

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ de BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Pharmacie Industrielle

Intitulé du mémoire

**Etude comparative de la cinétique de
dissolution de deux médicaments Galvus,
Glucophage et leurs génériques**

Présenté par :

DRICI Djazia

EZZIANE Nesrine

Encadré par :

Dr. ZERMANE Faiza

Année universitaire 2015/2016

RESUME

L'objectif de notre travail vise à étudier une cinétique comparative dont le but d'évaluer la similarité des profils de dissolution et d'assurer leurs bioéquivalence, Nous s'intéressons particulièrement à deux médicaments, le premier est d'une forme à libération immédiate ; le princeps est sous le nom commercial de « **GLAVUS FC tablets 50mg comprimé** » et son générique « **GLAVIP FC tablets 50mg comprimé** » tandis que le second est d'une forme à libération prolongée ; le princeps « **GLUCOPHAGE 1g LP Tablets comprimé** » et son générique « **METFOR 1g LP Tablets comprimé** », en faisant appel à quelques méthodes d'analyse physico-chimiques.

L'étude de la première spécialité à libération immédiate effectuée dans les trois milieux de dissolution à différent pH (HCl, pH=4.5, pH=6.8) indique une similarité entre les profils de dissolution de princeps et son générique pour le milieu HCl et une non similarité pour les deux autres milieux à pH= 4.5 et pH= 6.8.

L'étude de la deuxième spécialité à libération prolongée permet de confirmer la similarité entre le princeps et son générique dans les quatre milieux de dissolution étudiés (l'eau purifiée, pH=1.2, pH= 4.5, pH= 6.8).

L'étude de la modélisation des profils de dissolution par le biais des modèles mathématique indique qu'avec le médicament à libération immédiate le modèle d'El-yazigi est bien ajustée, Par contre l'ajustement des autres modèles (d'Ordre zéro, Higuchi modifiée) donnent des valeurs de R^2 qui sont tous loin de 1 de ce fait nous les ignorons.

L'ajustement des modèles mathématiques sur les profils de dissolution des formes à libération prolongée montre l'applicabilité de tous les modèles étudiés (El-Yazigi, d'Ordre zéro, Higuchi modifié) avec des coefficients de corrélation proche de 1 et des paramètres caractéristiques des modèles ayant une signification physique.

ABSTRACT

The aim of our work is to study comparative kinetics which to assess the similarity of dissolution profiles and ensure their bioequivalence, we are particularly interested in two drugs, the first is an immediate-release form ; is the originator under the trade name "GLAVUS FC tablets 50mg tablet" and generic "GLAVIP FC tablets 50mg tablet" while the second is an extended-release form; the originator "GLUCOPHAGE tablet Tablets 1g LP" and generic "METFOR 1g LP Tablets compressed" by using some –chimiques physical analysis methods.

The study of the first specialty immediate release within three to perform different dissolution media pH (HCl, pH = 4.5, pH = 6.8) indicated a similarity between the originator and its dissolution profiles for the generic HCl medium and no similarity to the two other media at pH = 4.5 and pH = 6.8.

The study of the second extended release specialty confirms the similarity between the originator and generic in four dissolution media studied (purified water, pH = 1.2, pH = 4.5, pH = 6.8).

The study of modeling the dissolution profiles through mathematical models indicate that with the immediate-release drug to the El-Yazigi model is adjusted by adjusting against other models (Zero Order , Higuchi modified) give R² values which are far from 1 thereby ignore us.

The adjustment of mathematical models on dissolution profiles of sustained release forms shows the applicability of all the models studied (El-Yazigi, of zero order, Higuchi modified) with correlation coefficients close to 1 and the characteristic parameters of models with physical meaning.

والهدف من عملنا هو لدراسة حركية نسبية لتقييم تشابه ملامح حل وضمان التكافؤ الحيوي، ونحن مهتمون بشكل خاص في عقارين، الأول هو شكل فوري الإفراج. هو المنشئ تحت الاسم التجاري " غلافور قرص 50 مغ " وعامة " غلافيب قرص 50 مغ " في حين أن الثاني هو شكل موسع الإفراج. المنشئ " جلوكوفيج قرص 1غ " وعامة " متفور قرص 1غ " باستخدام بعض أساليب التحليل - الكيميائية المادية.

و أشارت الدراسة إلى أول الإفراج الفوري تخصص في غضون ثلاثة إلى أداء مختلف وسائل الإعلام ودرجة الحموضة حل (حمض الهيدروكلوريك، ودرجة الحموضة = 4.5، ودرجة الحموضة = 6.8) تشابه بين المنشئ وملامح حله على المدى المتوسط حمض الهيدروكلوريك عام و أي تشابه لاثنين من وسائل الإعلام الأخرى في الرقم الهيدروجيني = 4.5 ودرجة الحموضة = 6.8.

دراسة الإصدار الثاني التخصص الموسع تؤكد التشابه بين المنشئ وعام في أربع وسائل الاعلام حل درس (تنقية المياه، ودرجة الحموضة = 1.2، ودرجة الحموضة = 4.5، ودرجة الحموضة = 6.8).

دراسة نمذجة ملامح حل من خلال النماذج الرياضية تشير إلى أن مع يتم ضبط المخدرات فوري الإفراج إلى نموذج- يازجي عن طريق تعديل على نماذج أخرى (صفر ترتيب، تعديل هيجوتشي) إعطاء قيم R2 والتي هي بعيدة كل البعد عن 1 وبالتالي تجاهل لنا.

تعديل النماذج الرياضية على ملامح حل اشكال الافراج حقت يظهر انطباق جميع نماذج درس (جريدة يازجي، من أجل الصفر، المعدل هيجوتشي) مع معاملات الارتباط على مقربة من 1 والمعلومات المميزة نماذج مع المعنى المادي.

REMERCIEMENT

Nous commençons par remercier Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la possibilité de mener cette tâche jusqu'au bout.

Tout d'abord, nous exprimons toute notre gratitude et notre respect à notre directrice de thèse, Madame F. ZERMANE Maitre de conférences A à l'université de Saad Dahleb de Blida 1, pour son soutien permanent, ses conseils, sa patience et pour l'efficacité de son encadrement, sans oublier Mr. BOURASS Professeur au sein de la même université pour son aide au moment où nous en avons vraiment besoin.

Nous adressons également nos vifs remerciements à Madame le Professeur HADJ ZIANE au sein de la même université pour son dévouement inépuisable, sa compréhension et son soutien indéfectible.

Ce travail a été réalisé au sein de l'Unité d'EL KENDI qui se situe à Zéralda, et il n'aurait pu être réalisé sans le soutien et l'aide de plusieurs personnes. Donc, c'est avec plaisir que nous tenons à remercier plus particulièrement le directeur du laboratoire de contrôle qualité: Mr. K.BASTA pour son accueil chaleureux, Madame K. BEKKARI pour ses conseils bénéfiques à plus d'un titre et son amabilité ainsi que Madame S. DELlici pour son soutien moral et son dévouement lors de l'encadrement dont nous avons tiré un grand profit.

Nous exprimons également nos sincères remerciements à tous les membres du laboratoire d'EL-KENDI.

Nos remerciements, avec une mention particulière, vont à l'ensemble de nos professeurs et nos camarades de l'Université de Saad Dahlab.

Nous remercions nos très chers parents pour leur amour inestimable, leur présence, leur confiance, leur soutien et pour leurs sacrifices. Nous tenons à remercier nos frères et sœur pour leur amour, leur complicité et leur soutien.

Enfin, nous adressons une pensée amicale à toutes les personnes que nous n'avons pas citées et qui, de près ou de loin, nous ont aidées.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1: Informations générales sur les spécialités utilisées	26
Tableau 2.2: Différents constituants et leurs rôles	27
Tableau 2.3: Les conditions de dissolution ciblées pour les différentes spécialités	28
Tableau 3.1: Cinétique de dissolution de Vildagliptine (Glavip, Galvus) pour les trois milieux	36
Tableau 3.2: Facteur de similarité et de différence de princeps (Galvus) et son générique (Glavip).....	40
Tableau 3.3: Cinétique de dissolution de Chlorhydrate de Metformine (Metfor, Glucophage) pour les quatre milieux	41
Tableau 3.4: Facteur de similarité et de différence de princeps (Glucophage) et son générique (Metfor)	45
Tableau 3.5: Paramètres Caractéristiques des modèles mathématiques appliqué sur Glavip et Galvus	46
Tableau 3.6: Paramètres Caractéristiques des modèles mathématiques appliqué sur Metfor et Glucophage.....	47

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1: Comparaison entre le médicament princeps et générique.....	5
Figure 1.2: Le cheminement du médicament dans l'organisme	7
Figure 1.3: Evolution des concentrations plasmatiques d'un principe actif ou l'intensité de l'effet en fonction du temps.....	11
Figure 1.4: Photo montrant un appareil de dissolution.....	18
Figure 2.1: Structure chimique de Vildagliptine	24
Figure 2.2: Structure chimique de Chlorhydrate de Metformine	25
Figure 3.1: Chromatogramme de la solution standard de Vildagliptine.....	35
Figure 3.2: Cinétique de dissolution de princeps et son générique.....	37
Figure 3.3: Evolution de taux de libération du PA de Galvus (princeps) et Glavip (générique)	38
Figure 3.4: Evolution de taux de libération du PA de Galvus (princeps) et Glavip (générique)	39
Figure 3.5: Cinétique de dissolution de Metfor (générique) et Glucophage (princeps).....	42
Figure 3.6: Cinétique de dissolution de Metfor (générique) et Glucophage (princeps).....	43
Figure 3.7: Cinétique de dissolution de Metfor (générique) et Glucophage (princeps)	44
Figure 3.8: Cinétique de dissolution de Metfor (générique) et Glucophage (princeps)	45

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

CHAPITRE1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Généralité sur les médicaments	
1.1.1. Définition de la spécialité pharmaceutique.....	1
1.1.2. Définition du médicament.....	1
1.1.3. Composition d'un médicament.....	1
1.1.4. Différentes formes pharmaceutiques solides.....	2
1.1.5. Médicament princeps	3
1.1.6. Médicament générique	3
1.2. Devenir du médicament dans l'organisme	6
1.2.1. Phase biopharmaceutique	8
1.2.2. Phase pharmacocinétique	8
1.2.3. Phase pharmacodynamique.....	10
1.2.4. Notion de biodisponibilité et de bioéquivalence.....	11
1.3. La cinétique de dissolution	13
1.4. Méthode d'analyse.....	20
1.4.1. Spectroscopie d'absorption dans l'UV-Visible.....	20
1.4.2. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	21

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

2.1. Caractéristiques sur les deux principes actifs	24
2.2. Renseignement sur les différentes spécialités pharmaceutiques.....	26
2.3. Dissolution de Vildagliptine et de Chlorhydrate de Metformine.....	27
2.4. Méthode d'analyse par HPLC et UV-Visible	30
2.5. Calcul et statistique d'analyse	31
2.6. Méthode de comparaison des profils de dissolution	32
2.7. Ajustement des profils expérimentaux de dissolution	33

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Résultats de la dissolution du médicament à libération immédiate	35
3.1.1. Résultats de la dissolution de Vildagliptine	37
3.1.2. Calcul des facteurs de similarité (f2) et de différence (f1)	40
3.2. Résultats de la dissolution du médicament à libération prolongée.....	40
3.2.1. Résultats de la dissolution de Chlorhydrate de Metformine.....	42
3.2.2. Calcul des facteurs de similarité (f2) et de différence (f1)	45
3.3. Résultats de la modélisation de cinétique de dissolution.....	46

CONCLUSION

REFERENCE

ANNEXES

INTRODUCTION

L'organisation mondiale de la santé préconise l'utilisation des médicaments génériques afin d'atteindre son objectif de santé pour tous en matière de médicament.

L'utilisation des génériques reste le seul moyen de rendre les médicaments essentiels accessibles à une large part de la population des pays du tiers monde.

Afin de démontrer que deux médicaments, contenant le même principe actif, sont équivalents du point de vue thérapeutique, le procédé le plus direct consiste à réaliser un essai clinique d'efficacité et de tolérance. En pratique, un tel essai s'avère délicat à mettre en œuvre tant par son coût, par le nombre important de sujets nécessaires, par sa durée, que par son fondement éthique.

Ces contrôles peuvent cependant être nécessaires lors des appels d'offre pour s'assurer de la qualité des produits génériques. Ainsi, la technique qui nous permet de déterminer in vitro cette bioéquivalence est la dissolution. En effet, un test de dissolution in vitro, réalisé dans les conditions identiques, montre des résultats semblables pour les deux formes ou lorsqu'une corrélation acceptable entre les vitesses de dissolution in vivo et in vitro a été mise en évidence et le profil de dissolution in vitro de la nouvelle forme se superpose à celui du produit déjà approuvé.

Pour s'assurer de la qualité des génériques fabriqués au niveau d'El-Kendi, la question reste à savoir si le principe actif d'un générique sera délivré dans l'organisme de la même manière qu'il l'est à partir de la forme pharmaceutique de la spécialité de référence et répond aux mêmes normes d'efficacité et de sécurité comme l'exige la pharmacopée de référence (USP).

La réponse à cette question est l'objectif de ce modeste travail qui consiste à faire une étude comparative des profils cinétiques des dissolutions entre les génériques et leurs princeps.

Afin de structurer notre mémoire, nous avons opté pour la démarche suivante :
Une première partie relative à une synthèse bibliographique dans laquelle sont regroupés :

- Un ensemble d'information scientifique concernant, des généralités sur les médicaments ainsi que leur devenir dans l'organisme.
- Un aperçu sur la cinétique de dissolution.

Un deuxième chapitre consacré aux :

- Matériels et méthodes utilisés pour la caractérisation des deux principes actifs étudiés (Vildagliptine et Chlorhydrate de Metformine) et pour la réalisation de toutes les expériences et les tests de dissolution.

Enfin un troisième chapitre qui consiste à :

- Présenter tous les résultats expérimentaux ainsi que leurs interprétations et discussions en étudiant la cinétique de dissolution des deux médicaments.
- Une analyse de régression non linéaire d'un ensemble de modèles mathématiques et statistiques pouvant décrire potentiellement la cinétique de ces deux médicaments.

Ce travail sera achevé par une conclusion générale sur les résultats obtenus.

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. GENERALITE SUR LES MEDICAMENTS

1.1.1. DEFINITION DE LA SPECIALITE PHARMACEUTIQUE

Un médicament est appelé aussi spécialité pharmaceutique qui désigne tout médicament préparé à l'avance, présenté sous un conditionnement particulier et caractérisé par une dénomination spéciale. [1]

1.1.2. DEFINITION DU MEDICAMENT

On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme une thérapie, possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique... [2]

1.1.3. COMPOSITION D'UN MEDICAMENT

Un médicament est constitué de principe actif et d'excipient.

1.1.3.1. Le principe actif

Le principe actif est tout composant d'un médicament qui est destiné à exercer une action pharmacologique ou un autre effet direct en rapport avec le diagnostic, le traitement ou la prévention d'une maladie, ou à agir sur la structure ou les fonctions de l'organisme humain ou animal par des moyens pharmacologiques. Un médicament peut contenir plusieurs principes actifs. [3]

1.1.3.2 .L'excipient

L'excipient désigne tout composant, autre que le(s) principe(s) actif(s), 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(x) principe(s) actif(s), 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, la facilité de fabrication. La formulation d'un médicament comprend généralement plusieurs excipients. [3]

1.1.4. DIFFERENTES FORMES PHARMACEUTIQUES SOLIDES

On distingue différentes formes pharmaceutiques solides, que nous présentons de la manière suivante:

1.1.4.1. Formes solides à libération immédiate

Les formes à libération immédiate ont pour but de libérer le principe actif le plus rapidement possible, dès leur administration. Les principales formes galéniques solides destinées à la voie orale sont : (les capsules molles, les gélules, les comprimés, les comprimés enrobés). [4]

1.1.4.2. Formes solides à libération accélérée

Les formes à libération accélérée sont des préparations dont la vitesse de libération est plus élevée que celle d'une forme à libération conventionnelle destinée à la même voie (comprimés effervescents). [5]

1.1.4.3. Formes solides à libération prolongée

Les formes à libération prolongée sont des préparations dont la vitesse de libération du principe actif est plus lente que celle d'une forme à libération conventionnelle destinée à la même voie (comprimés enrobés). [5]

La substance active est alors enfermée dans une trame qui permet une diffusion progressive et donc une résorption tout au long de l'absorption digestive. [6]

1.1.4.4. Formes solides à libération contrôlée

Les formes à libération contrôlée sont définies comme étant un système capable de délivrer une substance active au niveau d'une cible fixée, à une vitesse et pendant une durée prévue pour obtenir l'effet thérapeutique désiré [7]. Elle contrôle la vitesse de

libération du PA afin d'obtenir des taux plasmatiques constants compris dans la fenêtre thérapeutique pendant une période de temps déterminée [8].

