

Cinétiques de libération *in vitro* et *in vivo* de formulations rectales à différentes concentrations de quinine

A. A. KOFFI¹, S. AKA ANY-GRAH¹, B. J. KABLAN²

Résumé

L'objectif de ce travail était d'optimiser la mise à disposition rectale de la quinine chlorhydrate formulée dans des gels avec comme agent gélifiant l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC).

Des gels avec 1,5 % d'HPMC et à différentes concentrations de quinine base (20, 40, 60 et 80 mg/g) ont été réalisés. Ces gels ont fait l'objet d'études de viscosité, de libération *in vitro*, de biodisponibilité rectale et de tolérance rectale sur des lapins albinos.

Les gels réalisés étaient d'une très faible viscosité. Du gel 20 au gel 40, la biodisponibilité rectale absolue (F) de la quinine a augmenté de 8 %. Pourtant, le gel 20 (DT 50 de 52 min) a présenté un meilleur profil de libération *in vitro* que le gel 40 (DT 50 de 65 min). Les biodisponibilités rectales absolues des gels 60 et 80, respectivement de 81 et 81,5 %, étaient inférieures à celle du gel 40 (91,2 %). À l'exception du gel 80 qui a provoqué des ulcères, tous les autres gels ont présenté une tolérance rectale acceptable.

Le dosage 40 mg/g était donc le plus efficace pour une biodisponibilité rectale optimale de la quinine chlorhydrate formulé dans un gel à 1,5 % de HPMC.

Mots-clés : quinine, gel, HPMC, libération *in vitro*, biodisponibilité rectale.

In vitro and *in vivo* characteristics of delivery of rectal gel formulations with various concentrations of quinine

Abstract

The aim of this work was to improve the rectal bioavailability of quinine hydrochloride from hydroxyl-propylmethylcellulose (HPMC) based gels formulation.

Methods. Absorbent gel with 1,5 % of HPMC and with various quinine concentrations bases (20, 40, 60 and 80 mg/g) were carried out. This gel was the object of studies of viscosity, *in vitro* release, rectal bioavailability and rectal tolerance on albino rabbits.

The gels carried out were of a very low viscosity. Compared to gel 20, the absolute rectal bioavailability (F) of quinine of gel 40 increased by 8 %. However gel 20 (DT 50 of 52 min) presented a better profile of *in vitro* release than gel 40 (DT 50 of 65 min). The absolute rectal bioavailability of gel 60 and 80, respectively of 81 and 81,5 %, were lower than that of gel 40 (91,2 %). Except for the gel 80 which caused ulcers, all the other gel presented an acceptable tolerance on the rectal rabbit mucous membrane.

Presentation of 40 mg/g was thus most effective for an optimal rectal bioavailability of quinine hydrochloride in gel with 1,5 % of HPMC.

Keywords: quinine, gel, HPMC, *in vitro* release, rectal bioavailability.

¹ Laboratoire de Biopharmacie et de Pharmacie galénique, UFR des sciences pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan, 01 BP V 34 Abidjan 01, Téllex 26138.

² Laboratoire de pharmacologie et de pharmacodynamie, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan, 01 BP V 34 Abidjan 01, Téllex 26138.

Introduction

L'absorption rectale des drogues est souvent incomplète du fait de l'irrigation veineuse hémorroïdaire de la muqueuse rectale, des conditions physiologiques imposées par les réflexes de défécation et le très faible volume du liquide de l'ampoule rectale. Cette absorption limitée est accentuée lorsque le volume du médicament administré est important car une partie du médicament est rejetée avec l'activation du réflexe de défécation. De plus, une certaine quantité du médicament absorbé au niveau des veines hémorroïdales supérieures subit l'effet de premier passage hépatique et pourrait être éliminée sous formes de métabolites inactifs (VAN HOOGDALEM *et al.*, 1991 ; DE BOER et BREIMER, 1997). Développer des formulations permettant à la fois de réduire l'expulsion de la forme galénique après administration rectale et d'augmenter l'absorption du principe actif a constitué ces dix dernières années un objectif galénique dans de nombreuses études scientifiques (KIM *et al.*, 1984 ; LIVERSIDGE *et al.*, 1985 ; GRAHAM et McNEILL, 1986 ; DE BOER *et al.*, 1990 ; KAWAGUCHI *et al.*, 1991 ; WESTMAN *et al.*, 1994 ; MOOLENAAR *et al.*, 1995 ; YONG *et al.*, 2005). Deux principales méthodes sont mises en œuvre pour atteindre cet objectif. La méthode la plus utilisée est celle consistant à développer des gels mucoadhésifs et ou thermogélifiants (AKA ANY-GRAH *et al.*, 2010). Ces formulations permettent de localiser l'absorption au niveau de la partie inférieure du rectum par le phénomène de thermogélification et de l'augmenter par le phénomène de mucoadhésion (CHOI *et al.*, 1998 ; RYU *et al.*, 1999 ; YUN *et al.*, 1999 ; FAWAZ *et al.*, 2004 ; YONG *et al.*, 2004 ; RUEL-GARIEPY *et al.*, 2004 ; KOFFI *et al.*, 2008). La deuxième méthode consiste à augmenter la concentration en principe actif (ONYEJI *et al.*, 1999 ; KIM et KU, 2000). En effet, l'absorption au niveau de la muqueuse rectale se faisant par diffusion passive, plus la forme galénique administrée est concentrée en principe actif et plus vite se fait l'absorption selon le gradient de concentration.

Dans un précédent travail, nous avons réalisé un gel thermosensible à base de poloxamer 407 et un gel à base de HPMC renfermant 20 mg de quinine base par gramme de gel (FAWAZ *et al.*, 2004). Les différentes formulations du gel n'étaient pas suffisamment adhésives et rigides pour demeurer assez longtemps dans le rectum. Après administration, une quantité non déterminée de gel était rejetée. En outre, du fait du faible dosage des gels, le volume administré était assez important, favorisant ainsi leur rejet.

Le présent travail avait pour objectif de vérifier si l'optimisation des concentrations en quinine chlorhydrate dans des gels d'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) permettait d'améliorer la biodisponibilité de la quinine par voie rectale.

