne directrice 428 - Absorption cutanée : méthode in vitro. OCDE, Paris. 2004.
- Okai Ralph Nii; Amlalo Tettey; Kanfer Isadore; Skinner Michael F; Benfeldt Eva; Verbeeck Roger K. European journal of pharmaceutical sciences: Application of dermal microdialysis for the evaluation of bioequivalence of a ketoprofen topical gel. Elsevier. 2009.
- Organisation mondiale de la santé . Dénomination commune internationale. Publié 2020. <https://www.who.int/medicines/services/inn/innguidance/fr> consulté le 20/01/2020
- Ostojic A; Domergue E et Amici J-M. Analyse structurelle et biomécanique de la peau. Elsevier Masson SAS. Chirurgie dermatologique. 2012.

- Panayiotis Kattou; Guoping Lian; Stephen Glavin; Ian Sorrell; Tao Chen. Development of a two-dimensional model for predicting transdermal permeation with the follicular pathway: demonstration with a caffeine study. Springer Pharm Res. 2017.
- PermeGear. Franz cell. 2019. <https://permegear.com/franz-cells/> consulté le 03/07/2020
- Pierre Allain. Les médicaments. Paris : CdM éditions. 1996.
- Pradal Julie; Vallet Coralie M; Frappin Guillaume; Bariguan Frédérique; Stella Maria Lombardi. Importance of the formulation in the skin delivery of topical diclofenac: not all topical diclofenac formulations are the same. Journal of Pain Research. 2020.
- Pruniéras M. Précis de cosmétologie dermatologique. Edition Masson. Paris. 1981.
- PubChem. Diclofenac diethylamine. [Créé le 08/08/2005](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/115087) et modifié le 15/08/2020. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/115087> consulté le 18/08/2020
- PubChem. Diclofenac sodium. [Créé le 18/09/2005](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diclofenac-sodium) et modifié le 15/08/2020. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diclofenac-sodium> consulté le 18/08/2020
- Riviere Jim E; Jaber-Douraki Majid; James Lillich; Tahmineh Azizi; Hyun Joo; Kyoungju Choi; Ravi Thakkar & Nancy A. Monteiro-Riviere. Modeling gold nanoparticle biodistribution after arterial infusion into perfused tissue. Nanotoxicology. 2018.
- Riviere. J. Edmond; Karl F. Bowman J; Nancy A. Monteiro – Riviere; Lynn P. Dix and Michael P. Carver. Fundamental and applied toxicology: The Isolated Perfused Porcine Skin Flap (IPPSF). USA. Elsevier. 1986.
- Robert L et al. Percutaneous Absorption Drugs–Cosmetics–Mechanisms–Methodology 4e edition. Taylor & Francis group. 2005.
- Robert Pierre, et al. Dermopharmacologie clinique Sainte-Hyacinthe : Edisem, 1985.
- Ronald E et al. Dermal Absorption Models in Toxicology and Pharmacology. North Carolina University: Jim E. Riviere. 2005.
- Sachaa Manuel; Fauconb Laetitia; Hamonc Emmanuelle; Lyc Isabelle; Haltner-Ukomadua Eleonore. Ex vivo transdermal absorption of a liposome formulation of diclofenac. Biomedicine & Pharmacotherapy 111. 2019.
- Schaefer. U.F; Lehr. C.M. Measuring skin absorption in vitro. SOFW Journal. Germany. 2010.

- Schoenwald Ronald D. Pharmacokinetics in Drug Discovery and Development-CRC Press. 2002.
- Scott R. C. t; Carmichael N. G; Huckle K. R; Needhamii D and Savage T. Methods for measuring dermal penetration of pesticides. Fd Chem Toxic Vol 31 No. 7. 1993.
- Talbi Yacine. Conception d'un patch transdermique intelligent pour le monitoring et l'aide à la prise de médicament. Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse. 2018
- Turner Rick. New drug development: design, methodology and, analysis. Department of Clinical Research, Campbell University School of Pharmacy. Wiley-Interscience. 2007.
- Twarog Caroline . Particules Janus pour des applications industrielles : stabilités et incorporation de principes actifs. [University College Dublin](https://www.ucl.ac.uk). 2017.
- University of Newcastle. EDETOX. <https://apps.ncl.ac.uk/edetox/> consulté le 09/08/2020
- Van Der Maaden Koen; Jiskoot Wim; Bouwstra Joke. Microneedle technologies for (trans)dermal drug and vaccine delivery. Journal of Controlled Release. 2012.
- Van Ravenzwaay Bennard et Leibold Edgar. A comparison between in vitro rat and human and in vivo rat skin absorption studies. Human & Experimental Toxicology. 2004.
- Waller Derek G et Sampson Anthony P. Medical pharmacology and therapeutics. Elsevier. 2018.
- WordPress. Anatomie fonctionnelle de la peau. 2020. <https://microbiologiemedicale.fr/peau-anatomie/> consulté le 11/08/2020
- Zhang Donglu, Surapaneni Sekhar. Enabling Technologies in Drug Design and Development. Wiley-Interscience. 2012.