1.1.4.5. Formes à libération retardée

Ces systèmes présentent un temps de latence entre l'administration de la forme pharmaceutique et la libération du PA. Pour protéger les substances détruites en milieu acide, on peut élaborer des comprimés entourés de cire, résistant ainsi à la désintégration par le suc gastrique. La libération n'est pas rallongée mais seulement déplacée, et la résorption se fera essentiellement au niveau intestinal (ex. formes gastrorésistantes). [6]

1.1.5. MEDICAMENT PRINCEPS

Un médicament princeps appelé médicament d'origine ou médicament de référence est un médicament mis au point par un laboratoire pharmaceutique qui en garde l'exclusivité jusqu'à expiration du brevet. Une copie du produit original peut ensuite être développée et commercialisée par d'autres laboratoires: C'est le médicament générique. [9]

1.1.6. MEDICAMENT GENERIQUE

1.1.6.1. Définition

Le médicament générique est un produit qui possède la même composition qualitative et quantitative en principe actif, la même forme pharmaceutique qu'un médicament leader. La bioéquivalence avec le médicament de marque (princeps) a été démontrée par des études appropriées de biodisponibilité. [10]

Un générique peut aussi être défini comme la copie d'un médicament original, dont la production et la commercialisation sont rendues possibles par l'expiration de la protection, conférée par le brevet couvrant le principe actif original. Le médicament générique est fabriqué par un laboratoire pharmaceutique agréé par les pouvoirs publics. Il doit répondre aux mêmes critères de qualité, efficacité et sécurité (Q, E, S), que le produit de référence et il fait l'objet de contrôles identiques par l'agence du médicament du pays concerné. Le générique n'est pas nécessairement copie conforme du princeps en termes de forme, couleur ou taille. [11]

Le terme médicament générique à été élargi au concept d'équivalence thérapeutique par la note explicative du Comité Européen des Spécialités Pharmaceutiques (décembre 1991) qui recouvre des "produits pharmaceutiques alternatifs" qui peuvent différer par la forme pharmaceutique et la forme chimique du principe actif, si ces différences n'induisent pas de modifications qui pourraient être significatives sur le plan clinique. [12]

Lorsqu'un laboratoire découvre un médicament, il garde l'exclusivité de sa commercialisation jusqu'à l'expiration du brevet. Une copie du produit original peut alors être développée et commercialisée par un autre laboratoire. Le brevet est déposé pour 20 ans par un laboratoire le jour de la découverte d'une nouvelle molécule qu'il pense pouvoir commercialiser. La durée réelle est alors très variable selon le nombre d'années d'études préliminaires et les délais administratifs d'obtention de l'AMM. [13]

1.1.6.2. Types des génériques [14-15]

Trois catégories de génériques peuvent être distinguées en fonction du lien qui les relie au médicament de marque:

➤ **Les génériques copie-copie ou intégraux**

Ce sont des copies conformes du princeps. C'est-à-dire même dosage en PA, mêmes excipients, même forme galénique, mêmes sels. C'est la plupart du temps le laboratoire du princeps qui le commercialise.

➤ **Les génériques essentiellement similaires ou équivalents**

Ils Possèdent le même dosage en PA et la même forme galénique que le médicament princeps mais tous les excipients peuvent changer. Les études de bioéquivalence devront prouver que les excipients ne modifient pas les caractères pharmacocinétiques.

➤ **Les génériques "plus" ou assimilables**

La forme chimique (sels, isomères, mélange d'isomères...) change vis-à-vis du princeps. Ainsi la forme galénique peut être elle aussi différente du fait de ces modifications. Tout comme pour le similaire, les études de bioéquivalence devront être prouvées.

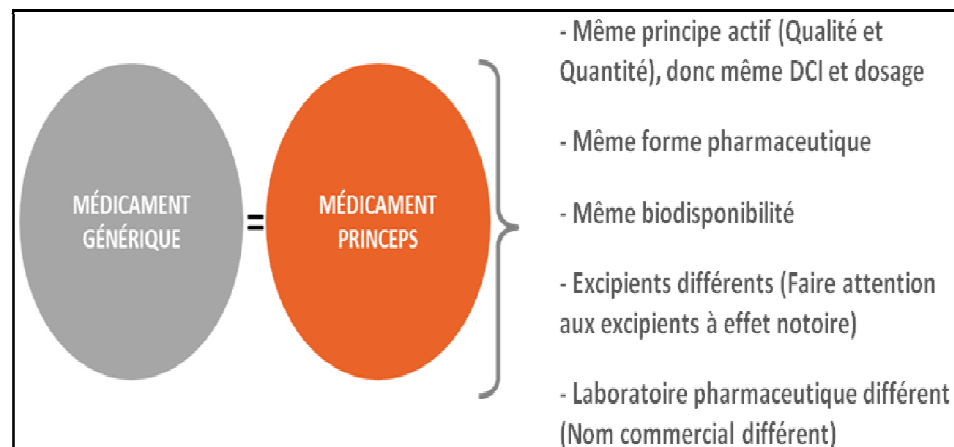


Figure (1.1): Comparaison entre le médicament princeps et générique.

1.1.6.3. Qualité d un médicament générique

La qualité d'un médicament générique est déterminée par trois critères :

- La qualité de la matière première.
- La stabilité du produit.
- La bioéquivalence.

Les deux premiers critères sont mis en évidence par des contrôles physicochimiques, donc faciles à mettre en évidence.

La bioéquivalence se rapporte indirectement à la notion de l'efficacité, c'est l'équivalence des biodisponibilités. On entend par cette dernière « la vitesse et l'intensité de l'absorption dans l'organisme du principe actif ou de sa fraction thérapeutique destinée à devenir disponible au niveau des sites d'action ». [16]

1.2. DEVENIR DU MEDICAMENT DANS L'ORGANISME

Quelle que soit la voie d'administration considérée, les galénistes poursuivent un but commun : celui d'optimiser la biodisponibilité des médicaments à leur site d'action et de réduire les effets indésirables accompagnant l'administration de certains principes actifs. [3]

Pour la plupart des médicaments, la voie orale demeure la voie d'administration privilégiée. Les formes prises par voie orale présentent en effet une grande facilité d'administration pour le patient, tandis que pour les chercheurs, la physiologie du système gastro-intestinal (GI) est facilement modélisable. Une absorption complète, uniforme et

reproductible du médicament administré est recherchée afin d'optimiser l'efficacité thérapeutique, en obtenant les concentrations plasmatiques désirées endéans, et pendant un laps de temps déterminé [17].

Les phénomènes qui vont se succéder dans l'organisme, après son introduction sont classiquement désignés sous le nom de devenir : il s'agit d'un processus dynamique qui conduit à l'effet thérapeutique du principe actif. Le devenir du médicament dans l'organisme, comporte lui-même trois phases distinctes :

- La phase biopharmaceutique,
- La phase pharmacocinétique,
- La phase pharmacodynamique.

Figure (1.2) : Le trajet du médicament dans l'organisme.

1.2.1. PHASE BIOPHARMACEUTIQUE

La phase biopharmaceutique d'un médicament correspond à la phase de mise à disposition de l'organisme des principes actifs [18]. Cette phase est constituée par l'ensemble des événements compris entre l'administration du médicament et l'absorption proprement dite du principe actif [19]. Elle comprend une étape de libération suivie d'une étape de dissolution. [20]

1.2.1.1. Etape de libération

L'étape de libération qui a généralement lieu par la désintégration et la désagrégation de la forme solide en particules de petite taille [20]. Elle aboutit à une dispersion fine du principe actif à l'état solide dans le milieu aqueux du site d'administration. Une fois le principe actif libéré, il devrait se dissoudre dans les liquides biologiques avant d'être résorbé [21].

1.2.1.2. Etape de dissolution

Pour traverser les membranes biologiques ou pour être absorbé, le principe actif doit être dispersé à l'état moléculaire (donc non ionisé) en milieu aqueux, au site d'absorption. C'est l'étape de dissolution. [20]

1.2.2. PHASE PHARMACOCINETIQUE

La pharmacocinétique se définit comme l'étude qualitative et quantitative du devenir d'un principe actif après sa libération et sa dissolution dans les milieux de l'organisme. Elle comporte quatre phases : absorption, distribution, métabolisme, élimination (ADME). Le principe actif, après son absorption, va être transporté par la circulation sanguine, vers les différents organes, et en particulier, l'organe cible, en même temps qu'il va plus ou moins se lier aux protéines plasmatiques ou se fixer dans certains tissus. S'il est administré par voie orale ou rectale, le principe actif va traverser le foie (premier passage hépatique) et les reins où il sera métabolisé et excrété. [3]

Les quatre phases de la pharmacocinétique d'un médicament (ADME) se définissent comme suit :

1.2.2.1. Absorption

Une fois la dissolution obtenue, le médicament doit franchir une barrière digestive qui le sépare de la circulation générale principalement. Parmi les différents mécanismes, deux sont importants : [22]

- **Diffusion passive:** La diffusion se fait selon un gradient de concentration, sans aucune dépense d'énergie jusqu'à atteindre un état d'équilibre. [23]
- **Diffusion active:** Ce transport actif s'effectue contre un gradient de concentration et il nécessite de l'énergie et des transporteurs. [23]

L'absorption se définit comme le processus par lequel le médicament inchangé passe de son site d'administration à la circulation générale (site de mesure). La quantité de médicament qui atteint la circulation générale (ou systémique) est fonction de la quantité absorbée par l'épithélium digestif (et donc de la dose administrée) mais également, d'autres processus d'élimination pré-systémiques :

- Dégradation dans la lumière intestinale
- Métabolisme au niveau des entérocytes (cf métabolisme).
- Captage hépatique important au premier passage. Lorsque le médicament a une forte affinité pour l'hépatocyte et les enzymes hépatiques, une fraction de la dose absorbée est captée lors du premier passage, c'est à dire avant même d'atteindre la circulation générale. La quantité de médicament retrouvée dans la circulation systémique est alors diminuée. C'est l'effet de premier passage hépatique. [22]

1.2.2.2. Distribution

La distribution du médicament dans l'organisme, sa fixation éventuelle au niveau tissulaire ou sur les protéines plasmatiques est l'intensité de ses liaisons, en conditionnant la vitesse d'élimination et par conséquent la durée d'action. [24]

1.2.2.3 Métabolisme

La biotransformation (métabolisme) correspond à la transformation enzymatique essentiellement hépatique, du médicament en métabolite, c'est la disparition du principe actif de l'organisme par des transformations chimiques dont l'ensemble constitue son métabolisme. Il a globalement deux rôles :

- ✓ Inactiver le médicament, donc diminuer sa toxicité potentielle.
- ✓ Rendre le médicament plus hydrosoluble, donc plus facile à éliminer au niveau rénal ou biliaire.

La plupart des métabolites produits sont inactifs, mais la biotransformation peut générer des métabolites actifs à partir d'une molécule mère inactive permettant ainsi de prolonger l'action du médicament (Ex: Clopidogrel), et aussi générer des métabolites toxiques (Ex: métabolites du paracétamol). Le foie est l'organe principal des biotransformations, du fait de son débit sanguin élevé et de sa richesse enzymatique [25].

1.2.2.4. Elimination

L'élimination se fait essentiellement par voie rénale d'un médicament ou de son métabolite. Cette élimination est fonction de :

- Volume de plasma débarrassé (épuré) du médicament qu'il contient par unité de temps.
- Clairance totale qui est la somme des clairances partielles :

$$Cl \text{ totale} = Cl \text{ rénale} + Cl \text{ hépatique (métabolique et biliaire)}. [22]$$

1.2.3. PHASE PHARMACODYNAMIQUE

Le principe actif, dans le sang, va atteindre l'organe cible, ou il pourra exercer son action pharmacologique et /ou biochimique : on observe alors, une réponse clinique, qui apparaît après un temps de latence, fonction de l'importance des deux phases précédentes. Cela se traduit par la courbe de la figure 1.3 ou sont représentées les concentrations du principe actif dans le plasma, en fonction du temps après une administration orale par exemple.

La courbe est elle-même composée de deux parties : une partie ascendante qui correspond à la phase d'absorption, et une partie descendante, qui est la phase d'élimination. S'il y a corrélation entre les taux sanguins et l'efficacité, cette courbe peut aussi représenter l'intensité de l'effet en fonction du temps.

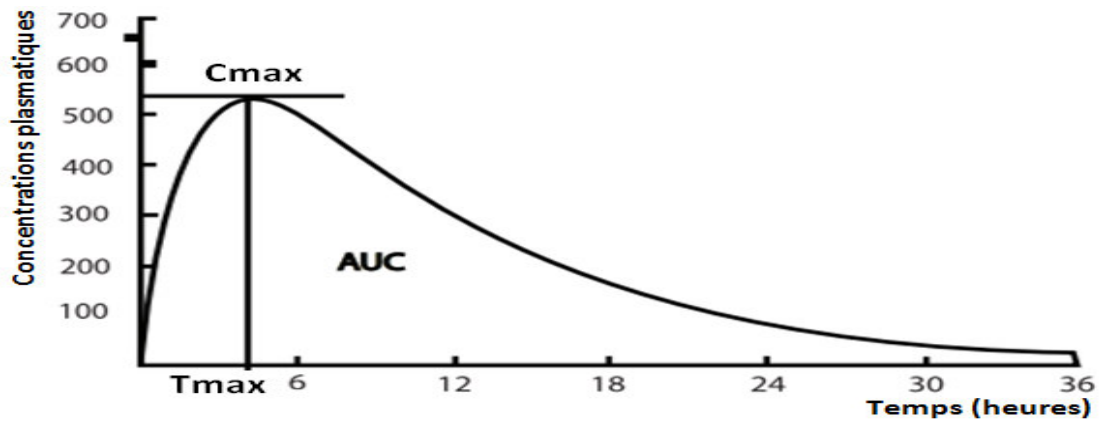


Figure (1.3) : Evolution des concentrations plasmatiques d'un principe actif ou l'intensité de l'effet en fonction du temps. [3]

1.2.4. NOTION DE BIODISPONIBILITE ET DE BIOEQUIVALENCE

1.2.4.1 LA biodisponibilité

Deux médicaments sont dits bioéquivalents s'ils présentent une biodisponibilité identique. La biodisponibilité est la fraction de la dose de médicament qui atteint la circulation générale et la vitesse avec laquelle elle l'atteint. [26]

La biodisponibilité est donc composée de deux variables : quantité et vitesse, variables que l'on peut déterminer à partir des courbes de taux sanguins comme celle déjà présentée dans la figure (1.3) La variable quantité est déterminée par la surface sous la courbe des taux sanguins (SSC) et la variable vitesse, par la combinaison des deux valeurs suivantes : la concentration maximale (C_{max}) et le temps nécessaire pour atteindre cette concentration maximale (T_{max}). [3]

Pour toutes les voies d'administration autres que la voie intraveineuse, la biodisponibilité peut être incomplète en raison des phénomènes suivants : des caractères physico-chimiques (degré d'ionisation (pka), solubilité, taille et morphologie de la molécule), ainsi que la voie d'administration (voies orale ou rectale...), la forme galénique et le processus de fabrication, l'effet du premier passage hépatique, aussi les facteurs physiologiques (âge, alimentation, pH digestif, vitesse de vidange gastrique et la mobilité intestinale ...), et les facteurs pathologiques (insuffisances hépatiques, cardiaque, digestive...). [27] (Voir annex1).

A. Le facteur quantitatif (F) de biodisponibilité

La biodisponibilité ne peut être appréciée que par rapport à une forme de référence. On distingue ainsi:

- ❖ **La biodisponibilité absolue:** La biodisponibilité absolue est déterminée lors de l'étude d'un nouveau médicament, où une forme extravasculaire est comparée à la forme de référence qui est le médicament administré par voie intraveineuse. [27]
- ❖ **La biodisponibilité relative:** où la forme de référence est administrée par une autre voie que la voie intraveineuse. Cette forme de référence peut être administrée par la même voie que la forme à tester, mais il s'agit soit d'une autre forme galénique (solution aqueuse, suspension..) soit d'une autre formulation d'une forme commercialisée depuis longtemps (cas des génériques). La détermination de la biodisponibilité relative est utilisée pour comparer des formes galéniques. Elle est obligatoire pour tout changement de formulation (changement d'excipient...) et avant commercialisation d'un médicament «générique».

En général la quantification du facteur (F) s'effectue par comparaison des surfaces sous la courbe des concentrations en fonction du temps (SSC) après administration de chaque forme séparément. Celles-ci sont en effet proportionnelles à la quantité de médicament présent dans la circulation générale. F est compris entre 0 et 1. [27]

B. Le facteur vitesse

Ce facteur est apprécié par la constante de vitesse d'absorption K_a ou plus facilement par la concentration maximale (C_{max}) et le temps pour atteindre cette concentration (T_{max}). [27]

1.2.4.2. Bioéquivalence

La bioéquivalence est la similitude des effets thérapeutiques, elle est réalisée lorsque les deux spécialités, princeps et générique, ont la même pharmacocinétique, autrement dit la même biodisponibilité.

C'est une étude in vivo, qui permet de s'assurer que le devenir du principe actif dans l'organisme (absorption, distribution, métabolisme et élimination) est superposable au médicament princeps, administré à la même dose et dans des conditions similaires.

