

UNIVERSITE MOHAMMED V

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE : 2011

THESE N° : 16

**TESTS DE STRESS ET DOSAGE DES PRODUITS DE
DÉGRADATION : APPORT DANS LE DÉVELOPPEMENT
PHARMACEUTIQUE**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le: 04 février 2011

PAR

Mr. Sif-Eddine HASNI

Né le 01 novembre 1985 à Taourirt

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN PHARMACIE

MOTS CLES: Tests de stress – Glimépiride – HPLC/PDA – Développement pharmaceutique

MEMBRES DE JURY

Mr. J. TAOUFIK

Professeur de Chimie Thérapeutique

Mr. Y. CHERRAH

Professeur de Pharmacologie

Mr. M. DRAOUI

Professeur de Chimie Analytique

Mr. A. BOUKLOUZE

Professeur d'Applications Pharmaceutiques

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِمَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)



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

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ

1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH

1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK

1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI

1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI

1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Najia HAJJAJ

Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines

Professeur Mohammed JIDDANE

Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération

Professeur Ali BENOMAR

Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie

Professeur Yahia CHERRAH

Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb

Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed

Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLI Abdeslam

Neurochirurgie

Pr. MESBAHI Redouane

Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid

Cardiologie

6. Pr. EL MANOUAR Mohamed

Traumatologie-Orthopédie

7. Pr. HAMANI Ahmed*

Cardiologie

8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih

Chirurgie Cardio-Vasculaire

9. Pr. SBIHI Ahmed

Anesthésie – Réanimation

Pr. TAOBANE Hamid*

Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

11. Pr. ABROUQ Ali*

Oto-Rhino-Laryngologie

12. Pr. BENOMAR M'hammed

Chirurgie-Cardio-Vasculaire

13. Pr. BENSOUA Mohamed

Anatomie

14. Pr. BENOSMAN Abdellatif

Chirurgie Thoracique

15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Physiologie

Novembre 1983

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

Pneumo-physiologie
Pédiatrie
Neurochirurgie
Rhumatologie
Cardiologie

Décembre 1984

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

Neurochirurgie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Immuno-Hématologie
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

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

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

Janvier, Février et Décembre 1987

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

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

Décembre 1988

- 44. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib
- 45. Pr. DAFIRI Rachida
- 46. Pr. FAIK Mohamed
- 47. Pr. HERMAS Mohamed
- Pr. TOLOUNE Farida*

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

- 49. Pr. ADNAOUI Mohamed
- 50. Pr. AOUNI Mohamed
- 51. Pr. BENAMEUR Mohamed*
- 52. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali
- 53. Pr. CHAD Bouziane
- 54. Pr. CHKOFF Rachid
- 55. Pr. FARCHADO Fouzia ép.BENABDELLAH
- 56. Pr. HACHIM Mohammed*
- 57. Pr. HACHIMI Mohamed

Médecine Interne
Médecine Interne
Radiologie
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Pathologie Chirurgicale
Pédiatrique
Médecine-Interne
Urologie

58. Pr. KHARBACH Aïcha
 59. Pr. MANSOURI Fatima
 60. Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda
 61. Pr. SEDRATI Omar*
 62. Pr. TAZI Saoud Anas

Gynécologie -Obstétrique
 Anatomie-Pathologique
 Neurologie
 Dermatologie
 Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

63. Pr. AL HAMANY Zaitounia
 64. Pr. ATMANI Mohamed*
 65. Pr. AZZOUZI Abderrahim
 66. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM
 67. Pr. BELKOUCHI Abdelkader
 68. Pr. BENABDELLAH Chahrazad
 69. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif
 70. Pr. BENSOUHA Yahia
 71. Pr. BERRAHO Amina
 72. Pr. BEZZAD Rachid
 73. Pr. CHABRAOUI Layachi
 74. Pr. CHANA El Houssaine*
 75. Pr. CHERRAH Yahia
 76. Pr. CHOKAIRI Omar
 77. Pr. FAJRI Ahmed*
 78. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*
 79. Pr. KHATTAB Mohamed
 80. Pr. NEJMI Maati
 81. Pr. OUAALINE Mohammed*
 82. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH
 83. Pr. TAOUFIK Jamal

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

Décembre 1992

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

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

Mars 1994

100. Pr. AGNAOU Lahcen
 101. Pr. AL BAROUDI Saad
 102. Pr. BENCHERIFA Fatiha

Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Ophtalmologie

- | | |
|--|---|
| 103. Pr. BENJAAFAR Noureddine | Radiothérapie |
| 104. Pr. BENJELLOUN Samir | Chirurgie Générale |
| 105. Pr. BEN RAIS Nozha | Biophysique |
| 106. Pr. CAOUI Malika | Biophysique |
| 107. Pr. CHRAIBI Abdelmjid | Endocrinologie et Maladies Métaboliques |
| 108. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT | Gynécologie Obstétrique |
| 109. Pr. EL AOUAD Rajae | Immunologie |
| 110. Pr. EL BARDOUNI Ahmed | Traumato-Orthopédie |
| 111. Pr. EL HASSANI My Rachid | Radiologie |
| 112. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur | Médecine Interne |
| 113. Pr. EL KIRAT Abdelmajid* | Chirurgie Cardio- Vasculaire |
| 114. Pr. ERROUGANI Abdelkader | Chirurgie Générale |
| 115. Pr. ESSAKALI Malika | Immunologie |
| 116. Pr. ETTAYEBI Fouad | Chirurgie Pédiatrique |
| 117. Pr. HADRI Larbi* | Médecine Interne |
| 118. Pr. HASSAM Badredine | Dermatologie |
| 119. Pr. IFRINE Lahssan | Chirurgie Générale |
| 120. Pr. JELTHI Ahmed | Anatomie Pathologique |
| 121. Pr. MAHFOUD Mustapha | Traumatologie – Orthopédie |
| 122. Pr. MOUDENE Ahmed* | Traumatologie- Orthopédie |
| 123. Pr. OULBACHA Said | Chirurgie Générale |
| 124. Pr. RHRAB Brahim | Gynécologie –Obstétrique |
| 125. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR | Dermatologie |
| 126. Pr. SLAOUI Anas | Chirurgie Cardio-Vasculaire |