Matériels et méthodes

Matériels

L'Hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) de grade K4M était de COLORCON limited (N° série MM87091702 K). Le chlorhydrate de quinine était de COOPER France. La membrane de dialyse (Spectra/Pore®, MC CO 12000-14000, 16 mm diamètre) était des laboratoires Spectrum (Rancho Dominguez, CA, USA). Tous les autres composants (acide lactique, propane diol 1,2) et les solvants étaient de grade analytique et ont été fournis par Sigma (St. Louis, MO).

Préparation des solutions et des gels de quinine

Les différents mélanges ont été préparés en utilisant un agitateur rotatif (Rayneri-turbotest, Rayneri, France). La poudre d'HPMC a été additionnée graduellement sous agitation (1000 rpm), à la température ambiante, à la solution aqueuse composée du chlorhydrate de quinine, de propane diol-1,2 et d'acide lactique 0,5 %. Le pH a été ensuite ajusté à 5,3 pour éviter la précipitation de la quinine. Toutes les concentrations de quinine données dans cette étude sont exprimées en quinine base. Pour obtenir les gels à 20, 40, 60 et 80 mg de quinine base par gramme de gel, on a dissout dans l'eau acidifiée à l'acide lactique, du chlorhydrate de quinine en quantités respectives de 2,4 g, 4,8 g, 7,2 g et 9,6 g. L'homogénéité macroscopique de chaque préparation a été appréciée visuellement.

Etude rhéologique

Nous avons utilisé un rhéomètre rotatif de type CSL 100 (Carri-Med, distributeur Rhéo, Champlan, France). Il s'agissait d'un rhéomètre à contrainte imposée équipé d'une géométrie cône/plateau. Le cône utilisé de diamètre 4 cm, d'angle 3°58' et d'entrefer 110 micromètres était muni d'un piège à solvant et d'un couvercle de protection qui a permis d'éviter une évaporation de l'échantillon lors des mesures et de travailler à température constante. Le plateau inférieur était muni de diodes Peltier qui ont permis de réaliser un balayage en température entre 0 °C et 80°C avec une précision de 0,1 °C. Les modules d'élasticité (G'), de viscosité (G''), de même que la viscosité (η), ont été mesurés en faisant varier la température entre 20 °C et 40 °C. Chaque mesure fut répétée trois fois et la moyenne des valeurs calculée.

Cinétiques de libération *in vitro* de la quinine des formulations rectales

La libération *in vitro* de la quinine des gels rectaux a été conduite selon la méthode USP (Pharmacopée européenne 7^e édition, 2011) utilisant des paniers à une vitesse de rotation de 100 tr/min dans 1 000 ml d'eau désionisée à $37 \pm 0,5$ °C. Un système automatique de dissolution (SOTAX AT 7, Etats Unis) équipé d'un système d'analyse spectrophotométrique en continu a été utilisé. Pour chaque formulation, une quantité de préparation correspondant à 40 mg de quinine base était introduite dans un tube de dialyse Spectra/Pore® après en avoir ficelé hermétiquement une extrémité ; l'autre extrémité a été ensuite fermée pour obtenir un sac qui fut immédiatement introduit dans un panier. Six sacs ont été préparés pour chaque formulation. L'absorbance a été mesurée à 235 nm durant 6 h. La solution à 20 mg/ml de quinine base a été utilisée comme référence. Les temps de libération de 50 % (DT50) et de 80 % (DT80) de la teneur en principe actif de chaque formulation rectale ont été tirés des profils de dissolution. L'efficacité de dissolution fut calculée sur 6 h (ED6h %).

Etude pharmacocinétique

Les animaux

Les expériences ont été réalisées sur des lapins mâles albinos (Elevage du Vivalium, ENS, Côte d'Ivoire) de poids compris entre 2 – 2.5 kg. Les animaux étaient à jeun 24 h avant et 10 h après le traitement mais avaient libre accès à l'eau. Ils ont été répartis au hasard dans cinq groupes (six par groupe). Un groupe avait reçu la solution de quinine en intraveineux. Les quatre autres groupes avaient reçu chacun une des formulations rectales de quinine. Toutes les expériences

sur les animaux ont été réalisées selon les directives 86/609/CEE (Directive du Conseil (86/609/CEE)) et 87/302/CEE (Commission Directive 87/302/EEC, 1987) et conformément à la l'autorisation N° 378 du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche.

Administration des préparations et prélèvements sanguins

Pour chaque préparation, une dose unique équivalente à 12 mg de quinine base par kilogramme de poids corporel a été administrée. Une solution de quinine, contenant une dose calculée dans un volume final de 1.5 ml a été administrée pendant 1 min à travers la veine marginale de l'oreille. Les formulations rectales ont été administrées rapidement à l'aide d'une canule rectale. Avant l'administration rectale, le rectum du lapin a été vidé à l'aide d'une sonde de foley N° 8. Après l'administration rectale, le rectum du lapin a été clampé avec un clip dans le but de prévenir une fuite de la préparation. Après administration des différentes formulations de quinine, les échantillons de sang (1 ml) ont été prélevés par la veine marginale de l'oreille à des temps définis (0 min, 15 min, 30 min, 45 min, 60 min, 1 h 30, 2 h, 2 h 30, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h) sur 10 heures en utilisant des tubes héparinés. Le plasma a été isolé par centrifugation (3 000 tr/min), congelé et stocké à 4 °C en attendant le dosage.