L'étude est réalisée chez des volontaires sains. Elle consiste à comparer, après administration du médicament générique ou du médicament princeps, la concentration plasmatique du produit actif. Chaque volontaire reçoit en insu, une dose du princeps, puis la même dose du générique, ou inversement. Et dans chaque cas, des prélèvements sanguins permettent de mesurer l'évolution de la concentration dans le sang du principe actif au cours du temps. Une courbe comportant en abscisse le temps (à partir de la prise du médicament) et en ordonnée la concentration plasmatique en principe actif, est établie.

Les courbes obtenues pour le médicament générique et pour le princeps sont ensuite comparées pour chaque individu. Si ces derniers présentent une similarité des valeurs exprimant la quantité et la vitesse de passage du PA au niveau systémique (**AUC**, **Cmax**, **Tmax**) on déclare les produits bioéquivalents, la preuve étant faite que le produit générique offre un niveau de sécurité et d'efficacité identique à celui du produit d'origine [28].

Pour connaître le devenir du médicament dans l'organisme, il est nécessaire de suivre la cinétique de libération, et cela par le test de dissolution. (voir annexe 2).

1.3. LA CINÉTIQUE DE DISSOLUTION

La dissolution tient un très grand rôle dans la préparation de nombreuses formes pharmaceutiques [29], bien que cet essai soit initialement développé pour les formes pharmaceutiques orales solides à libération immédiate (IR), puis élargi aux formes orales solides à libération modifiée. C'est un outil très important pour le développement des médicaments et pour le contrôle de qualité [31-32].

La cinétique de dissolution est importante dans la détermination de la biodisponibilité d'un médicament. Il est reconnu que la vitesse de dissolution régule la vitesse d'accumulation de certains médicaments dans le courant sanguin. Le test qui, in vitro, reflète le plus le devenir du médicament in vivo, est le test de dissolution. [33]

Le principe de la dissolution est de déterminer le temps que met un comprimé, une gélule ou toute autre forme galénique pour passer de sa forme compactée à l'état en solution. Sauf exception justifiée et autorisation, la pharmacopée exige l'utilisation de l'appareil à palette ou à panier. La vitesse de rotation, le temps et le milieu de dissolution sont des paramètres très importants dans la détermination de la vitesse de dissolution et ils doivent être précis dans le dossier technique ; toutes les parties de l'appareil qui peuvent

être en contact avec l'échantillon ou avec le milieu de dissolution sont chimiquement inertes ; elles n'absorbent pas la substance à examiner, ne réagissent pas en sa présence et n'influencent pas son comportement.

Donc toutes les parties métalliques en contact avec le milieu doivent être en acier inoxydable, de plus, aucun élément de l'appareil n'exerce de mouvement d'agitation ou de vibration important autre que celui d'élément de rotation. [34]

1.3.1. Rôle de dissolution

Le test de dissolution possède une importance capitale pour s'assurer de la qualité des médicaments chaque fois qu'il y a changement dans le processus de fabrication, tels que l'usage de nouveaux excipients, la révision des machines, le changement de site de production...

Dans les pays en voie de développement où les ressources nécessaires pour mener à bien les études de biodisponibilité (in vivo) sont limitées, le test de dissolution impliquant la comparaison des courbes de dissolution entre la référence et le générique peuvent suffire pour s'assurer de la qualité de cette dernière. [35]

Selon la nature du principe actif, la directive européenne prévoit que, dans certaines circonstances, une étude in vitro par un test de dissolution peut suffire et remplacer l'étude de bioéquivalence à condition qu'une bonne corrélation des données in vitro/in vivo soit établie. [36]

1.3.2. Facteurs influençant la dissolution

Plusieurs facteurs peuvent influencer le processus de dissolution, nous citons ceux qui suivent :

1.3.2.1. Facteurs physico-chimiques

Pour mieux comprendre l'importance du phénomène de dissolution, il est nécessaire d'identifier les paramètres suivants: [37]

A. Taille des particules

Une réduction de la taille des particules augmente la surface d'échange entre le principe actif non dissous et le solvant. Par conséquent, une augmentation de la vitesse d'absorption si celle-ci est limitée par la dissolution. [37]

B. Solubilité du principe actif

Puisque la solubilité est un paramètre qui dépend fortement de la température et du pH du milieu il est judicieux de suivre l'évolution de cette dernière en fonction de T, pH,etc.

B.1.Modification du pH

Dans un milieu aqueux la solubilité d'un composé est en fonction de sa capacité à former des liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau. Les composés ionisables présentent une grande solubilité dans un milieu aqueux que les composés non ionisables. En conséquence, la vitesse de dissolution peut être affectée de façon marquée par le pH du solvant aqueux. [38]

B.2.Modification du Température

La solubilité d'une molécule augmente avec la température. En général, une température de $37 \pm 0,5$ °C est toujours maintenue au cours de la dissolution des médicaments [29-39].

B.3.Modification de l'état chimique

➤ **Formation de sels**

La formation de sels est la méthode de choix pour augmenter la solubilité des acides faibles peu solubles en milieu gastrique.

➤ **Formation d'esters**

La préparation d'esters à partir de certains principes actifs permet de modifier leur solubilité et leur vitesse de dissolution.

B.4.Modification de l'état physique

➤ **Etat cristallin ou amorphe**

Les principes actifs solides se présentent sous forme amorphe ou cristalline. Généralement, les substances amorphes sont plus solubles que les cristaux, car il faut plus d'énergie pour arracher une molécule au réseau organisé d'un arrangement cristallin. On tire d'avantage de ce phénomène pour augmenter ou diminuer la vitesse de dissolution.

➤ Polymorphisme

Le polymorphisme est un phénomène par lequel un principe actif peut se cristalliser en plusieurs systèmes cristallins distincts. A l'intérieur des cristaux, les arrangements moléculaires sont différents, de telle sorte que deux polymorphes d'une même substance diffèrent physiquement en termes de point de fusion, de solubilité, de propriétés optiques et électriques.

➤ Solvates et hydrates

Pendant la cristallisation, l'eau et les molécules de solvant peuvent se combiner au principe actif en formant des liaisons plus ou moins stables en donnant des solvates et, si le milieu est aqueux, des hydrates. [38]

1.3.2.2. Facteurs technologiques

Les facteurs technologiques qui influencent la dissolution sont les suivants : [23]

A. La force de compression et la porosité de la masse du comprimé

Plus la force de compression augmente, plus les surfaces de contact établies entre les particules sont grandes, plus la surface d'adhésion interarticulaires sera importante et donc moins il y aura d'espace vide. Ceci se traduira par une porosité plus en plus faible du comprimé. Donc la diminution de la porosité due à une augmentation de la force de compression, augmente le temps de délitement et ralentit la dissolution.

B. Méthodes de fabrication

Pour la mise en forme des médicaments plusieurs méthodes sont utilisées et qui peuvent influencer les propriétés des médicaments dans ce qui suit, nous présentons ces méthodes :

B.1. Compression directe

Le temps de délitement et la vitesse de dissolution dépendront essentiellement des excipients utilisés. Ceux-ci devront présenter des propriétés de liants secs et d'agents favorisant l'écoulement qui nuiront parfois à la rapidité du délitement.

B.2. Granulation

La granulation sèche permet en général des délitements plus rapides, mais la force de compression lors de la fabrication des briquettes ne devra pas être trop forte pour ne pas aboutir à la formation de zones trop compactes que le concassage ne détruirait pas. Lors du délitement, ces grains durs restitués ne permettraient la dissolution du principe actif que par diffusion, ce qui en freinerait la libération rapide.

La granulation humide est très couramment utilisée avant la compression d'un mélange de poudre. Elle nécessite différentes opérations dont la conduite pourra interférer sur la libération et la dissolution du principe actif. [23]

1.3.2.3. Facteurs de formulation

Les adjuvants nécessaires à l'élaboration d'un comprimé pourront avoir un rôle très important sur la bio disponibilité des principes actifs qui y sont inclus. Cette influence sera d'autant plus importante que la dose de principe actif est faible dans le comprimé et que celui-ci est peu absorbable à l'état pur. [23]

A. Les diluants : Les diluants hydrosolubles sont souvent préférables et ils présentent l'avantage de favoriser l'hydrophilie de la préparation.

B. Les agents d'agglutination : Les agents de viscosité utilisés en solution lors de la granulation humide freineront la libération et la dissolution des principes actifs.

C. Les agents de délitement : Le rôle des agents de délitement est d'amener l'eau au sein du comprimé, entre les particules et les grains constitutifs.

D. Lubrifiants et agents d'écoulement : Leur nature hydrophobe, gêne le mouillage et donc la dissolution du principe actif.

1.3.3. Appareillage de dissolution

L'appareil utilisé pour la réalisation de ce test est constitué de :

- Récipients cylindriques à fond hémisphérique, d'une capacité normale de 1000 mL en verre borosilicaté, munis de couvercles évitant l'évaporation et comportant un orifice central destiné au passage de la tige de l'agitateur ainsi que plusieurs autres orifices permettant l'introduction d'un thermomètre et le prélèvement.

- Un agitateur constitué d'une tige verticale dont la partie inférieure est fixée soit à un panier cylindrique, soit à une palette.
- Un bain d'eau thermostaté qui permet de maintenir la température constante du milieu de dissolution. [4]

La figure suivante montre un dissolutes appareil de dissolution :



Figure (1.4) : Photo montrant un appareil de dissolution.

La quantité du principe actif dissout dans un temps prescrit est exprimée en pourcentage de la teneur. Généralement on utilise soit la spectroscopie UV-visible ou la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) pour la détermination des quantités dissoutes. [40]

1.3.4. Modèles décrivant la cinétique de dissolution

Plusieurs modèles mathématiques issues de la bibliographie peuvent décrire la cinétique de la dissolution du principe actif en fonction du temps.

Les équations des modèles mathématiques sont citées comme suit :

1.3.4.1. Modèle d'EL YAZIGI

EL YAZIGI suppose que la libération du principe actif se fait grâce à deux processus de dissolution et de désagrégation simultanément.

La fonction d'EL YAZIGI est la suivante : [42]

$$Q = (K_s * K_d * AO) / (K_s - K_d) \left[\frac{1 - \exp(-K_d * t)}{K_d} - \frac{1 - \exp(-K_s * t)}{K_s} \right] \dots\dots\dots(1.1)$$

Où :

Q : Pourcentage cumulé de principe actif en fonction du temps

K_s : Constante de dissolution selon la cinétique d'ordre 1.

K_d : Constante de désagrégation selon la cinétique d'ordre 1.

AO: La quantité maximale libérée.

1.3.4.2. Equation d'ordre zéro

La vitesse de dissolution est constante et indépendante de la quantité de soluté présente dans le milieu ; cette dernière est exprimée par : [41]

$$Q = Kt + Q_0 \dots\dots\dots(1.2)$$

Où :

Q_t : Quantité libérée au temps t.

Q₀ : Quantité initiale du principe actif.

K : Constante de vitesse.

1.3.4.3. Equation d'Higuchi modifiée

L'équation d'Higuchi modifiée est l'expression de l'équation d'Higuchi généralisée, elle s'exprime par : [43]

$$Q_t = Kt^n \dots\dots\dots(1.3)$$

Q_t : Quantité libérée au temps t.

K : Constante de vitesse.

n : Ordre de la cinétique.

La quantification de la libération du principe actif dans le milieu peut être réalisée en utilisant UV/Visible et/ou HPLC en fonction de la nature chimique et le comportement de pH ainsi que les autres excipients.

1.4. METHODE D'ANALYSE

1.4.1. SPECTROSCOPIE D'ABSORPTION DANS L'UV VISIBLE

Les techniques de spectroscopie UV visible sont des méthodes simples et rapides qui fournissent des informations sur la nature chimique, les propriétés physico structurales, et les caractéristiques optiques des composés. C'est une méthode quantitative et qualitative de grande utilité pour les analyses chimiques. Dans les composés, chaque fonction absorbe à une longueur d'onde bien déterminée [43]. Le domaine des UV s'étend en principe de $\lambda = 10$ nm à $\lambda = 400$ nm et le domaine de la lumière visible de $\lambda = 400$ nm à $\lambda = 800$ nm. [44] Ceci permet de caractériser les molécules. La mesure de l'absorption UV permet également de connaître ou de déterminer la composition chimique d'un mélange, par comparaison avec des témoins. [43] (Voir annexe 2)

1.4.1.1. Principe de spectroscopie UV- Visible

Pour analyser un produit synthétisé, on dispose des techniques physiques telles que la spectroscopie UV visible. Cette méthode d'étude physique des composés organiques met en jeu l'interaction d'une onde électromagnétique avec la matière. Selon le domaine d'énergie impliqué, différents électrons peuvent être excités. Le principe consiste en l'enregistrement de l'énergie absorbée ou de l'énergie émise en fonction de la fréquence de l'onde incidente ou de sa longueur d'onde. [44]

1.4.1.2. Dosage par UV visible

Pour enregistrer le spectre UV visible d'une substance, on prépare une solution diluée de concentration définie que l'on introduit dans une cuve en verre (ou en quartz pour les longueurs d'ondes inférieures à 350 nm). Le solvant doit être transparent dans la zone de longueurs d'onde choisie. Sa nature doit être relevée, car elle peut avoir une influence sur les caractéristiques du spectre. Dans le spectrophotomètre, l'échantillon est traversé par un faisceau lumineux et un détecteur mesure, pour chaque longueur d'onde, l'intensité avant et après absorption (I_0 et I). Le spectre UV visible est constitué par la courbe $\log(I/I_0) = f(\lambda)$, λ étant exprimée en nm. Il se présente sous la forme de larges bandes que l'on caractérise par leurs longueurs d'onde au maximum d'absorption (λ_{max}) et leurs coefficients d'absorbance (ϵ). Il existe une relation entre la quantité de la lumière absorbée et la concentration de la substance en solution qui est régie par la loi de Beer-Lambert :

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon \cdot l \cdot c$$

A: absorbance ou densité optique.

ε : coefficient d'absorbance (mol/L .L/cm).

l: longueurs de la cuve en (cm).

C: concentration de la solution en (mol/L).

NB : Cette loi ne s'applique qu'aux solutions diluées et lorsque l'absorbance est inférieure à 2. [44]

1.4.2. CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE A HAUTE PERFORMANCE(HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance est aujourd'hui l'une des outils les plus puissants de la chimie analytique. Elle est utilisée dans un grand nombre de domaines analytiques. Cette technique a la capacité de séparer, identifier et quantifier les composés qui sont présents dans un échantillon, qui peuvent être dissous dans un liquide. Aujourd'hui, des composés à l'état de traces aussi faibles que quelques parties par trillion peuvent être facilement identifiés. [45]

1.4.2.1. Principe général de la chromatographie en phase liquide

La chromatographie est une technique analytique qui permet la séparation des constituants d'un mélange en phase homogène liquide, les séparations sont fondées sur la distribution des solutés entre deux phases non miscibles, l'une fixe dite phase stationnaire, l'autre en mouvement dite phase mobile. De la sorte, l'opération de partage des espèces à séparer entre les deux phases se trouve répétée automatiquement ; la phase mobile tend à entraîner les espèces à séparer dans son mouvement, la phase stationnaire tend à les retarder, d'autant plus que les analytes ont, pour la plupart, des vitesses de déplacement différentes et inférieures à celle de la phase mobile, d'où la notion de rétention et la possibilité de séparations.

Couplé à un système d'injection des échantillons à analyser et à un système de détection en continu au sein d'un chromatographe, un tel système de séparation permet des analyses fines d'une grande qualité dans la mesure où les différents constituants des mélanges sont séparés avant d'être déterminés quantitativement. [45]

1.4.2.2. Conception générale d'un appareil HPLC

Un chromatographe liquide est constitué d'un réservoir contenant la phase mobile, une pompe pour forcer la phase mobile à travers le système à haute pression, un injecteur pour introduire l'échantillon dans la phase mobile, une colonne de chromatographie, un détecteur et une collecte de données dispositif.[27] (Voir annexe 3).

1.4.2.2.1. Les réservoirs des phases mobiles

Le plus souvent ces réservoirs sont des bouteilles en verre dans lesquelles plonge un tube avec une extrémité filtrante. D'autre part, les solvants utilisés pour la chromatographie en phase normale sont de faible polarité tandis que en phase inversée, on utilise des phases mobiles aqueuses, avec ou sans modifiants organiques.

1.4.2.2.2. Le système de pompage

Le système de pompage est la partie du chromatographe qui permet de prélever l'éluant, d'en réguler le débit et de maintenir la pression de l'ensemble.

Un système de pompage peut être utilisé soit en mode isocratique, soit en gradient d'élution.

a) Mode isocratique

Dans ce mode, la composition de la phase mobile demeure constante durant toute l'analyse chromatographique. Si on travaille toujours dans ces conditions, on peut utiliser un système qui ne comporte qu'un seul canal pour le solvant, provenant d'une seule bouteille.

b) Mode gradient

Un gradient d'élution est une variation des proportions des constituants du mélange éluant.

Pour appliquer un gradient d'élution, il faut au minimum deux solvants et une chambre de mélange. La chambre de mélange peut être placée avant le dispositif de pompage, on parle alors de gradient basse pression et les proportions des solvants sont contrôlées par l'ouverture/fermeture d'électrovannes.