Mars 1994

- | | |
|---------------------------------|----------------------------|
| 127. Pr. ABBAR Mohamed* | Urologie |
| 128. Pr. ABDELHAK M'barek | Chirurgie – Pédiatrique |
| 129. Pr. BELAIDI Halima | Neurologie |
| 130. Pr. BRAHMI Rida Slimane | Gynécologie Obstétrique |
| 131. Pr. BENTAHILA Abdelali | Pédiatrie |
| 132. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali | Gynécologie – Obstétrique |
| 133. Pr. BERRADA Mohamed Saleh | Traumatologie – Orthopédie |
| 134. Pr. CHAMI Ilham | Radiologie |
| 135. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae | Ophtalmologie |
| 136. Pr. EL ABBADI Najia | Neurochirurgie |
| 137. Pr. HANINE Ahmed* | Radiologie |
| 138. Pr. JALIL Abdelouahed | Chirurgie Générale |
| 139. Pr. LAKHDAR Amina | Gynécologie Obstétrique |
| 140. Pr. MOUANE Nezha | Pédiatrie |

Mars 1995

- | | |
|--|-------------------------|
| 141. Pr. ABOUQUAL Redouane | Réanimation Médicale |
| 142. Pr. AMRAOUI Mohamed | Chirurgie Générale |
| 143. Pr. BAIDADA Abdelaziz | Gynécologie Obstétrique |
| 144. Pr. BARGACH Samir | Gynécologie Obstétrique |
| 145. Pr. BEDDOUCHE Amoqrane* | Urologie |
| 146. Pr. BENZAOUZ Mustapha | Gastro-Entérologie |
| 147. Pr. CHAARI Jilali* | Médecine Interne |
| 148. Pr. DIMOU M'barek* | Anesthésie Réanimation |
| 149. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine* | Anesthésie Réanimation |

- | | |
|--------------------------------------|--|
| 150. Pr. EL MESNAOUI Abbes | Chirurgie Générale |
| 151. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila | Oto-Rhino-Laryngologie |
| 152. Pr. FERHATI Driss | Gynécologie Obstétrique |
| 153. Pr. HASSOUNI Fadil | Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène |
| 154. Pr. HDA Abdelhamid* | Cardiologie |
| 155. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed | Urologie |
| 156. Pr. IBRAHIMY Wafaa | Ophtalmologie |
| 157. Pr. MANSOURI Aziz | Radiothérapie |
| 158. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia | Ophtalmologie |
| 159. Pr. RZIN Abdelkader* | Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale |
| 160. Pr. SEFIANI Abdelaziz | Génétique |
| 161. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali | Réanimation Médicale |

Décembre 1996

- | | |
|--|------------------------------------|
| 162. Pr. AMIL Touriya* | Radiologie |
| 163. Pr. BELKACEM Rachid | Chirurgie Pédiatrie |
| 164. Pr. BELMAHI Amin | Chirurgie réparatrice et plastique |
| 165. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim | Ophtalmologie |
| 166. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan | Chirurgie Générale |
| 167. Pr. EL MELLOUKI Ouafae* | Parasitologie |
| 168. Pr. GAOUZI Ahmed | Pédiatrie |
| 169. Pr. MAHFOUDI M'barek* | Radiologie |
| 170. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid | Chirurgie Générale |
| 171. Pr. MOHAMMADI Mohamed | Médecine Interne |
| 172. Pr. MOULINE Soumaya | Pneumo-physiologie |
| 173. Pr. OUADGHIRI Mohamed | Traumatologie-Orthopédie |
| 174. Pr. OUZEDDOUN Naima | Néphrologie |
| 175. Pr. ZBIR EL Mehdi* | Cardiologie |

Novembre 1997

- | | |
|--------------------------------|-------------------------|
| 176. Pr. ALAMI Mohamed Hassan | Gynécologie-Obstétrique |
| 177. Pr. BEN AMAR Abdesselem | Chirurgie Générale |
| 178. Pr. BEN SLIMANE Lounis | Urologie |
| 179. Pr. BIROUK Nazha | Neurologie |
| 180. Pr. BOULAICH Mohamed | O.R.L. |
| 181. Pr. CHAOUIR Souad* | Radiologie |
| 182. Pr. DERRAZ Said | Neurochirurgie |
| 183. Pr. ERREIMI Naima | Pédiatrie |
| 184. Pr. FELLAT Nadia | Cardiologie |
| 185. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra | Radiologie |
| 186. Pr. HAIMEUR Charki* | Anesthésie Réanimation |
| 187. Pr. KANOUNI NAWAL | Physiologie |
| 188. Pr. KOUTANI Abdellatif | Urologie |
| 189. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid | Chirurgie Générale |
| 190. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ | Pédiatrie |
| 191. Pr. NAZI M'barek* | Cardiologie |
| 192. Pr. OUAHABI Hamid* | Neurologie |
| 193. Pr. SAFI Lahcen* | Anesthésie Réanimation |
| 194. Pr. TAOUFIQ Jallal | Psychiatrie |
| 195. Pr. YOUSFI MALKI Mounia | Gynécologie Obstétrique |