Dosage de la quinine dans le sang et détermination des paramètres pharmacocinétiques

L'extraction de la quinine a été réalisée selon la méthode de Nielsen *et al.* (NIELSEN *et al.*, 1994). Brièvement, 250 μ l de plasma a été mélangé avec 25 μ l de NaOH 1M. La quinine a été ensuite extraite avec 3 ml de chlorure de méthylène. Le mélange a été centrifugé à 1500 rpm. Après élimination de la phase aqueuse, 2 ml de la phase organique ont été transférés dans un tube à essai et évaporés à sec à 45 °C. Le résidu a été ensuite dissous dans 1 ml de la phase mobile. Un échantillon de 50 μ l a été injecté dans la colonne. Cette dernière opération a été répétée trois fois. L'équipement HPLC a été composé d'une pompe Waters 501 (Waters, Saint-Quentin en Yvelines, France), d'un auto-injecteur Waters 712 WISP, d'un détecteur fluorimétrique Waters 474 et d'un intégrateur waters® 746. La séparation était réalisée à la température de la pièce sur une colonne Hyperchrome® (250 mm x 4 mm) remplie avec 5 μ m de Lichrospher 60 RP select B (Bischoff, Leonberg, Germany). La phase mobile était un mélange d'acétonitrile, méthanol et une solution de perchlorate de sodium à pH 2,5 (14 :16 :70) (v/v). La vitesse d'écoulement a été de 1ml/min. Les longueurs d'onde d'excitation et d'émission ont été respectivement de 330 nm et de 430 nm.

Le profil pharmacocinétique (C_{max} , T_{max} , AUC_{0-10} , $AUC_{10-\infty}$, Cl_r , V_d , MRT , MAT) a été déterminé suivant les méthodes décrites par Fawaz *et al.* (FAWAZ *et al.*, 2004) et koffi *et al.* (KOFFI *et al.*, 2008).

Etude de tolérance

Cette étude, réalisée selon la méthode de Percy *et al.* (PERCY *et al.*, 1993), a été premièrement exécutée sur tous les animaux utilisés dans l'étude pharmacocinétique et qui ont reçu en une fois une dose de 12 mg/kg par la voie rectale (groupe 1). Secondairement, chaque formulation rectale a été administrée en deux doses de 12 mg/kg à intervalle de six heures à un groupe de quatre lapins (groupe 2). Les lapins ont été préparés comme il a été décrit précédemment dans l'étude pharmacocinétique.

Préparations des tissus

Après 10 h d'incubation pour le groupe 1 et 6 h d'incubation pour le groupe 2, les lapins ont été euthanasiés avec du penthiobarbital (60 mg/kg). L'abdomen a été ouvert tout le long de la ligne médiane et 5 cm de côlon distal ont été localisés et excisés. Le bout de côlon a été ouvert le long de la bordure mésentérique et rincé dans une solution chaude de krebs pour éliminer les résidus de matière fécale. La préparation a été étendue avec la surface mucoale baignant dans le liquide de krebs. Des segments épais de 3 cm x 3 mm dans l'axe longitudinal ont été réalisés.

Evaluation des dommages de la muqueuse rectale

Les segments ouverts du colon du lapin étaient étendus à plat et fixés dans une solution à 10 % de formol. Ils ont été ensuite enchâssés dans de la paraffine. Des coupes de 4 μ m ont été montées sur lame puis colorées à l'hémaloxaline /éosine (H&E). Un examen histologique a été réalisé à la recherche de lésions ulcéreuses et/ou inflammatoire en utilisant un microscope optique. Des tissus prélevés dans des conditions identiques sur un lot blanc ayant reçu une solution aqueuse sans quinine ont constitué les coupes témoins.

Statistiques

Toutes les données ont été exprimées comme des valeurs moyennes \pm écart type. L'analyse statistique a été exécutée en utilisant le test ANOVA (Scheffe test). Les différentes moyennes étaient statistiquement considérées comme significatives au seuil $P < 0.05$.

Résultats

Les caractéristiques macroscopiques et rhéologiques des gels

Tous les gels réalisés étaient limpides et stables à la température du laboratoire (27 °C) et à 37 °C. Mais à la température de + 4 °C, la quinine a précipité sous forme de cristaux dans les gels à 60 et 80 mg mais est restée dissoute dans les gels à 20 et 40 mg.

Les courbes de l'évolution des modules d'élasticité (G') et de viscosité (G'') des différents gels en fonction de la température (figure 1) étaient de même allure. Ces valeurs diminuaient lorsque la température augmentait et le module de viscosité G'' (9.1 ± 2 N/m² à 20 °C et $4.3 \pm 1,5$ N/m² à 37 °C) était toujours supérieur au module d'élasticité G' (3.5 ± 1 N/m² à 20 °C et $0.8 \pm 0,1$ N/m² à 37 °C). L'évolution de la viscosité était également identique (1471 ± 50 mPa.s à 20 °C et 685 ± 12 mPa.s à 37 °C) (figure 1). Les gels étaient donc fluides à la température corporelle de 37 °C.