Dans le cas d'un gradient haute pression, la chambre de mélange est placée après le dispositif de pompage. Le gradient à basse pression est aujourd'hui celui qui est le plus

utilisé par les constructeurs car il permet de s'affranchir des éventuels effets de contraction de volume ; son coût est par ailleurs inférieur. [27]

1.4.2.2.3. Injecteur

La solution à examiner est introduite dans la phase mobile circulante en tête de colonne, ou à proximité de celle-ci, à l'aide d'un système d'injection conçu pour fonctionner à pression élevée. Les injecteurs peuvent être à boucle fixe ou à volume variable, à fonctionnement manuel ou piloté par un échantillonneur automatique. [27]

1.4.2.2.4. Colonne

Les colonnes utilisées sont usuellement en acier inoxydables, quoiqu'on utilise parfois des tubes de verre à paroi épaisse dans le domaine des basses pressions (<40 bars). La plupart des colonnes ont une longueur de 10 à 30 cm et un diamètre intérieur de 4 à 10 mm, avec des tailles particulières de 5 à 10 μm . Le matériau de remplissage le plus couramment employé est de la silice, [27].

1.4.2.2.5 Détecteur

Le détecteur par absorption UV-visible est le plus utilisé en chromatographie liquide. Son principe est fondé sur la loi de BEER-LAMBERT, qui relie l'absorbance optique d'un composé à sa concentration [27].

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

Dans cette partie de notre travail nous allons présenter tout les matériels et méthodes utilisés pour réaliser une étude comparative dont l'objectif est d'évaluer la similarité des profils de dissolution, Nous nous intéressons particulièrement à deux médicaments : le premier est d'une forme à libération immédiate ; le princeps est sous le nom commercial de « **GLAVUS FC tablets 50mg comprimé** » et son générique « **GLAVIP FC tablets 50mg comprimé** » tandis que le second est d'une forme à libération prolongée ; le princeps « **GLUCOPHAGE 1g LP Tablets comprimé** » et son générique « **METFOR 1g LP Tablets comprimé** ».

La démarche suivie consiste à faire l'étude de bioéquivalence en étudiant la cinétique de dissolution des deux médicaments sus-cités, puis à analyser de régression non linéaire d'un ensemble de modèles mathématiques et statistiques pouvant décrire potentiellement la cinétique de différentes libérations.

Nous signalons que nos travaux ont été réalisés suivant les normes appliquées par El- Kendi ; c'est-à-dire conformément aux spécifications de la pharmacopée Américaine.

2.1. CARACERISTIQUES SUR LES DEUX PRINCIPES ACTIFS

2.1.1. Composition et structure de Vildagliptine

La Vildagliptine est une molécule antidiabétique, de la classe des inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) ou gliptines et de formule brute $C_{17}H_{25}N_3O_2$. Cette substance active a pour propriété d'abaisser la glycémie et appartient à un groupe de médicaments appelés « antidiabétiques oraux ».

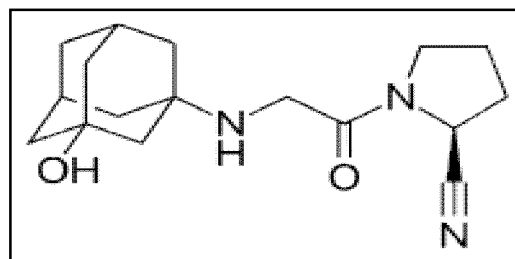


Figure 2.1 : Structure chimique de Vildagliptine.

2.1.2. Propriétés physico-chimique de Vildagliptine

- **Aspect** : poudre blanche.
- **Point de fusion** : 148 °C à 152 °C.
- **Solubilité** : dans l'eau et dans les solvants organiques polaires.
- **L'eau (KF)** : pas plus de 0,5 %.
- **Pureté** : pas plus moins de 99,0%.
- **Masse molaire** = 303,3993 ± 0,0166 g/mol. [C 67,3 %, H 8,31 %, N 13,85 %, O 10,55 %].

2.2.1. Composition et structure de Chlorhydrate de Metformine

La Metformine est une molécule antidiabétique appartenant au groupe des biguanides et de formule brute $C_4H_{11}N_5$. Elle réduit la production hépatique du glucose, augmente la sensibilité des muscles à l'insuline et retarde l'absorption intestinale du glucose.

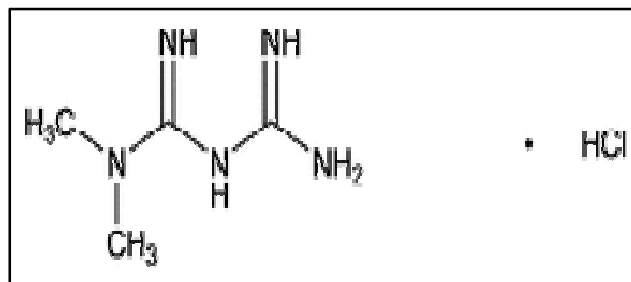


Figure 2.2: Structure chimique de Chlorhydrate de Metformine.

2.2.2. Propriétés physico-chimique de Chlorhydrate de Metformine

- **Aspect** : poudre blanche.
- **T° fusion** : 218-220 °C.
- **Solubilité** : dans l'eau et l'alcool éthylique à 95 %.
- **Masse molaire**=129,1636± 0,005 g/mol. [C 37,2 %, H 8,58 %, N 54,22 %].

2.2. RENSEIGNEMENT SUR LES DIFFERENTES SPECIALITES PHARMACEUTIQUES

Les caractéristiques des différentes spécialités sont résumées dans le tableau (2.1)

Tableau 2.1 : Informations générales sur les deux spécialités pharmaceutiques utilisées:

Spécialités pharmaceutiques	libération immédiate		libération prolongée	
	Princeps	Générique	Princeps	Générique
Nom commercial	Galvus50mg FC	Glavip 50mg FC	Glucophage1g LP	Metfor 1g LP
D.C.I	Vildagliptine	Vildagliptine	Chlorhydrate de Metformine	Chlorhydrate de Metformine
N° de lot	S0681	1460002	192437 1	14118001
Dose unitaire	50 mg	50 mg	1g	1g
Date de fabrication	07/2016	12/2014	02/2015	07/2013
Date de péremption	07/2018	12/2016	02/2018	07/2016
Présentation	Boite de 30 comprimés	Boite de 30 comprimés	Boite de 30 comprimés	Boite de 30 comprimés
Fabriquant	NOVARTIS	El Kendi	MERCK	El Kendi

Le tableau suivant représente les rôles des excipients utilisés dans la formulation des deux génériques (Glavip 50 mg et Metfor 1g).

Tableau 2.2 : Différents constituants des spécialités pharmaceutiques et leurs rôles.

Spécialités pharmaceutiques	Constituants	Rôles
Glavip 50 mg	Lactose anhydre	Diluant
	Cellulose microcristalline silicifiée	Liant
	Glycolate d'amidon sodique	Agent désintégrant
	Stéarate de magnésium	Lubrifiant
	Lactose	Diluant
Metfor 1 g	Hydroxy propyl méthyl cellulose	Agent d'enrobage
	Cellulose microcristalline povidone	Pollymère
	Alcool isopropylique	Solvant
	Le dioxyde de silicium colloidal	Agent désintégrant
	Stéarate de magnesium	Lubrifiant

2.3. DISSOLUTION DE VILDAGLIPTINE ET DE CHLORYDRATE DE METFORMINE

Le principe de base du test de dissolution revêt trois aspects principaux : utilisation des fluides simulés (gastriques ou intestinaux) à la température normale du corps, agitation du dispositif à vitesse fixe, séparation du produit désintégré du reste du produit.

Les facteurs pharmaceutiques qui influent sur la libération des différentes spécialités sont testés en utilisant un appareil Electrolab Model EDT-14Lx selon des conditions opératoires citées ci-dessous. Les prises d'essais étaient faites manuellement.

Tableau 2.3 : Les conditions de dissolution ciblées pour les différentes spécialités

Paramètres de dissolution	Libération immédiate	Libération prolongée
Agitation	Palettes	Palettes
La vitesse de rotation (tpm)	50	100
Milieux de dissolution	pH (1,2 ; 4,5 ; 6,8)	pH (1,2 ; 4,5 ; 6,8 ; 7)
Volume de dissolution	900mL	900mL
Température (°C)	37,0 ± 0,5 °C	37,0 ± 0,5 °C
Méthode de dosage	HPLC	UV-Visible

NB : Les conditions données ci-dessus sont similaire pour chaque princeps et son générique des deux formes de libération.

2.3.1. Préparation des milieux de dissolution

Les études de dissolution comparatives doivent respecter les conditions suivantes : Le milieu de dissolution doit être aqueux et le pH du milieu doit être contrôlé et doit simuler les conditions in vivo ; il doit comprendre le tampon aqueux à pH (1,2; 4,5; 6,8) comme l'exige le laboratoire national de contrôle des produits pharmaceutiques (LNCPP).

- **Pour le milieu Acide HCl 0,01 N**

Nous diluons environ 8,3 mL de HCl (0,2 N) dans 10 L d'eau purifiée.

- **Pour le milieu Acétate pH 4.5**

Nous diluons 29,9 g d'acétate de sodium dans d'eau, nous ajoutons à cette solution 14 mL d'acide acétique (2 N), ensuite nous complétons le volume avec de l'eau purifiée, puis nous ajustons le pH si c'est nécessaire.

- **Pour le milieu Phosphate pH 6.8**

Nous versons 250 mL de potassium phosphate monobasique (solution 0,2 M) et 112 mL de sodium hydroxyde (solution 0,2 M) dans 1000 mL d'eau purifiée, nous ajustons si c'est nécessaire.

La dissolution des deux médicaments s'effectue dans ces trois milieux. De plus, un milieu de l'eau purifiée sera ajouté pour la dissolution de médicament à libération prolongée.

2.3.2. Préparation des standards

Après avoir terminé la préparation des milieux de dissolution et avant d'analyser nos échantillons, nous devons préparer les standards qui sont considérés comme une référence.

En ce qui concerne le premier médicament nous pesons avec précision environ 11,2 mg de standard (Vildagliptine), nous transférons cette pesée dans une fiole jaugée de 200 mL, nous la dissolvons avec 150 mL du milieu de dissolution à l'aide d'un sonicateur, nous l'ajustons au trait de jauge avec le même milieu, nous filtrons à travers un filtre à membrane de 0,45 µm en jetant les premiers 5 mL.

Quant au deuxième nous pesons 100 mg de Chlorhydrate de Metformine dans une fiole jaugée de 100 mL. Par la suite nous dissolvons et complétons le volume avec le milieu de dissolution, puis nous diluons 1 mL de cette solution dans 100 mL de notre milieu.

2.3.3. Protocole de dissolution de Vildagliptine et Chlorhydrate de Metformine

Les épreuves de dissolution doivent être faites avec des méthodes et des techniques entièrement validées.

Après avoir préparé les milieux et les standards, nous procédons à la technique de dissolution donnée par le protocole ci-dessous :

Nous plaçons 12 comprimés individuellement dans des récipients contenant un volume de 900 mL d'un milieu qui est maintenu à $37 \pm 0,5$ °C. Lors des prélèvements nous prenons soin d'exclure les bulles d'air de la surface des comprimés, puis nous démarrons l'appareil immédiatement.

En premier lieu, l'analyse se fait pour le médicament à libération immédiate à un intervalle de temps de 10, 15, 20, 30 et 45 minutes. Ensuite une prise d'essai de 20 mL est prélevée de l'échantillon. Nous filtrons la prise en utilisant une membrane de 0,45 µm, en éliminant les 5 premiers mL et en analysant par HPLC à une longueur d'onde 210 nm.

Pour le deuxième médicament à libération prolongée, nous procédons de la même manière que le médicament précédent sauf que les prélèvements sont effectués dans un intervalle de temps variable de 1H à 8H avec des dilutions de 1/100 mL. Ils seront ensuite filtrés sur une membrane de 0,45 μm puis analysés par UV-visible à une longueur d'onde préalablement déterminée par balayage $\lambda_{\text{max}} = 232 \text{ nm}$.

2.4. METHODE D'ANALYSE PAR HPLC ET UV-VISIBLE

Après avoir terminé la dissolution, les échantillons prélevés pour chaque spécialités doivent être analysés ;

✓ Analyse par HPLC

Celui de libération immédiate est analysé sur un chromatographe liquide à haute performance (HPLC) de marque (WATERS USA) qui est composé d'une pompe quaternaire WATERS 2695, un passeur échantillon automatique ; poste colonne thermostaté, un détecteur UV/VISIBLE 2487. Tout est logé par un logiciel Empower Pro, selon les conditions chromatographiques mentionnées ci- dessus :

- **Colonne** : C18 5 μm 250/4,6.
- **Débit** : 1mL/min.
- **Détection** : spectrophotomètre à 210 nm.
- **Volume d'injection** : 20 μl .
- **Température de la colonne** : 30 °C.
- **Température de l'échantillon** : 20 °C.
- **Temps de rétention** : 5 minutes.
- **Système suitability**

Avant de commencer l'analyse par HPLC nous devons vérifier la performance du système chromatographique qui régit sur 5 prises d'injection de standard. Elle est vérifiée par l'évaluation de l'écart type relatif (Relatif Standard Deviation (RSD) aux aires des pics de la solution de suitability du système.

Les normes établies pour ce dernier :

- RSD (%) de 5 injections de standard < 2,0%
- Le nombre de plateaux théoriques > 2000.
- Le facteur de symétrie du pic : [0,8-2,0].

➤ **Phase mobile**

Nous préparons un mélange constitué de 700 mL du tampon (0,01 M de K₂HPO₄) en faisant dissoudre 1,742 g de di-potassium hydrogène phosphate anhydre dans 1000 mL de l'eau purifiée, cette solution était mélangé avec 300 mL de l'acétonitrile. La phase mobile est dégazée et filtré sous vide à l'aide d'un filtre de 0.45 µm.

✓ **Analyse par UV-Visible**

Celui à libération prolongé est analysé sur un spectromètre UV-visible de marque (Ocean Optics USB 4000-FL) à une longueur d'onde de 232 nm. La cuve utilisée est de 1cm d'épaisseur, et le blanc varie selon le milieu de dissolution des médicaments.

2.5. CALCUL ET STATISTIQUE D'ANALYSE

Le pourcentage de libération des principes actifs est donné selon la formule suivante :

$$Q\% = \frac{Ar*sp}{Ar*st} * \frac{Wt*st}{V} * \frac{900}{50} * P$$

Ar.sp: Aire par HPLC ou absorbance par UV de la préparation d'échantillon.

Ar.st: Aire par HPLC ou absorbance par UV de la préparation de standard.

Wt.st: masse de standard pris en mg.

P: la pureté du standard (%).

V: Volume de la fiole (mL).

Pour le facteur de similarité f2 et le facteur de différence f1, ils ont été calculés entre le générique et son princeps pour chaque milieu en utilisant les formules suivantes :

$$f2 = 50 * \log \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum(Ref-Tst)^2}{n}}}$$

$$f1 = \frac{\sum(Ref - Tst)}{\sum Ref} * 100$$

Ref (%) : pourcentage de libération du médicament princeps pour 12 comprimés.

Tst (%) : pourcentage de libération du médicament générique pour 12 comprimés.

2.6. METHODE DE COMPARAISON DES PROFILS DE DISSOLUTION

Dans cette étude comparative, il est bon de rappeler que l'évaluation de la similarité des profils de dissolution s'effectue à partir des pourcentages de libération des principes actifs. Ainsi donc des approches statistiques appliquées aux profils sont basées sur l'analyse des coefficients de variation tandis qu'ils nécessitent le calcul de deux facteurs (f_2 , f_1) à partir des données brutes individuelles de ces deux profils.

A ce titre, nos résultats doivent répondre aux exigences pharmaceutiques de l'USP (monographies de la pharmacopée Américaine) qui sont :

2.6.1. Pour la forme à libération immédiate

- ❖ Le coefficient de variation au premier temps d'échantillonnage ne devrait pas excéder 20 %, et aux autres points de prélèvement 10 %.
- ❖ Si les données propres aux produits soumis à l'essai et aux produits de référence montrent une dissolution de plus de 85 % en 15 minutes, les profils sont considérés similaires (aucun calcul n'est nécessaire). Sinon, nous devons comparer les deux profils de dissolution par une méthode mathématique.

❖ Méthodes mathématiques :

- Facteur de similarité f_2 :

Le f_2 doit être supérieur à 50 (entre 50 et 100).

- Facteur de différence f_1 :

Le f_1 doit être inférieur à 15 (entre 0 et 15).

2.6.2. Pour la forme à libération prolongée

La libération doit obéir aux conditions suivantes :

- ❖ Le coefficient de variation ne doit pas excéder 20 % au premier temps d'échantillonnage et 10 % pour les autres points de prélèvement.
- ❖ Si les données propres aux produits soumis à l'essai et aux produits de référence montrent une dissolution de :
 - 20 % < dissolution 1 H < 45 %.
 - 50 % < dissolution 4 H < 80 %.
 - Dissolution 8 H > 75%.
- ❖ Nous devons comparer les deux profils de dissolution par une méthode mathématique qui repose sur le calcul de facteur de similarité (f2) et de différence (f1). Les profils sont considérés similaires si f2 > 50 et f1 < 15.