Novembre 1998

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

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

Novembre 1998

205. Pr. BENKIRANE Majid*
206. Pr. KHATOURI ALI*
207. Pr. LABRAIMI Ahmed*

Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

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

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

Novembre 2000

227. Pr. AIDI Saadia
228. Pr. AIT OURHROUI Mohamed
229. Pr. AJANA Fatima Zohra
230. Pr. BENAMR Said
231. Pr. BENCHEKROUN Nabih
232. Pr. CHERTI Mohammed
233. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
234. Pr. EL HASSANI Amine
235. Pr. EL IDGHIRI Hassan
236. Pr. EL KHADER Khalid
237. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
238. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
239. Pr. HSSAIDA Rachid*

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation

240. Pr. LACHKAR Azzouz
 241. Pr. LAHLOU Abdou
 242. Pr. MAFTAH Mohamed*
 243. Pr. MAHASSINI Najat
 244. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
 245. Pr. NASSIH Mohamed*
 246. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Décembre 2001

247. Pr. ABABOU Adil
 248. Pr. AOUAD Aicha
 249. Pr. BALKHI Hicham*
 250. Pr. BELMEKKI Mohammed
 251. Pr. BENABDELJLIL Maria
 252. Pr. BENAMAR Loubna
 253. Pr. BENAMOR Jouda
 254. Pr. BENELBARHDADI Imane
 255. Pr. BENNANI Rajae
 256. Pr. BENOUCHEANE Thami
 257. Pr. BENYOUSSEF Khalil
 258. Pr. BERRADA Rachid
 259. Pr. BEZZA Ahmed*
 260. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
 261. Pr. BOUHOUCHE Rachida
 262. Pr. BOUMDIN El Hassane*
 263. Pr. CHAT Latifa
 264. Pr. CHELLAOUI Mounia
 265. Pr. DAALI Mustapha*
 266. Pr. DRISSI Sidi Mourad*
 267. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira
 268. Pr. EL HIJRI Ahmed
 269. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
 270. Pr. EL MADHI Tarik
 271. Pr. EL MOUSSAIF Hamid
 272. Pr. EL OUNANI Mohamed
 273. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil
 274. Pr. ETTAIR Said
 275. Pr. GAZZAZ Miloudi*
 276. Pr. GOURINDA Hassan
 277. Pr. HRORA Abdelmalek
 278. Pr. KABBAJ Saad
 279. Pr. KABIRI EL Hassane*
 280. Pr. LAMRANI Moulay Omar
 281. Pr. LEKEHAL Brahim
 282. Pr. MAHASSIN Fattouma*
 283. Pr. MEDARHRI Jalil
 284. Pr. MIKDAME Mohammed*
 285. Pr. MOHSINE Raouf
 286. Pr. NABIL Samira
 287. Pr. NOUINI Yassine
 288. Pr. OUALIM Zouhir*
 289. Pr. SABBAAH Farid
 290. Pr. SEFIANI Yasser
 291. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Neurochirurgie
 Anatomie Pathologique
 Pédiatrie
 Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
 Neurologie

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

292. Pr. TAZI MOUKHA Karim

Décembre 2002

293. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
294. Pr. AMEUR Ahmed *
295. Pr. AMRI Rachida
296. Pr. AOURARH Aziz*
297. Pr. BAMOU Youssef *
298. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
299. Pr. BENBOUAZZA Karima
300. Pr. BENZEKRI Laila
301. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
302. Pr. BERNOUSSI Zakiya
303. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya
304. Pr. CHOHO Abdelkrim *
305. Pr. CHKIRATE Bouchra
306. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
307. Pr. EL ALJ Haj Ahmed
308. Pr. EL BARNOUSSI Leila
309. Pr. EL HAOURI Mohamed *
310. Pr. EL MANSARI Omar*
311. Pr. ES-SADEL Abdelhamid
312. Pr. FILALI ADIB Abdelhai
313. Pr. HADDOUR Leila
314. Pr. HAJJI Zakia
315. Pr. IKEN Ali
316. Pr. ISMAEL Farid
317. Pr. JAAFAR Abdeloihab*
318. Pr. KRIOULE Yamina
319. Pr. LAGHMARI Mina
320. Pr. MABROUK Hfid*
321. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
322. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
323. Pr. MOUSTAINE My Rachid
324. Pr. NAITLHO Abdelhamid*
325. Pr. OUIJLAL Abdelilah
326. Pr. RACHID Khalid *
327. Pr. RAISS Mohamed
328. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
329. Pr. RHOU Hakima
330. Pr. SIAH Samir *
331. Pr. THIMOU Amal
332. Pr. ZENTAR Aziz*
333. Pr. ZRARA Ibtisam*