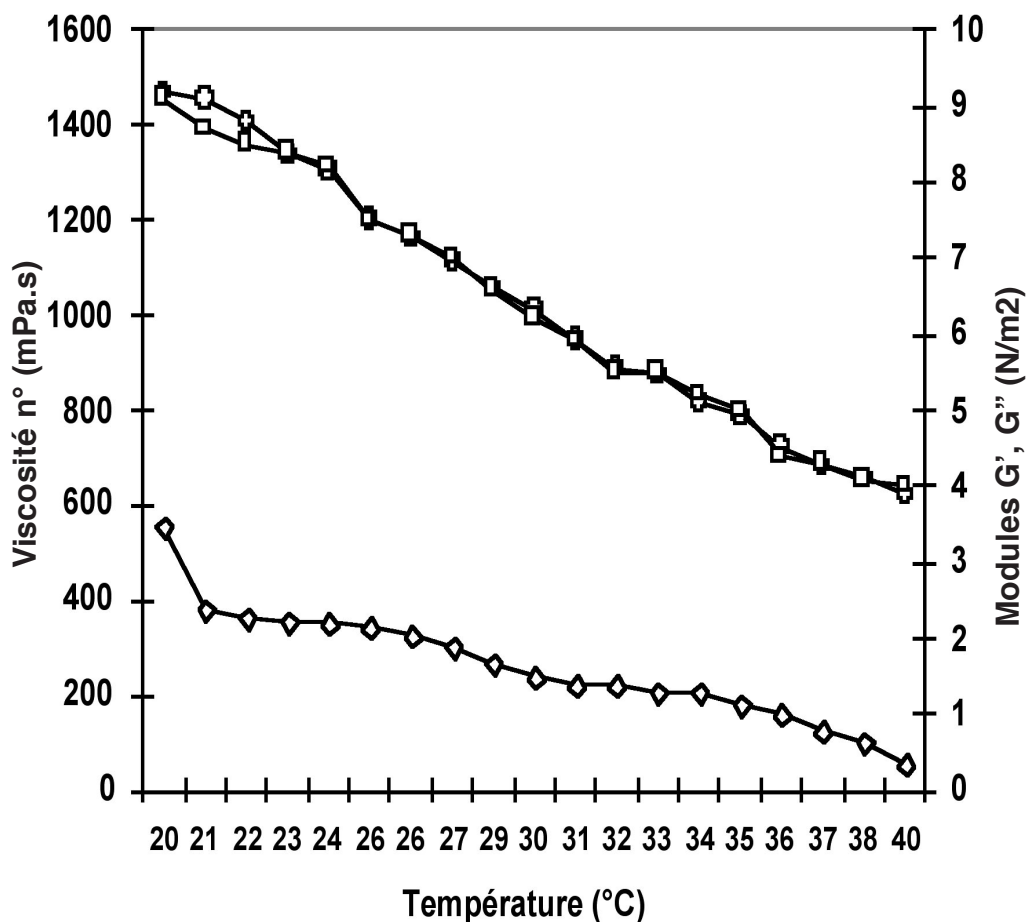


Figure 1. Variations des paramètres rhéologiques des gels à différentes concentrations de quinine (20, 40, 60 et 80 mg) en fonction de la température, à une fréquence $N = 1\text{Hz}$ et une contrainte $t = 60\text{ Pa}$.
 Viscosité η' (\circ), module d'élasticité G' (\diamond), module de viscosité G'' (\square)

Cinétique de libération *in vitro* de la quinine

Les profils de libération de la quinine des différents gels sont montrés dans la figure 2 et leurs principales caractéristiques de libération sont rapportées dans le tableau II.

Pour une prise d'essai identique de 40 mg de quinine base par sac, la vitesse de libération de la quinine était plus importante pour le gel 20 mg, suivie du gel à 40 mg. En effet les valeurs calculées de DT 50 des gels 20, 40, 60 et 80 mg étaient respectivement de 50 ± 3 ; $65 \pm 3,4$; $125 \pm 2,1$ et $140 \pm 1,7$ min.

En outre, au bout de 3 heures d'essai, plus de 70 % de la quinine étaient libérées des gels 20 et 40 mg, ce qui n'était pas le cas pour les gels 60 et 80 mg.

Pour comprendre les mécanismes de libération de la quinine à partir des gels, nous avons essayé de décrire la vitesse de libération en utilisant le modèle semi-empirique de KORSMEYER *et al.* (KORSMEYER *et al.*, 1983) et plus précisément l'équation proposée par Peppas (PEPPAS, 1983) comme décrite par Fawaz *et al.* (FAWAZ *et al.*, 2004).

Comme le montre le tableau I, toutes les valeurs moyennes de n étaient supérieures à 0,5 ce qui suggérait que la quinine était libérée des gels par une diffusion n'obéissant pas à la loi de Fick. Les valeurs de a indiquaient que la quinine était libérée plus lentement des gels que de la solution. La libération devenait de plus en plus lente lorsque la concentration des gels en quinine augmentait. En effet, des quatre gels, le gel 20 mg avait la plus haute valeur a (55 % / hⁿ) et le gel 80 mg avait la plus faible valeur a (25 % / hⁿ).

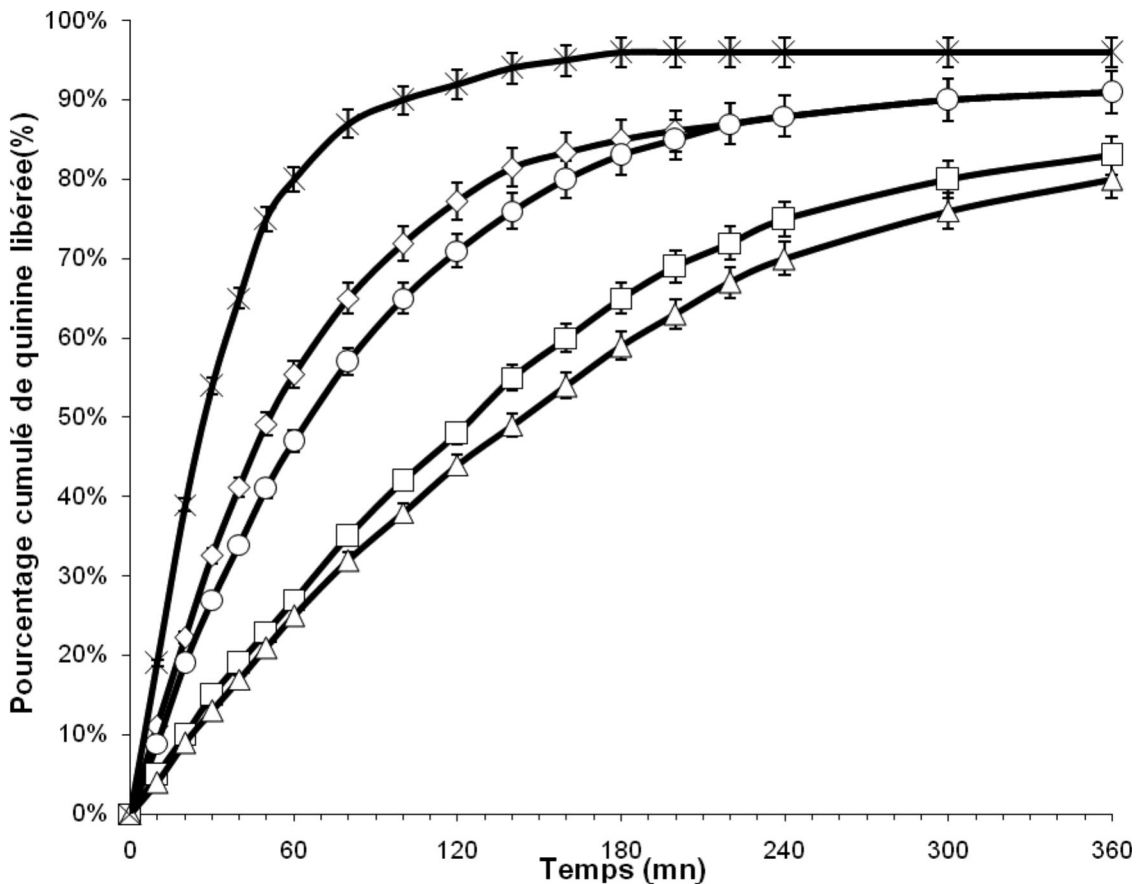


Figure 2. Pourcentage de libération de la quinine dans de l'eau désionisée (pH 6,9) en fonction du temps. Solution de quinine (x), gel 20 mg (◇), gel 40 mg (○), gel 60 mg (□), gel 80 mg (△).