2.7. AJUSTEMENT DES PROFILS EXPERIMENTAUX DE DISSOLUTION

Les modèles choisis donnés à l'issue d'une recherche bibliographique qui peuvent traduire la libération du principe actif sont :

2.7.2. Modèle d'EL YAZIGI

$$Q = (K_s * K_d * AO) / (K_s - K_d) \left[\frac{1 - \exp(-K_d * t)}{K_d} - \frac{1 - \exp(-K_s * t)}{K_s} \right] \dots \dots \dots (2.1)$$

Q : Pourcentage cumulé du principe actif en fonction du temps.

Ks : Constante de dissolution selon la cinétique d'ordre 1.

Kd : Constante de désagrégation selon la cinétique d'ordre 1.

A0: Quantité de principe actif libérée à t $\longrightarrow \infty$

2.7.3. Modèle d'ordre zéro

Ce modèle est présenté par l'équation suivante :

$$Q = Kt + Q_0 \dots \dots \dots (2.2)$$

Q : Pourcentage cumulé du principe actif en fonction du temps.

K : Constante de vitesse.

Q₀ : Quantité du principe actif qui se trouve dans la périphérie et qui va se libéré à un temps de latence.

2.7.1. Modèle d'HIGUCHI modifié

Ce modèle est présenté par l'équation suivante :

$$Q = Kt^n \dots\dots\dots (2.3)$$

K : Constante de vitesse, elle renferme les caractéristiques géométriques du système.

n : L'ordre de la cinétique, sa valeur indique le type de libération.

Le calcul des paramètres de dissolution des différents modèles est effectué par l'utilisation d'un logiciel « STATISTICA » à l'aide de son module « estimation non linéaire ».

Le principe de calcul des paramètres est basé sur de méthodes d'optimisation non linéaire, qui sont :

- Simplexe.
- Quasi-newton.
- Simplexe et quasi-Newton.
- Déplacement de la structure de Hooke -Jeeves.
- Hooke-Jeeves et quasi-Newton.
- Rosembroock et quasi-Newton.
- Recherche du motif de Rosembrock.

Le choix d'une de ces méthodes s'avère nécessaire, quant à la convergence du système de résolution. En effet ces méthodes se basent sur un processus de calcul itératif, avec un choix judicieux préalable du vecteur initial.

On applique alors cette méthode de résolution non linéaire sur le profil de dissolution des spécialités références et leur générique.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Dans ce chapitre nous présentons tous les résultats obtenus des différentes spécialités avec leurs discussions :

3.1. RESULTATS DE LA DISSOLUTION DU MEDICAMENT A LIBERATION IMMEDIATE

Pour des résultats de dissolution représentatifs nous devons réaliser la vérification de système HPLC. Les résultats de vérification sont présentés sous forme de chromatogramme de la substance de référence (standard) et donné dans la figure suivante

(3.1)

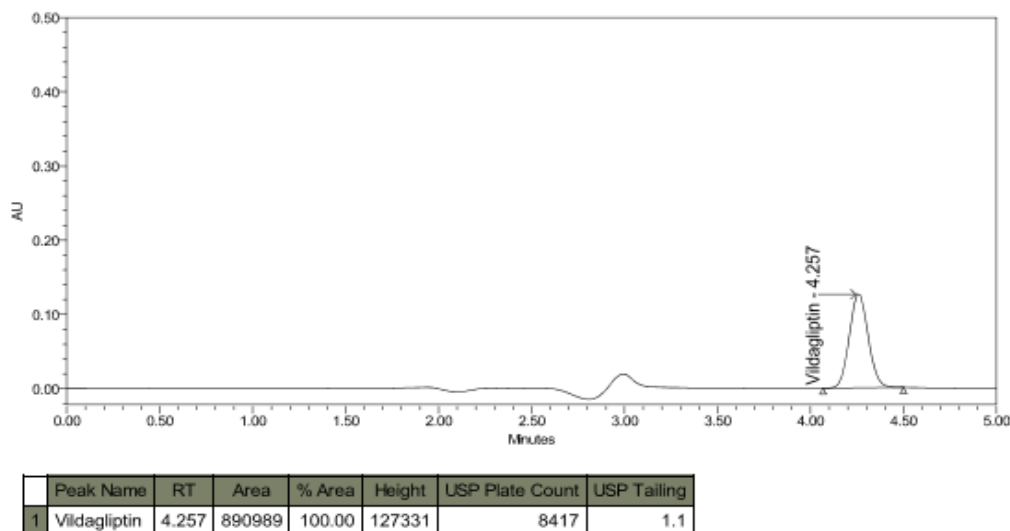


Figure (3.1) : Chromatogramme de la solution standard de Vildagliptine.

Les résultats obtenus lors de la vérification du système de suitability montrent que le RSD est inférieur à 2%, le facteur de symétrie est inférieur à 2% et le nombre de plateaux théoriques est supérieur à 2000 . Ce qui vérifie la performance du système. (voir annexe 5)

Les résultats de la dissolution du comprimé à libération immédiate sont donnés sous forme de tableau qui regroupe les pourcentages de libération du principe actif du générique (Glavip) et son princeps (Galvus) dans les trois milieux. (Voir annexe de 5 à 10). Le calcul de facteur RSD est aussi présenté dans le tableau (3.1).

Tableau (3.1): Cinétiques de dissolution de Vildagliptine (Glavip, Galvus) pour les trois milieux.

Milieux	Glavip 50 mg tablets									Galvus 50 mg tablets								
	Acide HCl (0.01 N) pH=1.2			Tampon Acétate pH =4.5			Tampon phosphate pH =6.8			Acide HCl (0.01 N) pH=1.2			Tampon Acétate pH =4.5			Tampon phosphate pH =6.8		
	Temps (min)	Moyenne	σ (%)	RSD	Moyenne	σ (%)	RSD	Moyenne	σ (%)	RSD	Moyenne	σ (%)	RSD	Moyenne	σ (%)	RSD	Moyenne	σ (%)
10	75,31	10,49	13,93	60,74	10,45	17,20	57,90	5,64	9,74	100,12	1,10	1,10	86,97	0,84	0,97	94,93	1,80	1,90
15	91,07	7,15	7,85	75,57	7,20	9,52	76,68	7,25	9,45	100,20	1,01	1,01	86,72	1,11	1,28	96,10	1,26	1,31
20	91,51	4,46	4,88	81,08	5,11	6,30	86,57	5,39	6,22	99,99	1,08	1,08	86,89	1,05	1,20	97,65	1,04	1,06
30	92,04	3,49	3,80	84,90	4,58	4,21	90,29	4,58	5,08	100,32	1,06	1,05	87,05	0,95	1,09	97,94	1,26	1,29
45	94,40	3,29	3,48	85,63	4,13	5,19	91,11	4,13	4,54	100,40	1,11	1,10	86,85	0,98	1,13	97,03	1,52	1,29

Avec : σ : Ecart type en pourcentage

;

RSD : Ecart type relatif en pourcentage.

En ce qui concerne les résultats de calculs de RSD donnés dans le tableau (3.1) pour les trois milieux de dissolution, le princeps (Galvus) et son générique (Glavip) montrent qu'au premier point de dissolution le coefficient de variation est inférieur à 20 %; et pour les autres points de dissolution nous constatons des valeurs inférieures à 10 %. Ces résultats sont en parfait accord avec les normes.

Afin de mieux illustrer les résultats, nous traçons les profils de la cinétique de dissolution de princeps et son générique qui donnent des taux de libération de Vildagliptine en % en fonction du temps (min) de principe actif de princeps et son générique pour chaque milieu, **Figures (3.2 à 3.4)**.

3.1.1. Résultats de la dissolution de Vildagliptine

- **Milieu (HCl 0.01 N)**

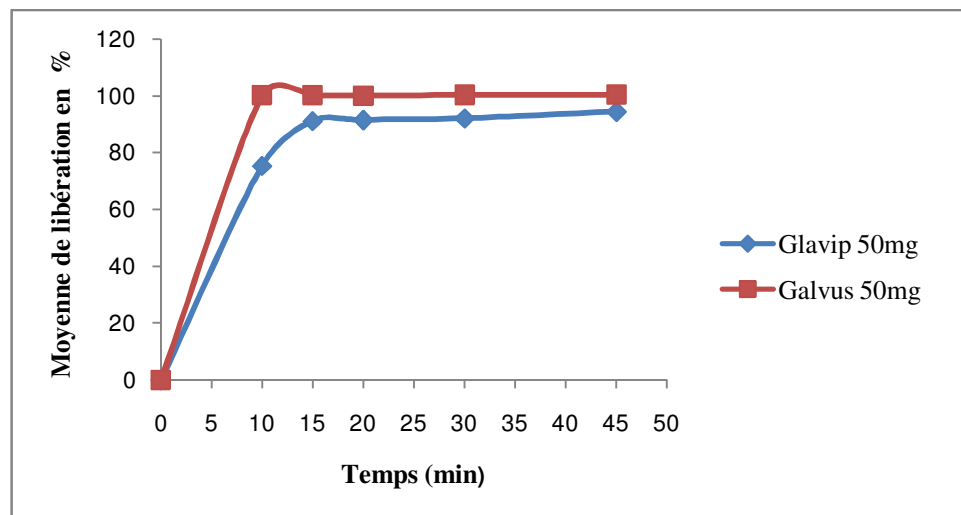


Figure (3.2) : Cinétique de dissolution de princeps et son générique.

A la lumière des résultats donnés ci-contre, nous constatons que l'allure de profil de dissolution de la spécialité de référence et de la spécialité test confirme que celles-ci sont d'une forme à libération immédiate, vu qu'elles atteignent leur dissolution au bout de 45min.

Les résultats du tableau montrent que la cinétique de dissolution pour le générique possède une libération rapide de principe actif dans les premiers instant respectivement 10 et 15 min enregistrant des taux de libération de (75 %), (91 %), puis un régime stationnaire s'installe au fur à mesure à partir de 15 min jusqu'à 45 min où 92 % de principe actif sera

libéré. Tandis que pour la spécialité de référence, nous constatons que la libération de principe actif est de 100 % au bout de 10 min, cette libération reste presque constante jusqu'à 45 min.

Les résultats confirment presque l'égalité des pourcentages de libération de principe actif entre le princeps et le générique, les deux avec un pourcentage supérieure à 85% au bout de 15 min ce qui est exigées par USP, nous concluons que nos résultats sont en bon accord avec les normes établies. Ceci nous amène à déduire qu'il ya une similarité entre les deux profils de dissolution de princeps (Galvus) et du générique (Glavip).

- **Milieu Tampon Acétate**

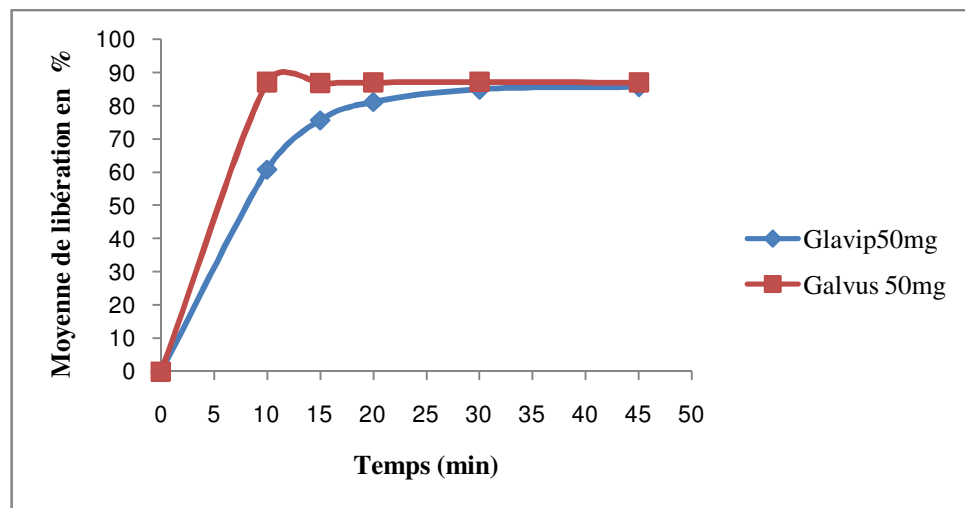


Figure (3.3): Evolution de taux de libération du PA de Galvus (princeps) et Glavip (générique).

Au regard des courbes présentées dans la figure (3.3) nous observons que la cinétique de dissolution de la spécialité générique commence à 10 min avec un pourcentage de l'ordre de 61 % qui évolue à 76 % au bout de 15 min suivi par une dissolution de 86 % à 45 min. D'autre part ; nous remarquons une libération du principe actif pour la spécialité de référence qui est de l'ordre 87 % durant 45 min.

Cette étude nous donne deux résultats contradictoires pour la spécialité princeps et générique. Avec la spécialité princeps les pourcentages de libération sont dans les normes (supérieure à 85 % exigée au bout de 15 min) tandis que la spécialité générique montre des résultats hors normes avec un pourcentage de 76 au lieu de 85 %. Dans ces conditions, il est important de passer à la deuxième condition basée sur le calcul des facteurs afin de démontrer la similarité entre le profil de dissolution de princeps et son générique.

- Milieu Tampon phosphate

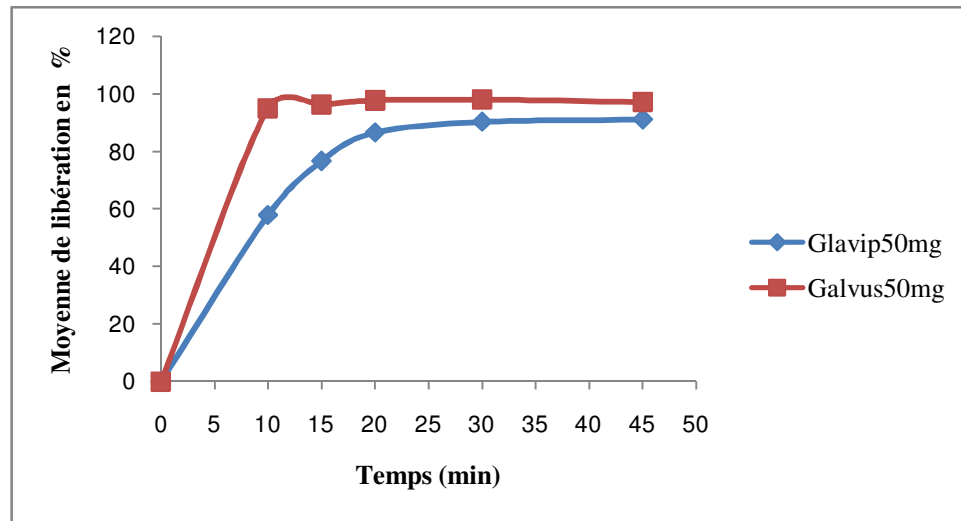


Figure (3.4): Evolution de taux de libération du PA de Galvus (princeps) et Glavip (générique)

A travers les résultats de dissolution de produits génériques, nous constatons une évolution progressive de la libération de PA commençant par un taux de 58 % au bout de 10 min jusqu'à atteindre les 91 % à 45 min. Par contre le princeps commence par les taux de libération élevés au bout de 10 min pour atteindre lentement 97 % aux alentours de 45 min.

La comparaison des résultats obtenu pour chaque spécialité indique qu'avec le princeps au bout de 15 min la libération du principe actif dépasse 85 % (pourcentage exigé par l'USP). Par contre le générique n'arrive pas à réaliser cette condition. Ce qui nous oblige à passer au calcul des facteurs de similarité.

Au regard de ces profils ; nous constatons une dissolution de principe actif dans les trois milieux avec un pourcentage élevé pour le milieu HCl, ce qui nous montre que le milieu d'HCl (acide) est celui qui est favorable à sa dissolution puisque le principe actif possède des groupements OH dans leur structure donc il est sous forme moléculaire.

3.1.2. Calcul des facteurs de similarité (f2) et de différence (f1)

Le tableau (3.2) suivant présente les valeurs des facteurs de similarité et de différence calculées à partir des résultats obtenus dans les deux milieux à pH = 4,5 et pH = 6,8.

Tableau (3.2): Facteur de similarité et de différence de princeps (Galvus) et son générique (Glavip).

Milieux	Facteurs de similarité (f2)	Facteurs de différence (f1)
pH 4,5	44,1	10,7
pH 6,8	35,1	14,8

En se basant sur les normes établies concernant les facteurs de similarité f2 et le facteur de différence f1, les résultats présentés dans le tableau ci-dessus et qui montrent des valeurs de ($f2 < 50$) et ($f1 < 15$) permettent de conclure qu'il n'y a pas de similarité entre la cinétique de dissolution du princeps et celle du générique pour les milieux suivants : pH = 4,5 et pH = 6,8, malgré que le facteur de différence ($f1 < 15$).

Cette contradiction pourrait s'expliquer du fait que la composition du générique pourrait être à la base de cette différence dans la mesure où les excipients utilisés sont différents à ceux du princeps. Ceci serait à la base du changement de libération du principe actif.

3.2. RESULTATS DE LA DISSOLUTION DU MEDICAMENT A LIBERATION PROLONGEE

Le tableau (3.3) suivant présente les résultats de la dissolution de PA du princeps et son générique ainsi que les valeurs de RSD dans les quatre milieux étudiés.