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

334. Pr. ABDELLAH El Hassan
335. Pr. AMRANI Mariam
336. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
337. Pr. BENKIRANE Ahmed*

Urologie

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Rhumatologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Gynécologie Obstétrique
Dermatologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Ophtalmologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie

338.	Pr. BENRAMDANE Larbi*	Chimie Analytique
339.	Pr. BOUGHALEM Mohamed*	Anesthésie Réanimation
340.	Pr. BOULAADAS Malik	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
341.	Pr. BOURAZZA Ahmed*	Neurologie
342.	Pr. CHAGAR Belkacem*	Traumatologie Orthopédie
343.	Pr. CHERRADI Nadia	Anatomie Pathologique
344.	Pr. EL FENNI Jamal*	Radiologie
345.	Pr. EL HANCHI ZAKI	Gynécologie Obstétrique
346.	Pr. EL KHORASSANI Mohamed	Pédiatrie
347.	Pr. EL YOUNASSI Badreddine*	Cardiologie
348.	Pr. HACHI Hafid	Chirurgie Générale
349.	Pr. JABOUIRIK Fatima	Pédiatrie
350.	Pr. KARMANE Abdelouahed	Ophtalmologie
351.	Pr. KHABOUZE Samira	Gynécologie Obstétrique
352.	Pr. KHARMAZ Mohamed	Traumatologie Orthopédie
353.	Pr. LEZREK Mohammed*	Urologie
354.	Pr. MOUGHIL Said	Chirurgie Cardio-Vasculaire
355.	Pr. NAOUMI Asmae*	Ophtalmologie
356.	Pr. SAADI Nozha	Gynécologie Obstétrique
357.	Pr. SASSENOU ISMAIL*	Gastro-Entérologie
358.	Pr. TARIB Abdelilah*	Pharmacie Clinique
359.	Pr. TIJAMI Fouad	Chirurgie Générale
360.	Pr. ZARZUR Jamila	Cardiologie

Janvier 2005

361.	Pr. ABBASSI Abdellah	Chirurgie Réparatrice et Plastique
362.	Pr. AL KANDRY Sif Eddine*	Chirurgie Générale
363.	Pr. ALAOUI Ahmed Essaid	Microbiologie
364.	Pr. ALLALI Fadoua	Rhumatologie
365.	Pr. AMAR Yamama	Néphrologie
366.	Pr. AMAZOUZI Abdellah	Ophtalmologie
367.	Pr. AZIZ Nouredine*	Radiologie
368.	Pr. BAHIRI Rachid	Rhumatologie
369.	Pr. BARKAT Amina	Pédiatrie
370.	Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
371.	Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophtalmologie
372.	Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie
373.	Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophtalmologie
374.	Pr. BOUKLATA Salwa	Radiologie
375.	Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
376.	Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique
377.	Pr. EL HAMZAOUI Sakina	Microbiologie
378.	Pr. HAJJI Leila	Cardiologie
379.	Pr. HESSISSEN Leila	Pédiatrie
380.	Pr. JIDAL Mohamed*	Radiologie
381.	Pr. KARIM Abdelouahed	Ophtalmologie
382.	Pr. KENDOSSI Mohamed*	Cardiologie
383.	Pr. LAAROUSSI Mohamed	Chirurgie Cardio-vasculaire
384.	Pr. LYAGOUBI Mohammed	Parasitologie
385.	Pr. NIAMANE Radouane*	Rhumatologie

386. Pr. RAGALA Abdelhak
 387. Pr. SBIHI Souad
 388. Pr. TNACHERI OUZZANI Btissam
 389. Pr. ZERAIDI Najia

AVRIL 2006

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

Octobre 2007

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

Gynécologie Obstétrique
 Histo-Embryologie Cytogénétique
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique

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

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

465. Pr. BALOUCH Lhousaine *	Biochimie
466. Pr. SELKANE Chakir *	Chirurgie cardio vasculaire
467. Pr. EL BEKKALI Youssef *	Chirurgie cardio vasculaire
468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *	Chirurgie cardio vasculaire
469. Pr. EL ABSI Mohamed	Chirurgie générale
470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *	Chirurgie générale
471. Pr. ACHOUR Abdessamad*	Chirurgie générale
472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*	Chirurgie générale
473. Pr. GHARIB Nouredine	Chirurgie plastique
474. Pr. TABERKANET Mustafa *	Chirurgie vasculaire périphérique
475. Pr. ISMAILI Nadia	Dermatologie
476. Pr. MASRAR Azlarab	Hématologie biologique
477. Pr. RABHI Monsef *	Médecine interne
478. Pr. MRABET Mustapha *	Médecine préventive santé publique et hygiène
479. Pr. SEKHSOKH Yessine *	Microbiologie
480. Pr. SEFFAR Myriame	Microbiologie
481. Pr. LOUZI Lhoussain *	Microbiologie
482. Pr. MRANI Saad *	Virologie
483. Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
484. Pr. ICHOU Mohamed *	Oncologie médicale
485. Pr. TACHFOUTI Samira	Ophtalmologie
486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophtalmologie
487. Pr. MELLAL Zakaria	Ophtalmologie
488. Pr. AMMAR Haddou *	ORL
489. Pr. AOUI Sarra	Parasitologie
490. Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie
491. Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
492. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
493. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib*	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie
Mars 2009	
Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen *	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUHSAIN Sanae *	Biochimie
Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire

Pr. LEZREK Mounir
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. LAMALMI Najat
Pr. ZOUAIDIA Fouad
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. CHADLI Mariama*

Ophtalmologie
Hématologie
Anatomie pathologique
Anatomie pathologique
Physiologie
Biochimie chimie
Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS

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

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

Biochimie
Biologie
Biochimie
Chimie Organique
Pharmacognosie
Pharmacologie
Chimie Organique

* *Enseignants Militaires*

Dédicaces

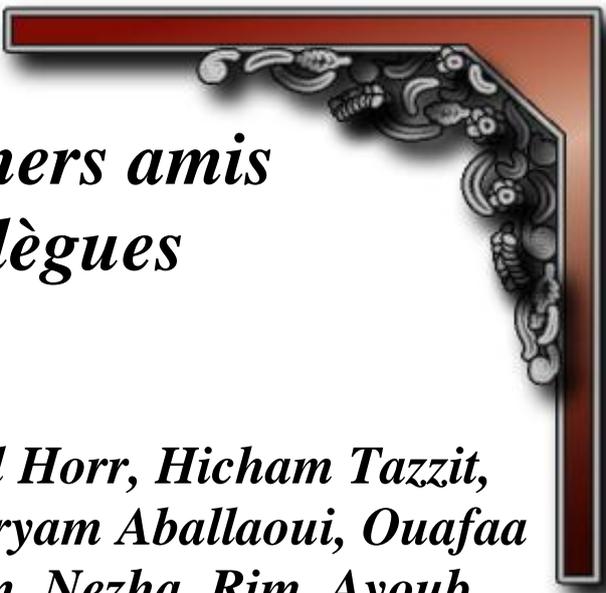




A mes chers parents et ma famille

Tous les mots ne peuvent décrire mes sentiments de gratitude de respect et d'amour envers vous, pour vos sacrifices, votre soutien, votre amour et, plus simplement, votre existence.





*A mes chers amis
et collègues*

*A Yassine, Hicham El Horr, Hicham Tazzit,
Khoubaib et Safae, Maryam Aballaoui, Ouafaa
Sabri, Loubna, Najem, Nezha, Rim, Ayoub,
Jamal, Mounir et à tous les membres de
NASCEAM.*

*Aux membres de la grande équipe de la Caravane
Médicale 2010.*

*A tous les membres des Conseils des Etudiants en
Pharmacie des années
2004-2010*

*Pour Mme. Le Directeur S. BRARI, Mme. Nadia
JAFRI et tous le personnel du service contrôle
qualité de BOTTU S.A.*



*Je vous dédie ce travail, pour m'avoir soutenu
tout au long des années où nous nous sommes
connus, et pour vous exprimer un peu de toute
la gratitude, l'estime et les sentiments de
confraternité que je sens envers vous.*

Dédicace spéciale



Remerciements





*A mon Maître
et rapporteur de thèse*

Pr. Yahya CHERRAH

*Etre l'un de vos étudiants est un honneur
dont je suis et je serai toujours fier.
Veuillez agréer, Monsieur, l'expression de
mes sentiments de gratitude les plus sincères
et ma plus haute considération pour toutes
vos qualités humaines et professionnelles qui
nous ont toujours servi d'exemple.*

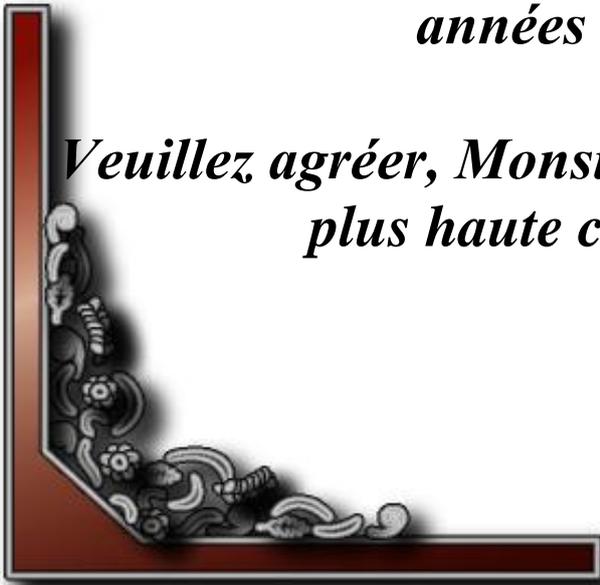




*A mon Maître
et président de jury*

Pr. Jamal TAOUFIK

*J'ai l'honneur de vous exprimer ma profonde
gratitude pour avoir accepté de siéger en tant
que président du jury de ma thèse et aussi
pour nous avoir instruits et appris à aimer les
préceptes de notre art tout au long de nos
années d'études.*



*Veillez agréer, Monsieur, l'expression de ma
plus haute considération.*



*A mon Maître
et juge de thèse*

Pr. Mustapha DRAOUI

*J'ai l'honneur de vous remercier de votre
amabilité et d'avoir accepté de siéger en tant
que juge de ma thèse.*