Tableau I. Caractéristiques de la libération *in vitro* (dans l'eau désionisée à pH 6,9) de la quinine des gels et de la solution.

| Caractéristiques de dissolution | Solution rectale(A) | Gel à 20 mg (B) | Gel à 40 mg (C) | Gel à 60 mg (D) | Gel à 80 mg (E) | Statistiques Scheffe-test |
|--|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------------------|
| DT 50 (min) | 27 ± 1 | 52 ± 1,9 | 65 ± 1,4 | 125 ± 2,3 | 140 ± 1,9 | ABCDE |
| DT 80 (min) | 60 ± 3 | 134 ± 5,1 | 160 ± 2,1 | 300 ± 5,7 | 360 ± 9,1 | ACDBE |
| CARD 3 h (%) | 94 ± 2 | 85 ± 1,1 | 83 ± 3,4 | 65 ± 2,8 | 60 ± 1,5 | BAECD |
| CARD 6 h (%) | 96 ± 1,5 | 92 ± 0,7 | 91 ± 1,4 | 83 ± 0,9 | 80 ± 2 | BDCAE |
| ED (6 h) (%) | 86 ± 1,5 | 74 % | 71 % | 56 % | 52 % | CEABD |
| Indice de libération (n) | 1,02 | 1,12 | 0,99 | 0,90 | 1,01 | |
| Vitesse constante de libération (a (%/h)) | 79,8512 | 55,4324 | 47,8772 | 27,7692 | 25,6559 | |
| Coefficient de corrélation (r) | 0,8777 | 0,9512 | 0,9753 | 0,9978 | 0,9962 | |

DT 50 : Temps de libération de 50 % de la concentration initiale en quinine de l'échantillon

DT 80 : Temps de libération de 80 % de la concentration initiale en quinine de l'échantillon

CARD3h : Quantité cumulée de principe actif libéré sur les trois premières heures ;

CARD6h : Quantité cumulée de principe actif libéré sur six heures ;

ED 6h (%) : Efficacité de dissolution calculée sur 6 heures.

Toutes les valeurs étaient exprimées comme des valeurs moyennes ± S.D.

n était déterminée en considérant la portion de la courbe de libération où $M_t/M_\infty < 0,6$

Etude pharmacocinétique

La figure 3 présente les profils de concentrations plasmatiques moyennes en fonction du temps de la quinine après l'administration rectale des différents gels et de la solution de quinine, de même que après l'administration intraveineuse de la solution de quinine. Les principaux paramètres pharmacocinétiques sont résumés dans le tableau II.

Parmi toutes les formulations rectales, le gel 40 mg avait montré le C_{max} le plus élevé (1310 ± 180 ng/ml). Mais les différences entre les valeurs de C_{max} des gels 20, 60 et 80 mg, respectivement de 714 ± 161 , 693 ± 107 et 659 ± 134 ng/ml, n'étaient pas statistiquement significatives.

Les aires sous la courbe AUC_{0-10} et $AUC_{0-\infty}$ du gel 40 mg, respectivement de 1929 ± 101 ng.h/ml et 2509 ± 185 ng.h/ml, étaient significativement plus élevées ($P = 0,001$ et $0,0001$) que celles obtenus avec les gels 20, 60 et 80 mg/g. Les valeurs du gel 40 mg étaient aussi supérieures à celles de la solution rectale à 20 mg/ml, mais n'étaient pas significativement différentes de celles de la solution intraveineuse.

Le gel 40 mg avait présenté donc les meilleures biodisponibilités absolues (91,25) et relatives (145,2). Les paramètres d'élimination k_e et $t_{1/2}$ étaient identiques pour tous les gels. De même que tous les autres paramètres pharmacocinétiques (TMR, TMA, k_a , Cl_T et V_d) ne présentaient aucune différence significative pour tous les gels étudiés.