Tableau (3.3): Cinétiques de dissolution de Chlorhydrate de Metformine (Metfor, Glucophage) pour les quatre milieux

Milieux	Metfor 1g LP tablets												Glucophage 1g LP tablets											
	Eau purifiée pH = 7			Tampon Acide pH = 1.2			Tampon Acétate pH = 4.5			Tampon Phosphate pH = 6.8			Eau purifiée pH = 7			Tampon Acide pH = 1.2			Tampon Acétate pH = 4.5			Tampon Phosphate pH = 6.8		
Temps (H)	Moy	σ (%)	RSD	Moy	σ (%)	RSD	Moy	σ (%)	RSD	Moy	σ (%)	RSD	Moy	σ (%)	RSD	Moy	σ (%)	RSD	Moy	σ (%)	RSD	Moy	σ (%)	RSD
1	32,69	1,06	3,23	41,96	2,24	5,33	27,44	1,42	5,18	32,72	3,10	9,46	20,78	0,54	2,61	33,79	2,98	8,82	25,78	2,11	8,18	31,90	0,99	3,10
2	50,71	3,03	5,97	45,67	2,06	4,51	46,65	1,39	2,98	48,06	2,28	4,75	34,11	1,09	3,21	38,21	1,68	4,41	44,00	0,53	1,21	44,85	0,98	2,19
3	57,97	1,41	2,44	46,54	0,89	1,90	55,14	1,14	2,07	55,96	1,44	2,57	53,22	0,64	1,20	40,23	1,36	3,38	50,05	0,75	1,49	50,62	0,74	1,47
4	65,14	1,51	2,32	58,62	5,56	9,49	64,04	1,19	1,85	60,38	1,36	2,25	68,70	0,48	0,69	59,69	2,91	4,87	61,15	0,68	1,12	60,26	0,28	0,47
5	73,76	3,97	5,38	62,73	1,32	2,10	70,20	1,19	1,70	67,32	1,80	2,67	75,75	1,20	1,58	71,35	4,00	5,61	74,54	0,53	0,71	75,36	2,12	2,82
6	80,35	2,83	3,53	70,39	2,09	2,97	77,34	0,87	1,13	75,22	1,89	2,51	84,35	1,62	1,93	73,96	4,88	6,60	101,64	1,42	1,40	81,67	2,54	3,11
7	90,43	2,50	2,77	77,67	3,55	4,57	87,22	0,71	0,82	85,46	1,14	1,33	94,12	0,77	0,82	81,81	3,92	4,79	89,22	1,20	1,34	87,67	0,76	0,87
8	100,3	2,70	2,70	85,82	1,30	1,51	100,33	1,04	1,04	96,55	1,29	1,33	96,70	0,51	0,53	88,03	5,67	6,45	101,05	0,82	0,81	90,06	0,48	0,53

Il est possible de commenter les résultats des paramètres statistiques RSD, qui sont donnés dans le tableau (3.3), nous remarquons que les valeurs trouvées sont en accord avec celles données par la pharmacopée.

Pour bien discuter les résultats nous traçant les graphes de la cinétique de dissolution qui donnent le taux de libération de Chlorhydrate de Metformine en % en fonction du temps (H) dans les quatre milieux de dissolution. Les résultats sont présentés dans les figures suivantes : **Figures (3.5 à 3.8)**

3.2.1. Résultats de la dissolution de Chlorhydrate de Metformine

- **Milieu de l'Eau purifiée**

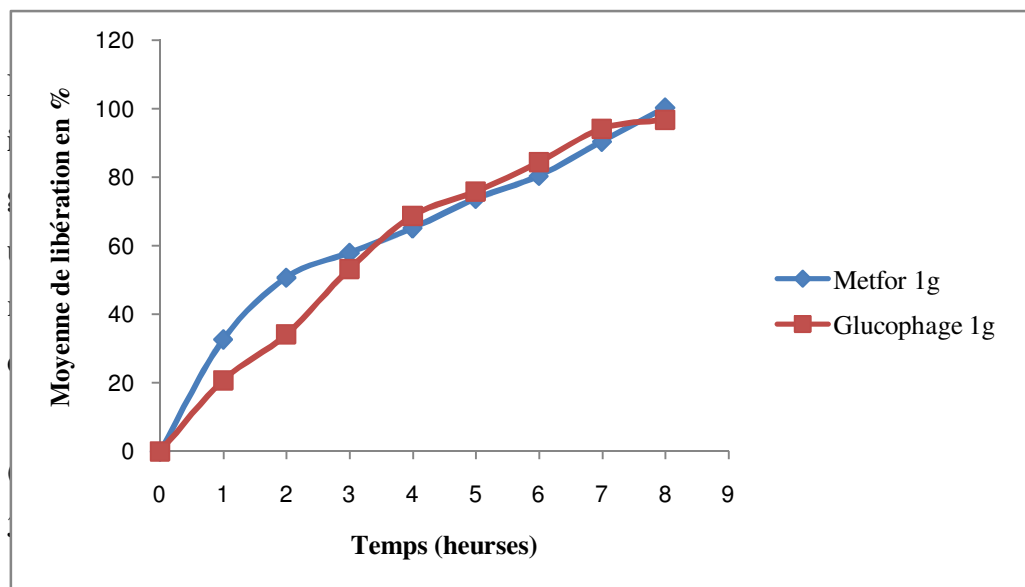


Figure (3.5) : Cinétique de dissolution de Metfor (generique) et Glucophage (princeps).

L'allure de profil de dissolution de la spécialité de référence et de la spécialité test confirme que celles-ci sont d'une forme à libération prolongée, vu que ces dernières atteignent leur dissolution pendant 8 heures.

Ces résultats montrent aussi que la dissolution de Metfor s'effectue de façon très rapide au bout des deux premières heures (50 % de Chlorhydrate de Metformine est libéré). Au delà de cette concentration, nous constatons une augmentation progressive jusqu'à atteindre une libération totale de (100 % au bout de 8H). D'autre part, la dissolution de

Glucophage se fait lentement durant les 8 heures avec une valeur maximale de l'ordre de 97 % de Chlorhydrate Metformine dissout.

De ce fait le générique et son princeps donnent respectivement des taux de libération de l'ordre de 33 % et 21 % (au bout de 1H), 65 % et 69 % (au bout de 4H) et 100% et 97 % (durant 8H). Ces résultats sont en concordance avec les spécifs de l'USP.

- **Milieu Tampon Acide**

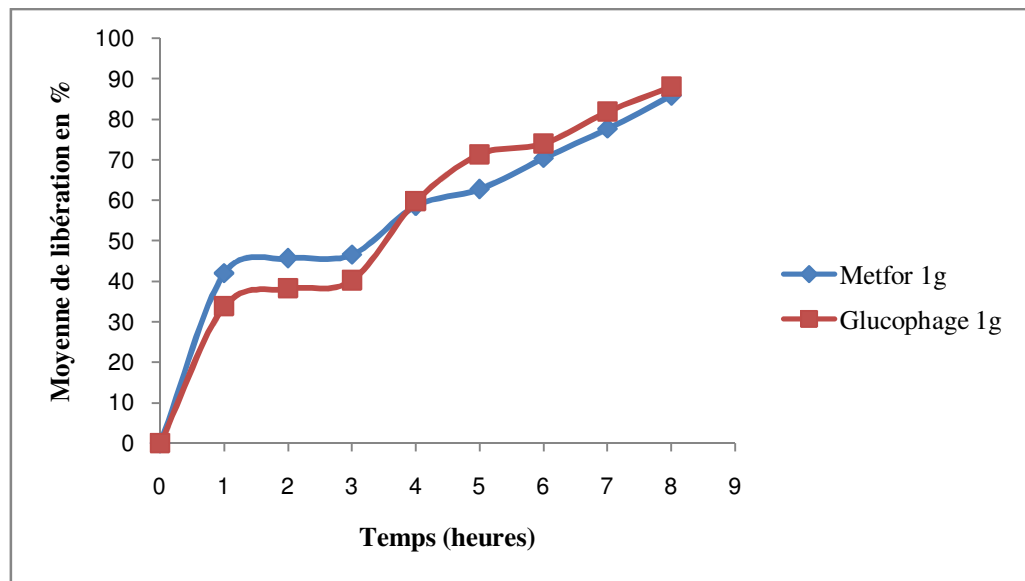


Figure (3.6) : Cinétique de dissolution de Metfor (générique) et Glucophage (princeps).

D'après les allures de courbes de la figure (3.6) nous remarquons que la dissolution du générique se fait de façon plus rapide et nous avons pu atteindre un pourcentage de 42% au bout de 1H contrairement au princeps où 34 % de Chlorhydrate de Metformine est libéré. Au bout de 4H nous obtenons des libérations de PA presque égales à partir de Metfor et Glucophage avec des pourcentages de (59 %) ; (60 %). Ensuite, la dissolution de ces derniers s'évolue pour atteindre (86 %) ; (88 %) de PA dissout à 8H. Ces résultats sont compris dans les limites d'acceptations.

- Milieu Tampon Acétate

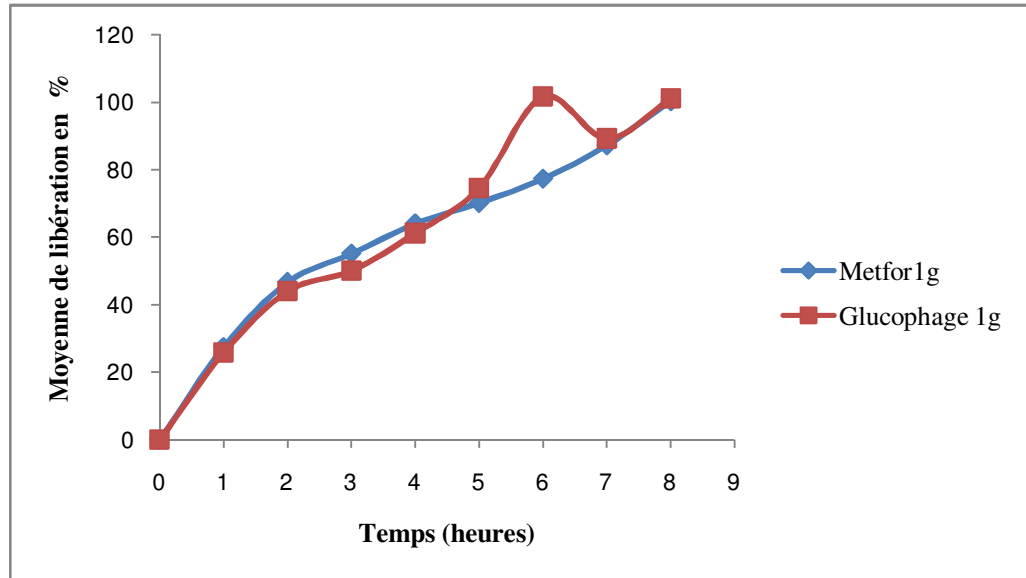


Figure (3.7) : Cinétique de dissolution de Metfor (générique) et Glucophage (princeps).

Nous constatons au vue des courbes illustrant le profil de dissolution du Metformin Hydrochloride à partir du générique et son princeps que la libération des PA s'effectue de façon lente et prolongée au cours du temps, la libération totale est atteinte au bout de 8h avec 100% de principe actif dissout.

Les pourcentages de dissolution atteignent pour le générique 27 % (à 1H), 64% (à 4H), 100% (à 8H) et pour le princeps des pourcentages de l'ordre 26 % (à 1H), 61 % (à 4H) et 100% (à 8H). Globalement ces résultats sont conformes par rapport aux limites d'acceptation.

- **Milieu Tampon Phosphate**

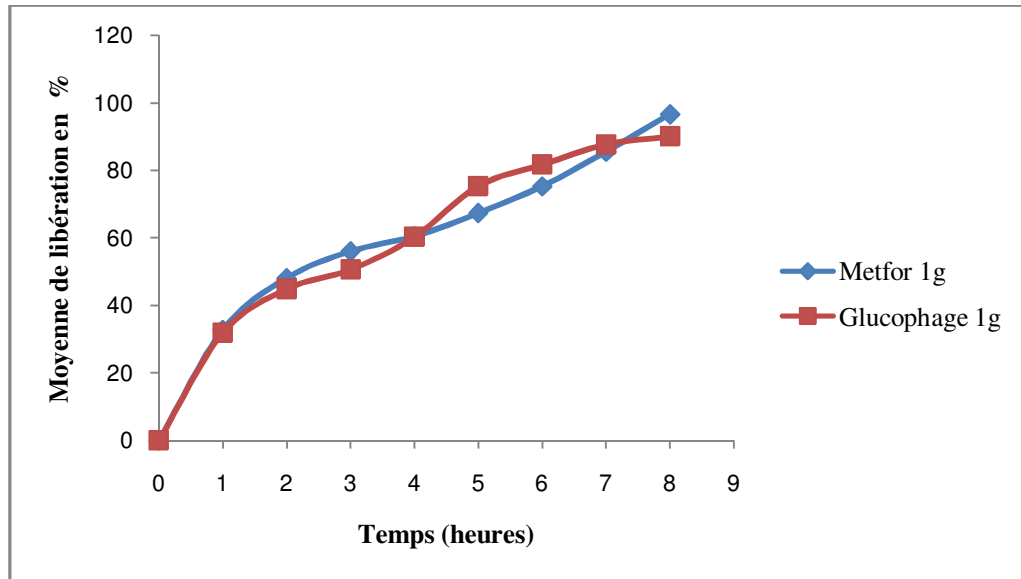


Figure (3.8) : Cinétique de dissolution de Metfor (générique) et Glucophage (princeps).

La dissolution de Metformine Hydrochloride à partir de Metfor (de 1H, 4H et 8H est de : 33 % ; 60 % et 97 %) se fait de façon régulière qu'avec le Glucophage (de 1H, 4H et 8H est de : 32 % ; 60 % ; 90 %). Ces résultats sont en accord avec les normes établies.

3.2.2. Calcul des Facteurs de similarité (f2) et de différence (f1)

Les résultats du calcul des f2 et f1 concernant les quatre milieux de dissolution sont illustrés dans le Tableau (3.4)

Tableau (3.4): Facteur de similarité et de différence de princeps (Glucophage) et son générique (Metfor).

Milieux	Facteurs de similarité (f2)	Facteurs de différence (f1)
pH=7	54,9	4,5
pH=1,2	61,4	0,5
pH=4,5	52,0	3,5
pH=6,8	64,9	0,2

Pour tous les milieux de dissolution étudiée, les résultats de ce tableau montrent clairement que les facteurs f_2 ($50 \leq f_2 \leq 100$) et f_1 ($0 \leq f_1 \leq 15$) sont incluses dans la fourchette acceptable, ce qui affirme la similarité des profils de dissolution des génériques avec leurs princeps.

3.3. RESULTATS DE LA MODELISATION DE CINETIQUE DE DISSOLUTION

Pour toutes les cinétiques étudiées, nous avons appliqués la méthode de résolution non linéaire sur le profil de dissolution des spécialités de références et leurs génériques. Les résultats d'ajustement sont présentés en termes de valeurs des paramètres caractéristiques de chaque modèle, et sont consignés dans les tableaux (3.5) et (3.6).

En se basant sur les résultats de ces modèles, nous avons sélectionné ceux qui s'avèrent les plus représentatifs avec des coefficients de corrélation de R^2 les plus élevés.

- **Médicament à libération immédiate**

Les résultats de coefficient de R^2 pour les trois modèles étudiés sont représentés dans le tableau (3.5).

Tableau (3.5) : Paramètres caractéristiques des modèles mathématiques appliqués sur Glavip et Galvus

Modèles		Glavip 50 mg			Galvus 50 mg		
		pH = 1.2	pH = 4.5	pH = 6.8	pH = 1.2	pH = 4.5	pH = 6.8
<i>Modèle d'El yazigi</i> $Q = K_s * K_d * A O * [(1 - \exp(-K_d.t)) / K_d - (1 - \exp(-K_s.t)) / K_s] / (K_s - K_d)$	K_s	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
	K_d	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
	AO	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
	R²	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
<i>Modèle d'ordre zéro</i> $Q = K t + Q_0$	K	0.38	0.58	0.78	0.00	0.00	0.05
	Q₀	79.74	63.47	61.59	99.99	86.87	95.45
	R²	0.91	0.79	0.78	0.99	0.99	0.99
<i>Modèle d'Higuchi modifiée</i> $Q = K t^n$	K	62.52	42.69	37.44	99.62	86.84	92.08
	N	0.11	0.19	0.24	0.00	0.00	0.01
	R²	0.94	0.94	0.87	0.99	0.99	0.99

A la lumière de toutes ces analyses statistiques réalisées sur le princeps (Glucophage) et son générique (Metfor), il apparaît de façon plus claire que les modèles pour lesquels le coefficient de corrélation R^2 sont proches de 1 sont applicables pour les quatre milieux de dissolution. Ces modèles sont :

- **d'El yazigi.**
- **d'ordre zéro.**
- **d'Higuchi modifiée**

CONCLUSION

La présente étude et qui a été réalisée dans le laboratoire de contrôle de médicament El kendi nous a amené à montrer l'importance accordée à la cinétique de dissolution afin d'établir une similarité entre le princeps et son générique, condition requise pour s'assurer de la qualité du générique avant d'accorder l'autorisation de la mise sur le marché (AMM) au fabricant.