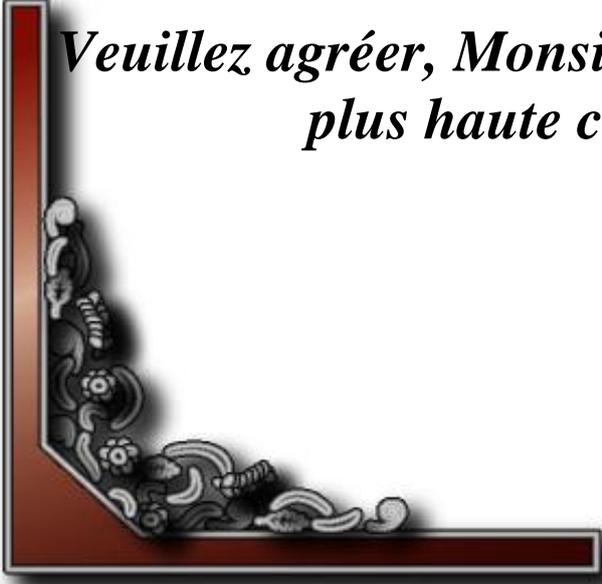
*Veillez croire, Monsieur, en l'expression de
mon respect et mes sentiments les meilleurs.*



*A mon Maître
et juge de thèse*

Pr. Abdelaziz BOUKLOUZE

*J'ai l'honneur de vous exprimer mes sincères
remerciements d'avoir, aimablement, accepté
de siéger en tant que juge de ma thèse.*



*Veillez agréer, Monsieur, l'expression de ma
plus haute considération.*

Liste des abréviations, tableaux et figures

Liste des abréviations

HPLC	: High Performance Liquid Chromatography (Chromatographie liquide à haute performance)
PDA	: PhotoDiode Array.
MS	: Mass Spectroscopy (Spectroscopie de masse)
PF	: Produit fini
MP	: Matière première
ICH	: International Conference on Harmonisation (Conférence internationale sur l'harmonisation)
AMM	: Autorisation de Mise sur le Marché.
FDA	: Food and Drug Administration
PhRMA	: Pharmaceutical Research and Manufacturers's Association
HR	: Humidité relative
AMBD	: Absolute Mass Balance Deficit (Défaut absolu du bilan massique)
RMBD	: Relative Mass Balance Deficit (Défaut relatif du bilan massique)
t-MCA	: trans-méthylcyclohexylamine
SCR	: Standard de référence
PVP	: Polyvinyl Pyrrolidone
THF	: Tétrahydrofurane
DMF	: Drug Master File
UV	: Ultraviolet
PND	: Placebo Non Dégradé
END	: Essai Non Dégradé
TND	: Témoin Non dégradé
PD	: Placebo Dégradé
ED	: Essai Dégradé
TD	: Témoin Dégradé
CV	: Coefficient de variation
NMR	: Nuclear Magnetic Resonance (Résonance magnétique nucléaire)

Liste des tableaux

Tableau I. Proposition de conditions de dégradation du principe actif.....	11
Tableau II. Proposition de conditions de dégradation du produit fini.....	12
Tableau III. Prises d'essai pour l'étude de la linéarité de la méthode du dosage de Glimépiride par HPLC.....	46
Tableau IV. Prises d'essai pour l'étude de l'exactitude de la méthode du dosage de Glimépiride par HPLC.....	47
Tableau V. Prises d'essai pour l'étude de la linéarité de la méthode du dosage de Sulfoglime par HPLC.....	48
Tableau VI. Récapitulatif des résultats quantitatifs des analyses de dégradation forcée de la Glimépiride et calcul des pourcentages de dégradation.....	106
Tableau VII. Résultats de la linéarité de la méthode du dosage de Glimépiride par HPLC.....	107
Tableau VIII. Résultats de l'analyse de la régression linéaire pour l'étude la linéarité du dosage de Glimépiride.....	108
Tableau IX. Résultats de l'analyse des résidus de la régression linéaire pour l'étude la linéarité du dosage de Glimépiride.....	109
Tableau X. Résultats de l'étude de l'exactitude du dosage de glimépiride.....	110
Tableau XI. Résultats de la linéarité de la méthode du dosage de Sulfoglime par HPLC. ...	113
Tableau XII. Résultats de l'analyse de la régression linéaire pour l'étude la linéarité du dosage de Sulfoglime.....	114
Tableau XIII. Résultats de l'analyse des résidus de la régression linéaire pour l'étude la linéarité du dosage de Sulfoglime.....	115
Tableau XIV. Résultats de l'étude de l'exactitude du dosage de Sulfoglime.....	116
Tableau XV. Tableau de test du bilan massique pour le témoin dégradé par hydrolyse neutre à T=3h.....	123
Tableau XVI. Tableau de test du bilan massique pour l'essai dégradé par hydrolyse neutre à T=3h.....	124
Tableau XVII. Tableau de test du bilan massique pour le témoin dégradé par hydrolyse acide à T=3h.....	125
Tableau XVIII. Tableau de test du bilan massique pour l'essai dégradé par hydrolyse acide à T=3h.....	125
Tableau XIX. Tableau de test du bilan massique pour le témoin dégradé par hydrolyse basique à T=3h et à T=24h.....	126
Tableau XX. Tableau de test du bilan massique pour l'essai dégradé par hydrolyse basique à T=3h et à T=24h.....	128
Tableau XXI. Tableau de test du bilan massique pour le témoin dégradé par oxydation à T=3h.....	129
Tableau XXII. Tableau de test du bilan massique pour l'essai dégradé par oxydation à T=3h.....	129
Tableau XXIII. Tableau de test du bilan massique pour l'essai dégradé par chaleur sèche à T=15 jours.....	131