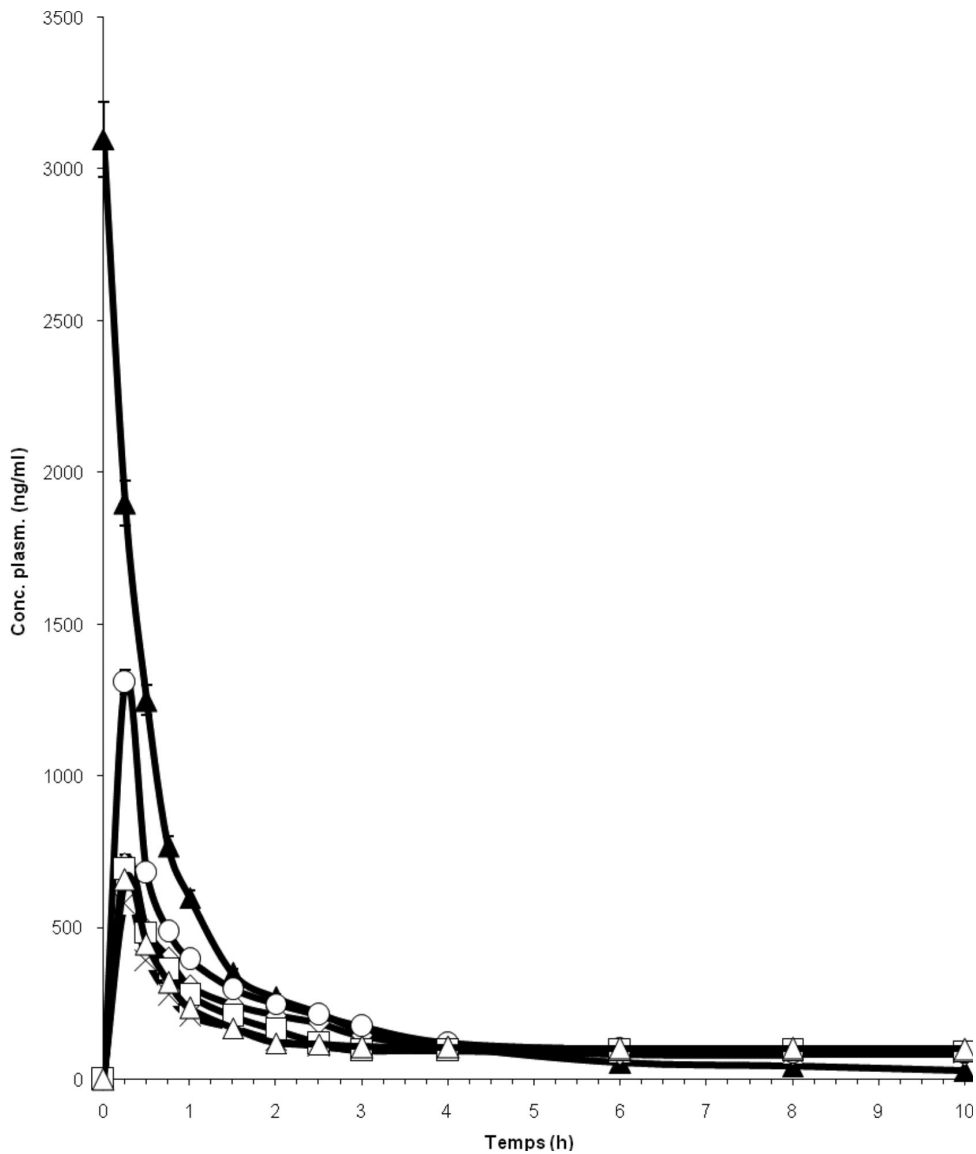


Figure 3. Profils des concentrations plasmatiques en fonction du temps après administration d'un bolus intraveineux et de préparations rectales de quinine (solution, gels d'HPMC à 20, 40, 60 et 80 mg). (Moyennes \pm écart type, $n = 6$). Solution intraveineuse de quinine (\blacktriangle), solution rectale de quinine (\times), gel 20 mg (\diamond), gel 40 mg (\circ), gel 60 mg (\circ), gel 80 mg (Δ).

Tableau II. Paramètres de biodisponibilité et pharmacocinétiques (valeurs moyennes \pm S.D.) suite à l'administration intraveineuse d'une solution de quinine, de solution et de gels de quinine par voie rectale (12 mg de quinine base / kg) à six groupes de lapins (une formulation pour chaque groupe).

| Caractéristiques Pharmacocinétiques | Administration intraveineuse | Administration rectale | | | | |
|--|---------------------------------|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | Solution mg/ml | Gel 20 mg | Gel 40 mg | Gel 60 mg | Gel 80 mg |
| C_{\max} (ng/ml) | - | 580 \pm 97 | 714 \pm 161 | 1310 \pm 180 | 693 \pm 107 | 659 \pm 134 |
| t_{\max} (h) | - | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 |
| AUC ₀₋₁₀ (ng h/ml) | 2610 \pm 92 | 1260 \pm 95 | 1533 \pm 128 | 1929 \pm 101 | 1433 \pm 145 | 1406 \pm 110 |
| AUC _{0-∞} (ng h/ml) | 2750 \pm 112 | 1728 \pm 75 | 2 317 \pm 152 | 2509 \pm 185 | 2225 \pm 180 | 2241 \pm 231 |
| F (%) ^a | 100 | 62,8 | 84,3 | 91,25 | 81 | 81,5 |
| F' (%) ^b | - | 100 | 134 | 145,2 | 128,7 | 129,7 |
| k_e (h ⁻¹) | 0,24 \pm 0,03 | 0,19 \pm 0,02 | 0,12 \pm 0,02 | 0,12 \pm 0,02 | 0,12 \pm 0,02 | 0,12 \pm 0,02 |
| $t_{1/2}$ (h) | 2,23 \pm 0,19 | 3,64 \pm 0,51 | 5,77 \pm 0,92 | 5,87 \pm 0,56 | 5,82 \pm 0,38 | 5,72 \pm 0,42 |
| MRT (h) | 2,17 \pm 0,22 | 6,93 \pm 0,85 | 8,79 \pm 0,75 | 8,83 \pm 0,79 | 8,87 \pm 0,98 | 8,92 \pm 0,97 |
| MAT (h) | - | 4,82 | 6,44 | 6,50 | 6,56 | 6,7 |
| k_a (h ⁻¹) | - | 0,2074 | 0,1553 | 0,1538 | 0,1524 | 0,1492 |
| Cl _T (l/(hkg)) | 4,40 \pm 0,37 | 4,29 \pm 0,41 | 4,52 \pm 0,39 | 4,39 \pm 0,56 | 4,47 \pm 0,31 | 4,45 \pm 0,62 |
| V _d (l/kg) | 17,67 \pm 2,2 | 22 \pm 1,7 | 37,66 \pm 4,2 | 37,20 \pm 3,5 | 37,56 \pm 2,7 | 36,77 \pm 3,6 |

C_{\max} : concentration plasmatique maximale; t_{\max} : temps au bout duquel C_{\max} est atteint ;

F : biodisponibilité absolue ; F' : biodisponibilité relative ; k_e : constante de vitesse d'élimination; $t_{1/2}$: temps de demi-vie d'élimination; AUC₀₋₁₀ : aire sous la courbe du taux plasmatique en fonction du temps entre les temps 0 et 10 heures ; AUC_{0-∞} : aire totale sous la courbe plasmatique ; TMR : Temps moyen de résidence ; TMA : temps moyen d'absorption ; k_a : constante d'absorption; Cl_T : clairance totale ; V_d : volume apparent de distribution.