Dans notre travail la détermination du pourcentage de dissolution des princeps et leurs génériques à base du Vildagliptine et Chlorhydrate de Metformine nous a permis de tracer les profils de dissolution de chacun d'eux.

L'étude de la première spécialité à libération immédiate effectuée dans les trois milieux de dissolution à différent pH (HCl, pH=4.5, pH=6.8) permet de dégager les points suivants :

- L'évaluation des résultats régit par le milieu HCl se sont avérés les plus intéressants conformes aux normes car à 15 min on a pu atteindre plus de 85 % de Vildagliptine libéré pour les deux spécialités Glavip et Galvus. Cela signifie la similarité de ces derniers. Donc ce milieu reflète mieux les conditions in vivo (l'écoulement du système gastro-intestinal)
- Les résultats de dissolution des deux autres milieux (pH=4.5 ; pH=6.8) présentent la non similarité entre les profils du fait que la libération de Vildagliptine n'arrive pas à atteindre les 85%. De ce fait il est indispensable de passer aux calculs des facteurs de similarité (f2) et de différence (f1) qui vient par la suite appuyer cette discordance avec une valeur inférieure à 50% pour f2 et une valeur inférieure à 15 pour f1. Ce qui confirme d'avantage la non similarité des profils des génériques par rapport aux princeps. Ces résultats prouvent que ce n'est pas leurs milieux de dissolution

L'étude de la deuxième spécialité à libération prolongée effectuée dans les quatre milieux de dissolution à différent pH (l'eau purifiée, pH=1.2, pH= 4.5, pH= 6.8) donne les résultats qui sont résumés comme suit :

- La dissolution de Chlorhydrate de Metformine dans l'eau purifiée est en bon accord avec les normes exigées par l'USP au regard de son comportement de dissolution qui est compris dans les limites d'acceptation (libération au bout de 1H, 4H, et 8H).
- Le calcul des facteurs de similarité (f2) et de différence (f1) donne des résultats acceptables ce qui permet de confirmer la similarité entre le princeps et son générique.
- Nous avons pu montrer que la variabilité des pH n'influence pas le comportement de dissolution de Metfor et Glucophage puisque une similarité dans tous les milieux de dissolution est obtenue.

L'étude de la modélisation des profils de dissolution de chaque médicament utilisé dans notre travail, par le biais des modèles mathématique issues de la bibliographie, permet de dégager les conclusions suivantes :

- La libération immédiate du principe actif du Vildagliptine a partir de princeps et son générique est bien ajustée par le modèle d'El-yazigi, modèle en puissance, au regard de son coefficient de corrélation R^2 dont sa valeur est de (99 %). Lorsque R^2 est proche de 1 le modèle est représentatif. Par contre l'ajustement des autres modèles (d'Ordre zéro, Higuchi modifiée) donnent des valeurs de R^2 qui sont tous loin de 1 de ce fait nous les ignorons.
- L'ajustement des modèles mathématiques sur les profils de dissolution des formes à libération prolongée montre l'applicabilité de tous les modèles étudiés (El-Yazigi d'Ordre zero, Higuchi modifié) avec des coefficients de corrélation proche de 1 et des paramètres caractéristiques des modèles ayant une signification physique.

Ce travail est loin d'être achevé et mérite d'être poursuivie afin d'améliorer la qualité des formes pharmaceutiques capables d'assurer une libération immédiate et prolongée du principe actif, offrant ainsi une bonne perspective.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] La spécialité pharmaceutique est décrite par un article de loi (Art L. 5111-2) dans le Code de la santé publique (CSP).]:France , législateurs ,Article L. 5111-2.du Code de la santé publique. Paru au JORF le 22/06/2000. disponible sur www.legifrance.gouv.fr (derniere consultation le 26/08/2013).
- [2] Médicament est précisé par un article législatif. Il s'agit de l'article L. 5111-1 du CSP. France , législateurs ,Article L. 5111-1.du Code de la santé publique. Paru au JORF le 27/02/2007 .disponible sur www.legifrance.gouv.fr (derniere consultation le 26/08/2013
- [3] J-M. AIACHE/S.AIACHE/R.RENOUX. « Initiation à la connaissance du médicament ». 4^{ème}Edition . Masson
- [4] J-M.AIACHE; J-G.BESMER; P.BURI; PP.MLESNE et collaborateurs. « Traité de biopharmacie et pharmacocinétique ». Edition Vigot 1985.
- [5]J-M.AIACHE;J-G.BESMER; P.BURI; PP.MLESNE et collaborateurs. « Traité de biopharmacie et pharmaco- cinétique ». 2^{ème} édition Vigot 1995.
- [6] James Swarbrick., 2007. Encyclopedia of pharmaceutical technology, third edition, Informa Healthcare USA, Inc. volume 1, 208-211.
- [7] Maroni A. M.E., Zema L., Busetti C., Giordano F., Gazzaniga A., 2001. In vitro and in vivo evaluation of an oral system for time and/or site-specific drug delivery, J. Control. Release, 103-110.
- [8]Robinson.G.W.J.R., 2002. In:Sustained- and Controlled-Release Drug-Delivery Systems, Drugs and Pharmaceutical Sciences; Modern Pharmaceutics, Ed.New York,501-528.
- [9] Vidal .2006. Les médicaments génériques. 9-12.
- [10] Tisseyre M., 1983, "introduction et définition des médicaments génériques", labo Pharma problèmes techniques, 31, 329 : 145-146.
- [11] Antognini G., 1987, "Les génériques", Journal Suisse de la Pharmacie, 14: 386.

- [12] EMA (European Medicines Agency), 2001, Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence, CPMP/EWP/QWP/1401/98. Consulté en Mars 2012 sur: <http://www.emea.europa.eu>
- [13] Faculté des sciences département de biochimie Laboratoire de biochimie et de microbiologie appliquées. « Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat 3ème cycle (LMD) En BIOCHIMIE » Intitulée : Etude d'un produit pharmaceutique, médicament générique à usage humain Présentée par : Melle OUAZOUAZ Meryem.
- [14] ANSM. Les médicaments génériques: des médicaments à part entière. 2012; Disponible sur : http://ansm.sante.fr/content/download/45165/585839/version/2/file/Ansm_RapportgeneriquesDecembre2012-v2.pdf [consultée le 20 oct 2013].
- [15] OSTAN Isabelle. Perception du médicament générique dix ans après le droit de substitution: Enquête auprès de pharmaciens d'officine et de patients en Haute-Garonne ; Pharmacie ; Toulouse: Paul Sabatier; 2009.
- [16] équivalence pharmaceutique de médicaments génériques STP pharma 11 2001
- [17] Jonnathan Goole., 2008. Développement et évaluation de mini comprimés flottants à libération prolongée », thèse de doctorat en science pharmaceutique, université de Bruxelles.
- [18] Serge Ferry., 2000. L'usage du médicament, Edition technique et documentation, 68-76.
- [19] James Swarbrick., 2007. Encyclopedia of pharmaceutical technology, third edition, Informa Healthcare USA, Inc. volume 1, 208-211.
- [20] Le Hir A., 2001. Abrégé de Pharmacie galénique : bonnes pratiques de fabrication des médicaments, 8ème édition. Masson.
- [21] Ludden, T.M., 1991. «Non-linear Pharmacokinetics», Clin Pharmacokinet, 429-446.
- [22] Pharmacopée USP
- [23] J-M. AIACHE; J-PR. DEVISSAGUET; A-M. GUYOT-HERMANN « Galenica 2, Biopharmacie » 2^{ème} édition Paris 1982.

- [24] « Enseignement post – universitaire médicament et prévention », revue de l'internat 2^{ème} partie N° 23, 2000.
- [25] Houin, G. 1990. Pharmacocinétique. Edition Ellipses.108
- [26] M. Bogaert, P. Chevalier. Equivalence clinique des génériques. Minerva ; vol 8 /numéro5 2009.
- [27] Pharmacopée Américaine USP37 (2014).
- [28]OMS. 1998. Organisation Mondiale de standardisation.
- [29] Alain le Hir, Denis Brossard, Jean-Claude Chaumeil. Pharmacie galénique : bonnes pratiques de fabrication des médicaments 9^{ème} édition 2009.
- [30] ShirzadAzarmi, Wilson Roac, RaimarL`obenberg. ReviewCurrent perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms. International Journal of Pharmaceutics 2007.
- [31] Shayne Cox Gad. Production and Processes 1^{ière} édition 2008
- [32] Mark R. Berry, Michael D. Likar Pfizer. Statistical assessment of dissolution and drug release profile similarity using a model-dependent approach Global. Journal of Pharmaceutical and BiomedicalAnalysis 2007.
- [33] Saeed A. Qureshi. Developing Discriminatory Drug Dissolution Tests and profiles: Some Thoughts for Consideration on the Concept and Its Interpretation. Dissolution Technologies ; NOVEMBER 2006.
- [34]Shah, V.P., Tsong, Y., Sathe ,P.,(1998) In vitro dissolution profiles comparison - statistics and analysis of the similarity factor,f2. Pharm.Research 15(6).
- [35] Even-Adin, D.,DeMuylder , J.A.,Sternon ;J., (2002) Les génériques : essentiellement similaire bioéquivalents mais non identiques. Journal de Pharmacie de Belgique 57.
- [36] Guidance for Industry Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms.center for drug evaluation and research august 1997
- [37] J-M.AIACHE;J-G.BESMER; P.BURI; PP.MLESNE et collaborateurs « Traité de biopharmacie et pharmaco- cinétique » 2^{ème} édition Vigot 1995
- [38] Ritschel W. A., 1989. Drug Dev. Ind. Pharm. 15, 1073.

[39] K., 2007. In: Biopharmacie et Biodisponibilité; Cours de Pharmacie Galénique et Biopharmacie, Université Libre de Bruxelles, p.66.

[40] Saeed A.Qureshi Iain J. McGilveray Typical variability in drug dissolution testing: study with USP and FDAcalibratorb tablets and a marketed drug (glibenclamide) product accepted 29 May 1998.

[41] P.BURI; E.DOELKER; J-P.BENOIT. « Formes pharmaceutiques nouvelles aspects technologique, bio pharmaceutiques et médical » .Edition Lavoisier Paris 1985

[42] A.EL-YAZIGI« Désintégration –dissolution analysis of per dissolved time data ». J. Pharm, Sci, N° 70, page 535, 1970.

[43] MARC BROSSEAUB. Sc. Présente à l'université du Québec à 3 rivières comme exigence partielle de la maîtrise en science de l'environnement. Etude de la toxicité et du contenu en toxines de certains champignons du Québec du genre amanita. Aout 1982.

[44] I. A. Savich, A. K. Pikaev, I. A. Lebedev and V. I. Spitsyn. , Vestnik. Moskov. Univ. 1956, 11, 225.

[45] CYRIL COLAS présenté pour obtenir le grade de docteur de l'école polytechnique « spécialité chimie ». « Développement de Méthodes Physico-Chimiques pour le contrôle de la Médication par l'Harpagophytum et l'eleutherococus, principe actifs utilisés en phytothérapie équine »

Annexe 1

Les facteurs influençant la biodisponibilité

Les caractéristiques du médicament :

- **Physico-chimiques** : pka (la forme non ionisée d'un médicament est absorbée plus facilement)
- **Hydro/lipo solubilité** La vitesse de dissolution d'un composé, est directement proportionnelle à sa solubilité dans le milieu digestif. Or, la vitesse de dissolution constitue très souvent la phase limitante de l'absorption du médicament, particularité qui est mise à profit pour sa durée d'action. C'est à ce niveau que la solubilité du médicament joue un rôle important.
- Pour ce qui est des règles de l'absorption au niveau de l'estomac et de l'intestin ; la facilité de passage d'un principe actif est fonction de sa lipophilie. Pour les non-électrolytes deux facteurs semblent importants : leur lipophilie et leur poids moléculaire. Pour les électrolytes, le pH est très important car la pénétration se fait alors essentiellement sous forme non ionisée. La forme galénique dans ce cas doit être telle qu'elle libère le principe actif à un niveau du tube digestif où il ne sera pas ionisé
- **Taille et morphologie de la molécule** : la réduction de la taille des particules conduit à une augmentation de la vitesse d'absorption ; généralement, les substances amorphes sont plus solubles que les cristaux.
- **La forme galénique (sirop, comprimé, gélule...)** qui détermine la vitesse de dissolution du médicament...

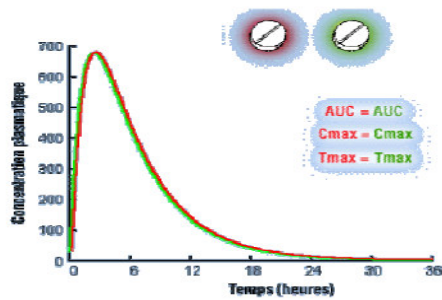
Les caractéristiques liés à l'individu :

- **Le pH digestif** la perméabilité ou la solubilité des enrobages influencent la libération des principes actifs. La solubilité de certains d'entre eux varie avec le pH du milieu.
- Il est à noter de plus que la libération du principe actif à partir d'une forme pharmaceutique peut varier avec les conditions de conservation de celle-ci.
- Les sucs gastro-intestinaux et la bile peuvent modifier l'état du principe actif par exemple en le « solubilisant » ou quelquefois en le re-précipitant après dissolution, ceci souvent par variation de pH.
- **Le pH digestif La vitesse de vidange gastrique et la mobilité intestinale.**
- **L'alimentation** : repas riche en graisses... le bol alimentaire peut intervenir sur la dissolution du principe actif, sur la rupture de l'enrobage, sur le délitement des comprimés et capsules,...
- **L'âge**
- **Les pathologies associées** : digestives, cardiaques (diminution débit...)

Annexe 2

La bioéquivalence

Profils plasmatiques de deux médicaments bioéquivalents



Profils plasmatiques de deux médicaments non bioéquivalents

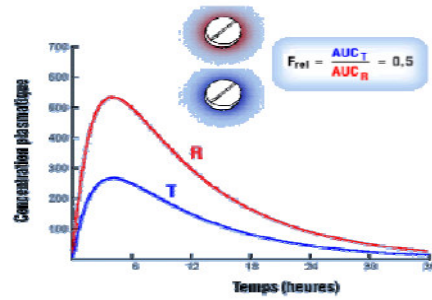


Figure (2.1) : Profils plasmatiques entre un médicament princeps et générique.

METHODE D'ANALYSE

Spectroscopie d'absorption dans l'UV visible



Figure (2.2) : photos d'un UV/VIS.

Annexe 3

Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Conception générale d'un appareil HPLC

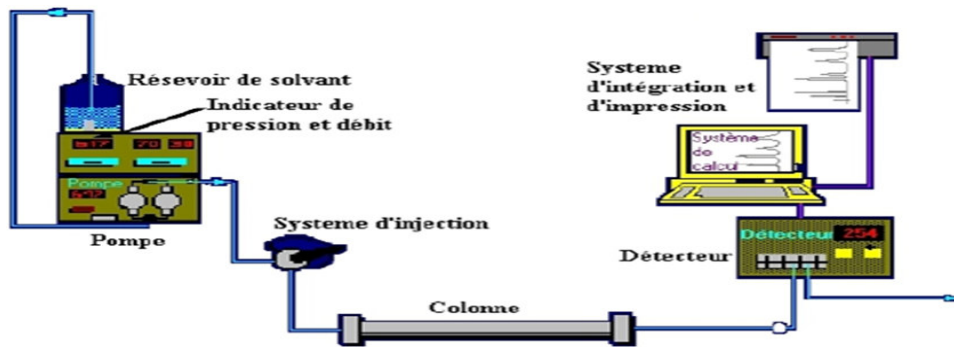


Figure (3.1) : Schéma de principe d'une chaîne d'HPLC

Grandeurs utilisées en chromatographie

Les grandeurs utilisées en chromatographie pour caractériser une méthode de séparation concernent essentiellement la colonne [16].

- **Facteur de rétention**

Le facteur de capacité k' permet de s'affranchir des paramètres géométriques de la colonne pour exprimer le temps de rétention t_r d'un analyte de façon relative par rapport à t_0 ,

$$K' = \frac{T_r - T_0}{T_0} \qquad T_r = t_0 (1 + k')$$

- **Sélectivité**

La sélectivité α est une grandeur qui permet de caractériser la distance qui sépare le sommet de deux pics chromatographiques consécutifs 1 et 2.

$$\alpha = \frac{tr_2 - T_0}{tr_1 - T_0} = \frac{K'2}{K'1}$$

Annexe 4

- **Efficacité**

L'efficacité d'une colonne est caractérisée par son nombre de plateaux théoriques N . Afin de pouvoir comparer les efficacités de séparation de colonnes de longueurs L différentes, on définit la hauteur équivalente à un plateau théorique H .

$$N = 16 \left(\frac{tr}{\omega} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{tr}{\omega} \right)^2 \qquad H = \frac{L}{N}$$

- **Résolution**

La résolution R_s mesure la séparation qu'il existe entre deux pics chromatographiques. Plus R_s est grand, meilleure est la séparation. Si les pics chromatographiques sont gaussiens, la séparation est pratiquement complète pour $R_s = 1$ (2 % de recouvrement entre les deux pics).

$$R_s = 2 \frac{(Tr_2 - Tr_1)}{\omega_2 + \omega_1}$$

- **Perte de charge**

La loi de Darcy exprime la perte de charge d'une colonne chromatographique, et donc sa résistance à l'écoulement. Ce paramètre est particulièrement important en chromatographie liquide [17].

$$\Delta P = \frac{\Phi \eta L u}{d_p^2}$$

ΔP : perte de charge (Pa); Φ : facteur de résistance à l'écoulement

η : viscosité dynamique de la phase mobile (Pa·s).