Liste des chromatogrammes

Chromatogramme 1. Résultat obtenu lors de l'application de la méthode préliminaire de l'hydrolyse basique. .	53
Chromatogramme 2. Résultat de l'analyse chromatographique de la phase mobile.	54
Chromatogramme 3. Résultat de l'essai du blanc (méthanol:acétonitrile 50:50 V:V) non dégradé.....	55
Chromatogramme 4. Résultats de l'analyse du témoin (MP) non dégradé.....	56
Chromatogramme 5. Résultat de l'analyse du placebo non dégradé.....	57
Chromatogramme 6. Résultats de l'analyse de l'essai PF non dégradé.....	58
Chromatogramme 7. Résultat de l'analyse du blanc (Eau+THF) de l'hydrolyse neutre.	59
Chromatogramme 8. Résultats de l'analyse du placebo dégradé en milieu neutre To.	60
Chromatogramme 9. Résultats de l'analyse du témoin dégradé en milieu neutre à To.	61
Chromatogramme 10. Résultats de l'analyse du PF dégradé en milieu neutre à To.	62
Chromatogramme 11. Résultats de l'analyse du placebo dégradé sous reflux en milieu neutre à T _{3h}	63
Chromatogramme 12. Résultats de l'analyse du Témoin dégradé sous reflux en milieu neutre à T _{3h}	64
Chromatogramme 13. Résultats de l'analyse du PF dégradé sous reflux en milieu neutre à T _{3h}	65
Chromatogramme 14. Résultat de l'analyse du blanc (Eau+THF) de l'hydrolyse acide.....	66
Chromatogramme 15. Résultats de l'analyse du placebo dégradé en milieu acide To.	67
Chromatogramme 16. Résultats de l'analyse du Témoin dégradé en milieu acide à To.....	68
Chromatogramme 17. Résultats de l'analyse du PF dégradé en milieu acide à To.....	69
Chromatogramme 18. Résultat de l'analyse du placebo dégradé sous reflux en milieu acide à T=3h.....	70
Chromatogramme 19. Résultat de l'analyse du Témoin dégradé sous reflux en milieu acide à T=3h.	71
Chromatogramme 20. Résultats de l'analyse du PF dégradé sous reflux en milieu acide à T=3h.....	72
Chromatogramme 21. Résultat de l'analyse du mélange du solvant basique (KOH/THF 80:20).	73
Chromatogramme 22. Résultat de l'analyse du placebo dégradé en milieu basique à To.....	74
Chromatogramme 23. Résultats de l'analyse du Témoin (MP) dégradé en milieu basique à To.....	75
Chromatogramme 24. Résultats de l'analyse du PF dégradé en milieu basique à To.	76
Chromatogramme 25. Résultat de l'analyse du placebo dégradé en milieu basique à T=3h.....	77
Chromatogramme 26. Résultats de l'analyse du Témoin (MP) dégradé en milieu basique à T=3h.....	78
Chromatogramme 27. Résultats de l'analyse du PF dégradé en milieu basique à T=3h.....	79
Chromatogramme 28. Résultats de l'analyse du placebo dégradé en milieu basique à T=24h.....	80
Chromatogramme 29. Résultats de l'analyse du Témoin (MP) dégradé en milieu basique à T=24h.....	81
Chromatogramme 30. Résultats de l'analyse du PF dégradé en milieu basique à T=24h.....	82
Chromatogramme 31. Résultat de l'analyse du placebo dégradé à la chaleur sèche à T=15 jours.	84
Chromatogramme 32. Résultat de l'analyse du témoin (MP) dégradé à la chaleur sèche à T=15 jours.	85
Chromatogramme 33. Résultats de l'analyse du PF dégradé à la chaleur sèche à T=15jours.	86
Chromatogramme 34. Résultats de l'analyse du placebo dégradé à la lumière du soleil à T=15 jours.	87
Chromatogramme 35. Résultats de l'analyse de la MP dégradée à la lumière du soleil à T=15 jours.	88
Chromatogramme 36. Résultats de l'analyse du PF dégradé à la lumière du soleil à T=15 jours.	89
Chromatogramme 37. Résultat de l'analyse du mélange du solvant (H ₂ O ₂ 30%/THF 50:50 V : V).	90
Chromatogramme 38. Résultat de l'analyse du placebo dégradé à 25° par oxydation à To.....	91
Chromatogramme 39. Résultat de l'analyse de la MP dégradée à 25° par oxydation à To.	92
Chromatogramme 40. Résultats de l'analyse du PF dégradé à 25° par oxydation à To.	93
Chromatogramme 41. Résultat de l'analyse du placebo dégradé à 25° par oxydation à T=3h.	94
Chromatogramme 42. Résultat de l'analyse de la MP dégradée à 25° par oxydation à T=3h.....	95
Chromatogramme 43. Résultats de l'analyse du PF dégradée à 25° par oxydation à T=3h.....	96
Chromatogramme 44. Résultat de l'analyse du placebo dégradé à 25° par oxydation à T=24h.	97
Chromatogramme 45. Résultat de l'analyse de la MP dégradée à 25° par oxydation à T=24h.....	98
Chromatogramme 46. Résultat de l'analyse du PF dégradé à 25° par oxydation à T=24h.	99
Chromatogramme 47. Résultat de l'analyse du placebo dégradé par oxydation SR à To.	100
Chromatogramme 48. Résultat de l'analyse de la MP dégradée par oxydation SR à To.....	101
Chromatogramme 49. Résultats de l'analyse du PF dégradé par oxydation SR à To.	102
Chromatogramme 50. Résultat de l'analyse du placebo dégradé par oxydation SR à T=3h.....	103
Chromatogramme 51. Résultat de l'analyse de la MP dégradée par oxydation SR à T=3h.....	104
Chromatogramme 52. Résultats de l'analyse du PF dégradé par oxydation SR à T=3h.....	105
Chromatogramme 53. Résultat de l'analyse du témoin de Sulfolime.	111