^a solution IV utilisée comme référence standard

^b solution rectale utilisée comme référence standard

Etude de la tolérance

Pour les gels 20 et 40 mg, tous les lapins ayant reçu soit une dose unique, soit deux fois la dose de 12 mg/kg espacées de 6 heures n'ont pas présenté de lésions de la muqueuse rectale. Pour le gel 60 mg, la dose unique de 12 mg/kg n'a pas occasionné de dommages chez tous les lapins, tandis que deux fois la même dose a provoqué chez trois lapins sur quatre une hypervascularisation localisée sans ulcère.

Pour le gel 80 mg, les lapins ayant reçu une dose unique de 12 mg/kg ont présenté une hypervascularisation sans ulcère de la muqueuse rectale. Cependant les lapins ayant reçu les deux doses ont présenté des ulcères avec une hypervascularisation sur la muqueuse rectale.

Discussions

Influence de la concentration en quinine sur le comportement rhéologique des gels

La concentration en chlorhydrate de quinine, dans l'intervalle des doses de 20 à 80 mg/g, n'a pas présenté d'influence significative sur le comportement rhéologique des lapins. Dans l'intervalle de températures de 20 °C à 40 °C, le module de viscosité (G'') a été nettement supérieur au module élastique (G'). Ces gels ont présenté donc un comportement plastique. Les gels de viscosité élevée à 25 °C sont devenus très fluides à 37 °C. Cette baisse de viscosité pourrait expliquer les fuites après administration des gels observées par Fawaz *et al.* (FAWAZ *et al.*, 2004) ; ces fuites seraient à l'origine de la baisse importante de l'absorption de quinine après administration rectale chez les lapins albinos.

La cinétique de libération *in vitro* de la quinine

La vitesse de libération *in vitro* de la quinine était inversement proportionnelle à la concentration de quinine chlorhydrate dans le gel. Ce résultat découlerait de l'importance du volume de l'échantillon prélevé qui était lié à la concentration en quinine base du gel. En effet, en réalisant des sacs renfermant chacun 40 mg de quinine base, les gels 20, 40, 60 et 80 mg ont donné respectivement des sacs de 2 g, 1 g, 0,67 g et 0,5 g de poids correspondant à des volumes de 2,24 ml, 1,12 ml, 0,75 ml et 0,56 ml considérant que la densité de ces gels était de 1,12. Plus le volume du sac d'échantillon était important plus la surface de contact entre le sac et le milieu de dissolution était importante. Les sacs réalisés avec le gel 20 mg ont donc présenté une surface de contact plus importante avec le milieu de dissolution que tous les autres gels.

L'étude pharmacocinétique

L'analyse des résultats pharmacocinétiques a permis de vérifier que l'évolution des cinétiques de libération *in vitro* des gels 20 et 40 mg n'était pas comparable à celle des taux plasmatiques après administration rectale. Cependant, entre les gels 20, 60 et 80 mg les C_{max} ont évolué dans le même sens que les cinétiques de libération *in vitro*.

Les valeurs de AUC_{0-10} et $AUC_{0-\infty}$ pour le gel 40 mg étaient significativement plus élevées ($P = 0,001$ et $0,0001$) que celles trouvées pour le gel 20 mg et la solution rectale. Ce résultat n'était pas en accord avec l'efficacité de dissolution *in vitro* ED6h % qui était identique pour les deux gels, suggérant que la diffusion de la quinine du gel 20 mg était plus rapide *in vitro* qu'*in vivo*. La valeur de l' $AUC_{0-\infty}$ trouvée pour le gel 40 mg pourrait être expliquée par l'importance de son absorption rectale à cause du volume administré qui permettrait non seulement un bon étalement sur la muqueuse rectale, mais aussi une concentration optimale de la quinine au site d'administration. Les valeurs des gels 60 et 80 mg, presque identiques à celles du gel 20 mg, mais significativement plus faibles que celles du gel 40 mg pourraient être expliquées par leurs volumes administrés qui ne permettraient pas un étalement suffisant sur la muqueuse rectale.

La meilleure biodisponibilité, en termes de biodisponibilité absolue (F) ou de biodisponibilité relative (F'), a été obtenue avec le gel 40 mg ($F = 91,25$ et $F' = 145\%$).

On n'a pas trouvé de différence significative entre les valeurs moyennes du temps de demi vie ($t_{1/2}$) de la quinine chez le lapin pour tous les gels. Les temps moyens de résidence, TMR, de tous les gels rectaux quelle que soit la concentration en quinine base ont été presque identiques et significativement plus élevés ($P < 0,002$) que les TMR obtenus avec la solution rectale et avec la solution I.V. de quinine. Ce résultat, déjà rapporté par Fawaz *et al.* (FAWAZ *et al.*, 2004), suggérait une libération prolongée de la quinine des gels au niveau de la muqueuse rectale du lapin.

La tolérance rectale des gels

Des quatre dosages, seul le gel 80 mg a présenté une mauvaise tolérance rectale. Ce résultat pourrait s'expliquer par une concentration trop importante de quinine au contact d'une surface assez réduite de la muqueuse rectale.

Conclusion

En passant d'un gel de 20 mg de quinine base /g à un gel de 40 mg/g, la biodisponibilité rectale absolue de la quinine chlorhydrate est passée de 84 à 91 %. Les biodisponibilités absolues des gels 60 et 80 mg, bien que satisfaisantes car supérieures à 80 %, étaient inférieures à celle du gel 40 mg/g. On en déduit que l'augmentation dans certaines limites (L 60 %) de la concentration en quinine base dans le gel a influencé positivement la biodisponibilité de la quinine.

Le dosage 40 mg de quinine base par gramme de gel a été le plus efficace des quatre dosages testés (20, 40, 60 et 80 mg/g) pour une biodisponibilité optimale de la quinine chlorhydrate dans le gel à base de 1,5 % de HPMC administré par voie rectale chez le lapin.