L : longueur de la colonne (cm); u : vitesse linéaire de la phase mobile (cm/s).

d_p : diamètre moyen des particules (cm).

Annexe 5

Les chromatogrammes obtenus par HPLC sont présentés dans les figures suivantes :

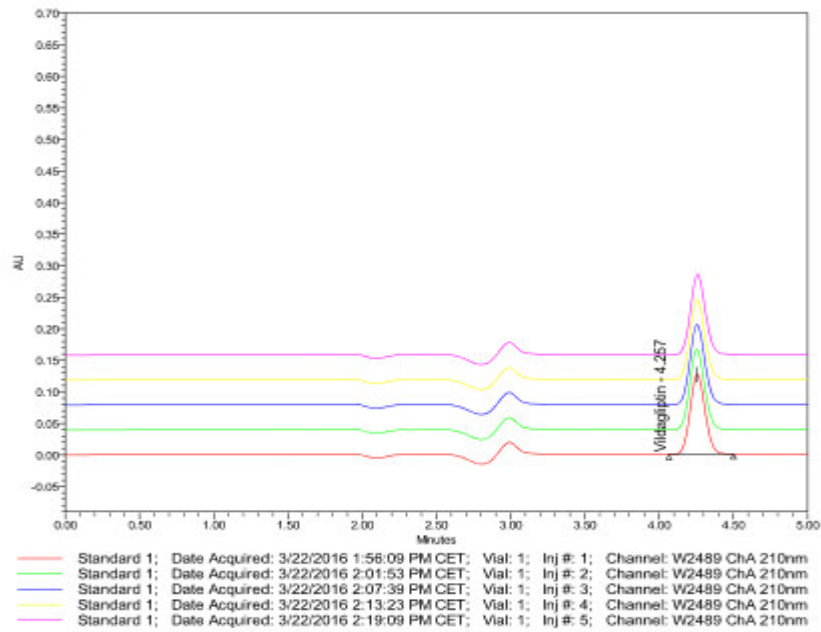


Figure (5.1) : chromatogramme du Système suitability (5 injections de Vildagliptine)

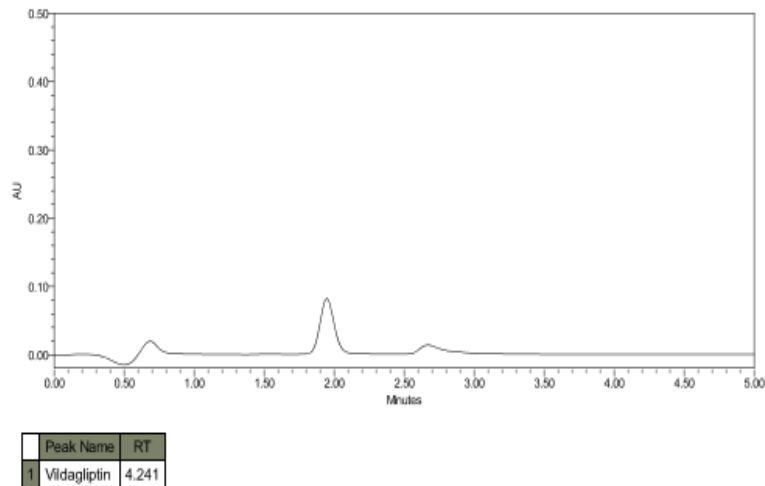


Figure (5.2) : chromatogramme de la phase mobile

Annexe 6

- **Pour le milieu acide Hcl 0.01 N**

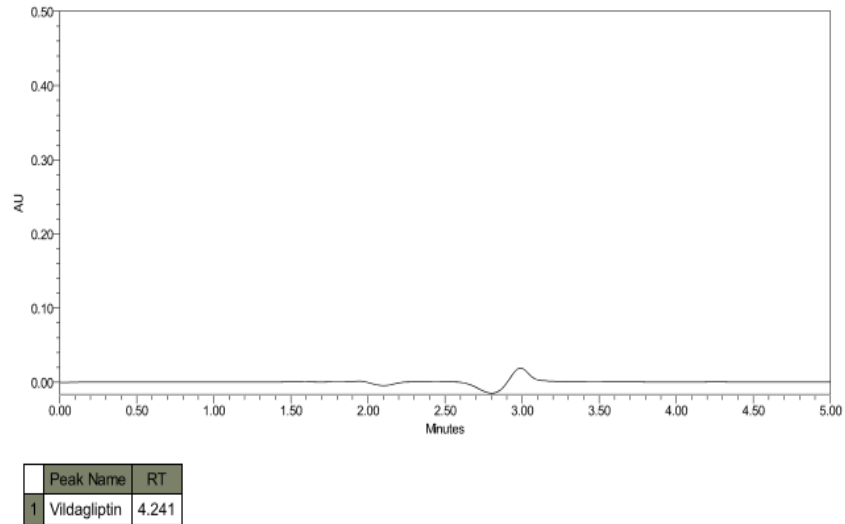


Figure (6.1) : Le chromatogramme du milieu HCl

Les chromatogrammes de l'essai du princeps (Galvus) et le générique (Glavip) sont représentés comme suit :

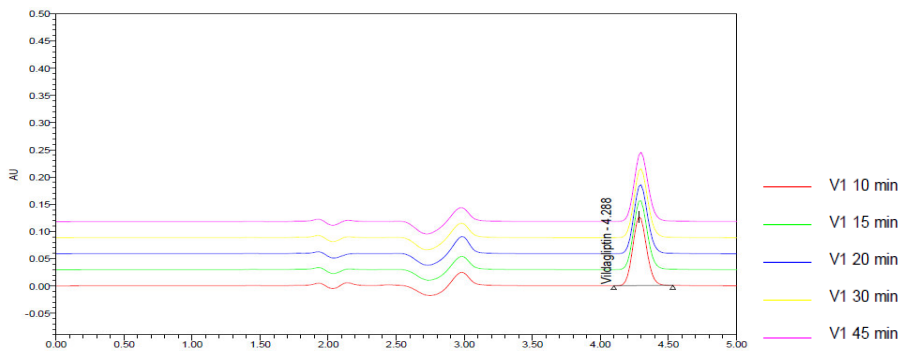


Figure (6.2) : Chromatogramme des essais de princeps.

Annexe 7

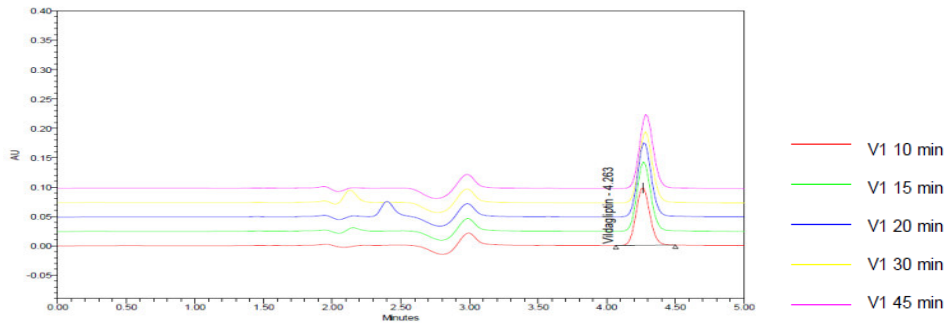


Figure (7.1) : Chromatogramme des essais du générique.

- Pour Le Milieu Tampon Acétate à pH= 4.5

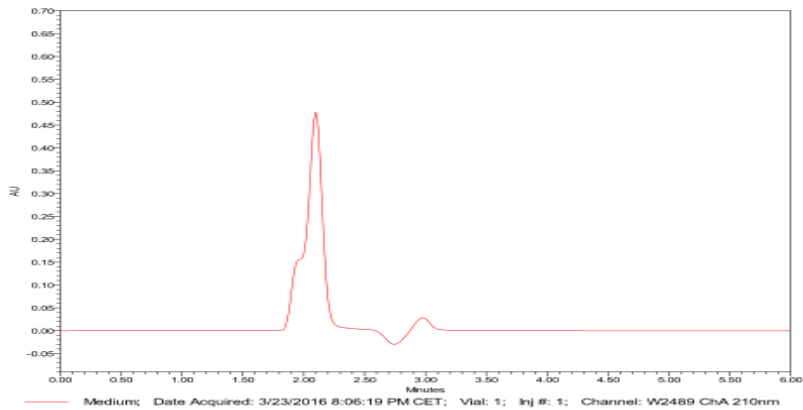


Figure (7.2) : Le chromatogramme du milieu à pH=4.5

Les chromatogrammes de l'essai du princeps (Galvus) et le générique (Glavip) sont représentés comme suit :

Annexe 8

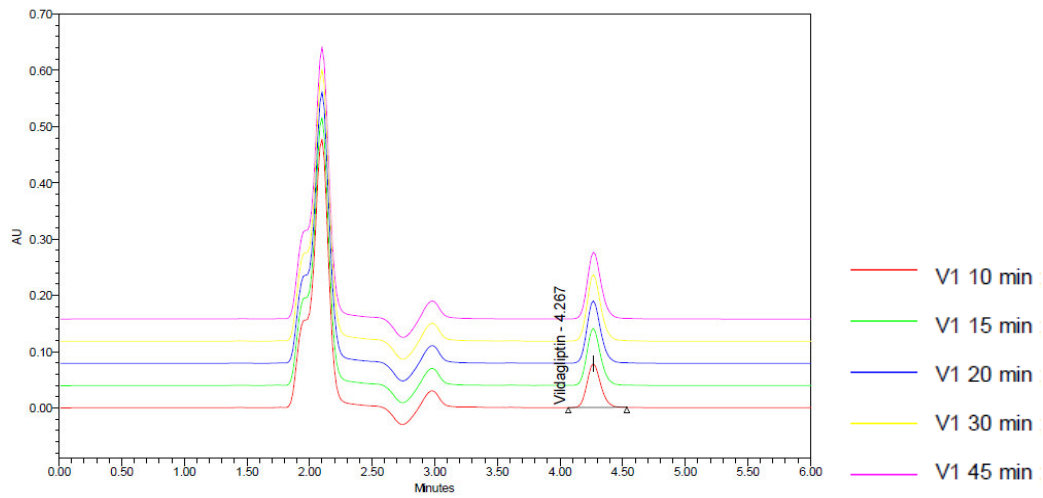


Figure (8.1) : le chromatogramme des essais du générique (Glavip).

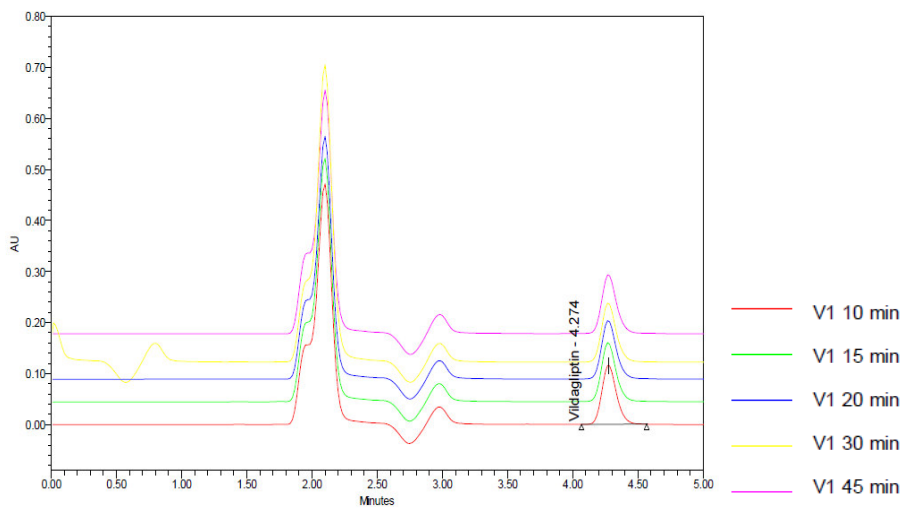


Figure (8.2) : le chromatogramme des essais du princeps (Glavus)

Annexe 9

- Le Milieu Tampon phosphate à pH= 6.8

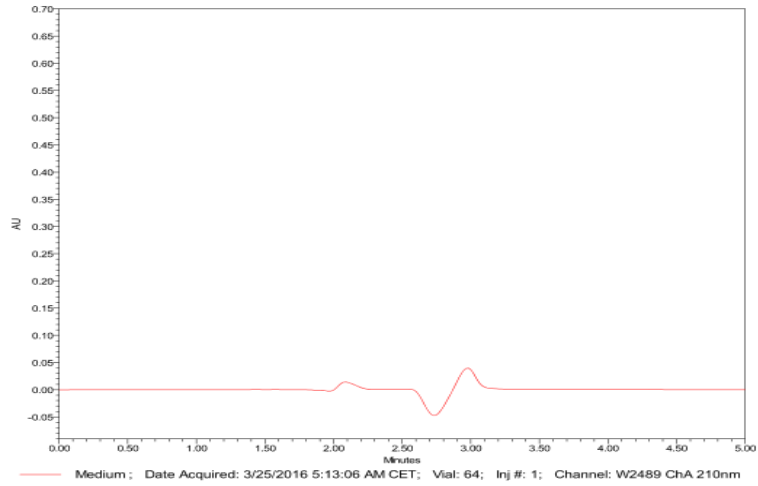


Figure (9.1) : Le chromatogramme du milieu à pH=6.8

Les chromatogrammes de l'essai du princeps (Galvus) et le générique (Glavip) sont représentés comme suit :

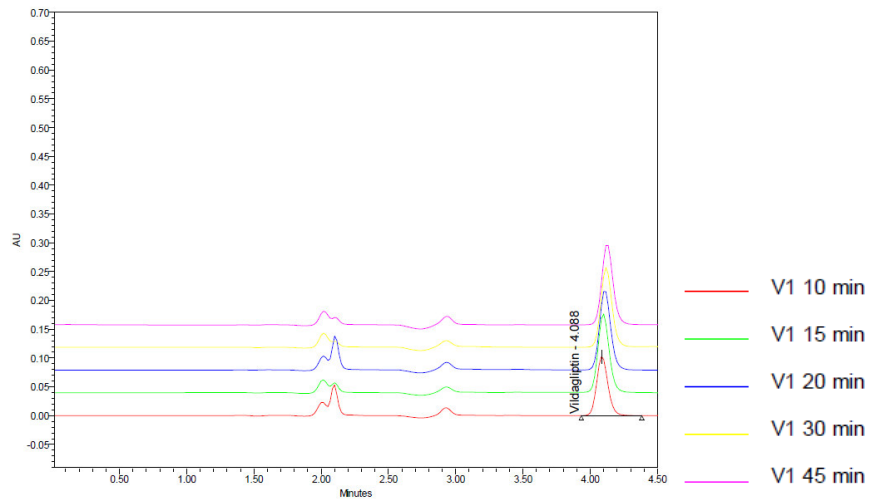


Figure (9.2) : le chromatogramme des essais du générique (Glavip)

Annexe 10

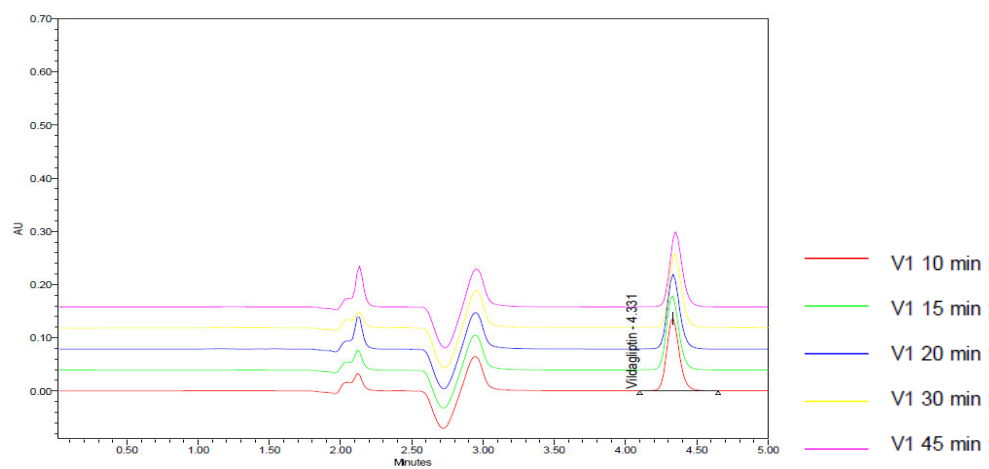


Figure (10.1) : le chromatogramme des essais du princeps (Galvus).