## Résumé

Les méthodes d'étude de l'absorption percutanée occupent une place importante dans la recherche et développement des médicaments. Les techniques *in vivo* demeurent un choix pertinent, mais elles sont peu réalisables pour des raisons économiques et éthiques. Cependant, les techniques *in vitro* peuvent résoudre ces problèmes et fournir des estimations précises. Maintenant, elles sont de plus en plus utilisées pour la prédiction de l'absorption percutanée des médicaments.

L'objectif de cette étude est de prédire l'absorption de Diclofénac sodique et de Diclofénac diéthylamine à travers une peau de rat. Ceci en utilisant la cellule de Franz et en comparant le protocole avec d'autres études. La formulation d'essai est appliquée à la surface d'un échantillon de peau séparant les deux compartiments d'une cellule de Franz. Les molécules de diclofénac restent sur la peau pendant un certain temps et dans des conditions spécifiques. Au cours de l'étude, on réalise plusieurs prélèvements à des intervalles de temps déterminés au niveau du milieu récepteur préparé préalablement par une solution saline tamponnée au phosphate pH=7,4 (PBS), ensuite on effectue l'analyse par méthode spectrophotométrique.

Cette étude permet d'établir un protocole qui apparaît réalisable et faisable si les conditions sont favorables, dans ce cas, cette étude peut fournir de nombreuses informations précieuses.

**Mots-clés :** absorption percutanée – cellule de Franz – peau de rat –diclofénac sodique – diclofénac diéthylamine – spectrophotométrie.

## Abstract

Methods for studying percutaneous absorption occupy an important place in drug research and development. *In vivo* techniques remain a relevant choice but are not practical for economic and ethical reasons. However, *in vitro* techniques can solve these problems and provide accurate estimates. They are now increasingly used for predicting percutaneous drug absorption.

The objective of this study is to predict the absorption of Diclofenac sodium and Diclofenac diethylamine through rat skin. This is done by using Franz cell and comparing the protocol with other studies. The test formulation is applied to the surface of a skin sample separating the two compartments of a Franz cell. The diclofenac molecules remain on the skin for a certain time and under specific conditions. In the current study, several samples are taken at specific time intervals from the receptor compartment prepared with phosphate buffered saline pH=7.4 (PBS) and analyzed by spectrophotometric method.

This study makes it possible to establish a protocol which appears feasible and practical if the conditions are suitable, in this case this study can provide a lot of valuable information.

**Keywords:** percutaneous absorption - Franz cell - rat skin - diclofenac sodium – diclofenac diethylamine - spectrophotometry.

## ملخص

تحتل طرق دراسة امتصاص الجلد للأدوية مكانة مهمة في مجال اكتشاف وتطوير الأدوية. تبقى التجارب داخل الجسم الحي الخيار الأمثل على أنها قليلة الاستعمال لأسباب اقتصادية وأخلاقية. لكن يمكن للتجارب داخل المختبر أن تحل هذه المشاكل وتقدم لنا تقديرات مضبوطة. وفي وقتنا الحالي هي مستعملة بكثرة من أجل توقع امتصاص الدواء عبر الجلد.

الهدف من هذه الدراسة هو توقع امتصاص كل من مركب ديكلوفيناك الصوديوم ديكلوفيناك ثنائي إيثيل أمين عبر جلد الجرذ. يتم هذا باستعمال خلية فرانز للانتشار ثم بمقارنة البروتوكول التجريبي بدراسات أخرى.

توضع المادة التجريبية على سطح عينة من جلد الجرذ الذي يفصل بين حجرتي خلية فرانز. تظل مادتي الديكلوفيناك على الجلد لمدة معينة ضمن شروط خاصة. طوال مدة الدراسة يتم أخذ عينات في فترات زمنية محددة على مستوى وسط الحجره المستقبلية المحضّر سابقا من محلول ملحي مخفف الفوسفات بدرجة حموضة 7.4. يُكشف عن كمية المادة المنتشرة باستعمال جهاز التحليل الطيفي.

هذه الدراسة تسمح بوضع بروتوكول عملي ويمكن تحقيقه إذا توفرت الشروط الملائمة، في هذه الحالة يمكن للدراسة الحالية تقديم عدة معلومات قيمة.

**الكلمات المفتاحية:** الامتصاص الجلدي – خلية فرانز للانتشار – جلد الجرذ – ديكلوفيناك الصوديوم – ديكلوفيناك ثنائي إيثيل أمين – التحليل الطيفي.