Références bibliographiques

- AKA-ANY-GRAH A., BOUCHEMAL K., KOFFI A., AGNELY F., ZHANG M., DJABOUROV M., PONCHEL G., 2010.** Formulation of mucoadhesive vaginal hydrogels insensitive to dilution with vaginal fluids. *Euro. J. Pharm. Biopharm.*, 76: 296–303
- CHOI H.G., OH Y.K., KIM CK.,1998.** In situ gelling and mucoadhesive liquid suppository containing acetaminophen: enhanced bioavailability. *Int. J. Pharm.*, 165 (1): 23-32.
- Commission Directive 87/302/EEC** of 18 November 1987 adapting to technical Progress for the ninth time Council Directive 67/548/EEC on the approximation of laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous substances
- De BOER A. G., BREIMER D. D., 1997.** Hepatic first-pass effect and controlled drug delivery following rectal Administration. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 28 (2): 229-237.
- De BOER A. G., VAN HOOGDAL E. J., HEIJLIGERS-FELJEN C. D., VERHOEF J., BREIMER D. D., 1990.** Rectal absorption enhancement of peptide drugs. *J. Control. Release*, 13 (2-3): 241-246
- Directive du Conseil (86/609/CEE)** du 24 novembre 1986 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à la protection des animaux utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques.
- FAWAZ F., KOFFI A., GUYOT M., MILLET P., 2004.** Comparative in vitro-in vivo study of quinine rectal gel formulations. *Int. J. Pharm.*, 280: 151 – 162.
- GRAHAM N. B., MCNEILL M. E., 1986.** Hydrogels for controlled drug delivery. *Biomaterials*, 5 (1): 27-36.
- KAWAGUCHI T., HASEGAWA T., JUNI K., SEKI T., 1991.** Rectal absorption of Zidovudine . *Int. J. Pharm.*, 77(1): 71-74.
- KOFFI A. A., AGNELY F., BESNARD M., KABLAN BROU J., GROSSIORD J. L., PONCHEL G., 2008.** In vitro and *in vivo* characteristics of a thermogelling and bioadhesive delivery system. *Euro. J. Pharm. Biopharm.*, 69 (1):167-175.

- KIM S., NISHIHATA T., KAWABE S., OKAMURA Y., KAMADA A., YAGI T., KAWAMORI R., SHICHIRI M., 1984.** Effect of gelatin in the formulation on rectal insulin absorption in the presence of enamine in normal rats and depancreatized dogs. *Int. J. Pharm.*, 21(2): 179-186.
- KIM J. Y., KU Y. S., 2000.** Enhanced absorption of indomethacin after oral or rectal administration of a self-emulsifying system containing indomethacin to rats. *Int. J. Pharm.*, 194 (1): 81-89.
- KORSMEYER R. W., GURNY R., DOELKER E. M., BURI P., PEPPAS N. A., 1983.** Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int. J. Pharm.*, 15: 25 – 35.
- LIVERSIDGE G.G., NISHIHATA T., ENGLE K. K., HIGUCHI T., 1985.** Effect of rectal suppository formulation on the release of insulin and on the glucose plasma levels in dogs. *Int. J. Pharm.*, 23(1): 87-95.
- MOOLENAAR F., MEYLER P., FRIJLINK E., JAUW T.H., VISSER J., PROOST H., 1995.** Rectal absorption of morphine from controlled release suppositories. *Int. J. Pharm.*, 114(1): 117-120.
- NIELSEN F., NIELSEN K.K., BROSEN K., 1994.** Determination of quinidine, dihydroquinidine, (3S)-3-hydroxyquinidine and quinidine-N-oxide in plasma and urine by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr., B* 660 : 103–110.
- ONYEJI C. O., ADEBAYO A. S., BABALOLA C. P., 1999.** Effets of absorption enhancers in chloroquine suppository formulations : I: In vitro release characteristics. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 9 (2): 131-136.
- PEPPAS N. A., 1985.** Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers. *Pharm. Acta. Helv.*, 60: 110 – 111.
- PERCY W. H., BURTON M. B., ROSE K., DONOVAN V., BURAKOFF R., 1993.** *In vitro* changes in the properties of rabbit colonic muscularis mucosae in colitis. *Gastroenterology*, 104:369-376.
- Pharmacopée Européenne 7^e édition, 2011.** Chapitre 2.9.3 (Essais de dissolution des formes orales solides): pages 284 et 287.
- RUEL-GARIÉPY E., LEROUX J-C., 2004.** In situ forming hydrogels review of temperature sensitive systems. *Eur. J. Pharm. and Biopharm.*, 58 (2): 409-426.
- RYU J-M., CHUNG S-J., LEE M-H., KIM C-K., SHIM C-K., 1999.** Increased bioavailability of propranolol in rats by retaining thermally gelling liquid suppositories in the rectum. *J. Control. Release*, 59 (2): 163-172.
- YONG C. S., OH Y. K., KIM Y. I., KIM J. O., YOO B. K., RHEE J. D., LEE K. C., KIM D. D., PARK Y. J., KIM C. K., CHOI H. G., 2005.** Physicochemical characterization and in vivo evaluation of poloxamer-based solid suppository containing diclofenac sodium in rats. *Int. J. Pharm.*, 301(1-2): 54-61.
- YONG C. S., YANG C. H., RHEE J. D., LEE B. J., KIM D. C., KIM D. D., KIM C. K., CHOI J. S., CHOI H. G., 2004.** Enhanced rectal bioavailability of ibuprofen in rats by poloxamer 188 and menthol. *Int. J. Pharm.*, 269 (1): 169-176.
- YUN M. O., CHOI H. G., JUNG J. H., KIM C. K., 1999.** Development of a thermo-reversible insulin liquid suppository with bioavailability enhancement . *Int. J. Pharm.*, 189(2): 137-145. .
- VAN HOOGDAL E. J., De BOER A. G., BREIMER D. D., 1991.** Pharmacokinetics of rectal drug administration: Part II: clinical applications of peripherally acting drugs, and conclusions. *Clin. Pharmacokinet.*, 21:110-128.
- WESTMAN L., KAMANDA S., HELLGREN U., ERICSSON O., ROMBO L., 1994.** Rectal administration of chloroquine for treatment of children with malaria. *Trans. Royal. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 88 (4): 446.