Liste des figures

Figure 1. Structure développée du trans-glimépiride. ³⁵	20
Figure 2. Schémas de synthèse du glimépiride. ³⁸	23
Figure 3. Structures du glimépiride (a) et de ses impuretés de synthèse (b)-(f).	24
Figure 4. Structures et noms chimiques du glimépiride et de 4 de ses produits de dégradation.	26
Figure 5. Les schémas de dégradation du glimépiride au produits II-V.	27
Figure 6. Module de séparation Waters® e2695 (A) muni de son module de chauffage des colonnes (B) et d'un détecteur PDA Waters® 2998 (C) et relié à un ordinateur muni du logiciel Empower Pro®, Empower 2 software (FR5) (D) pour le traitement des données chromatographiques.....	31
Figure 7. Balance Mettler Toledo® AG204.....	33
Figure 8. Enregistreur de Température Ebro® EBI 125 - A.	34
Figure 9. Thermomètre Ebro® TTX 110.....	35
Figure 10. Filtres de seringue Whatman® GD/X.	35
Figure 11. Evolution de l'aire du pic du Glimépiride du Témoin (MP) dégradé en milieu basique à To, T=3h et T=24h.	83
Figure 12. Courbe de tendance montrant la variation de la quantité de Glimépiride mesurée par notre méthode analytique en fonction de des quantités théoriques pesées.	109
Figure 13. Graphique montrant la répartition des résidus (différences) par rapport à la quantité de Glimépiride pesée.	110
Figure 14. Courbe de tendance montrant la variation de la quantité de Sulfoglime mesurée par notre méthode analytique en fonction de des quantités théoriques pesées.	115
Figure 15. Graphique montrant la répartition des résidus (différences) par rapport à la quantité de Sulfoglime pesée.	116

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PARTIE THÉORIQUE.....	4
1. TESTS DE STRESS.....	5
1.1. <i>Définition</i>	6
1.2. <i>Contexte historique</i>	7
1.3. <i>Contexte réglementaire</i>	9
1.4. <i>Conditions de stress</i>	10
1.5. <i>Bilan Massique (Mass Balance)</i>	12
1.5.1. L'importance du bilan massique :	13
1.5.2. Méthode de calcul et d'expression	13
1.5.3. Approches pour expliquer les problèmes du défaut du bilan massique	14
1.6. <i>Intérêt des tests de stress : Rôle dans le développement pharmaceutique</i>	15
1.6.1. Découverte de la molécule (établissement de la relation structure-activité)	16
1.6.2. Phases préclinique, I et II	16
1.6.3. Stade de commercialisation et soumission du dossier d'AMM	16
1.6.4. Extension de la ligne du développement vers de nouvelles formes et dosages, mise à jour des méthodes reliées aux produits déjà présents sur le marché	17
2. GLIMÉPIRIDE : GÉNÉRALITÉS ET CONSIDÉRATIONS CHIMIQUES.....	18
2.1. <i>Généralités</i>	19
2.1.1. Origine	19
2.1.2. Formule et structure chimique :	19
2.1.3. Caractère organoleptique :	20
2.1.4. Présentation et voie d'administration	20
2.1.5. Pharmacologie.....	20
2.2. <i>Impuretés de synthèse et de dégradation</i>	23
2.2.1. Synthèse du glimépiride.....	23
2.2.2. Impuretés de synthèse	23
2.2.3. Impuretés de dégradation.....	25
PARTIE PRATIQUE	28
1. MATÉRIEL ET MÉTHODES	29
1.1. <i>Matériel</i>	30
1.1.1. Matière première, Standards de référence et produit fini	30
1.1.2. Réactifs.....	30
1.1.3. Appareillage :	31
1.2. <i>Méthodes</i>	36
1.2.1. Collecte de données	36
1.2.2. Méthodologie générale.....	36
1.2.3. Tests de Stress.....	38
1.2.4. Validation analytique	46
2. RÉSULTATS.....	50
2.1. <i>Spécifications expérimentales de la Glimépiride:</i>	51
2.1.1. Propriétés organoleptiques.....	51

2.1.2.	Propriétés chimiques.....	51
2.1.3.	Spectres UV des substances apparentées à la Glimépiride (A, D, Sulfoglime)	52
2.2.	<i>Tests de Stress</i>	53
2.2.1.	Ajustement de la méthode analytique :.....	53
2.2.2.	Analyses chromatographiques et spectres UV:	54
2.2.3.	Résultats quantitatifs : prises d'essais et pourcentages de dégradation.....	106
2.3.	<i>Validation analytique</i> :	107
2.3.1.	Dosage du glimépiride par HPLC:.....	107
2.3.2.	Dosage de la Sulfoglime par HPLC:.....	111
3.	DISCUSSION.....	117
3.1.	<i>Ajustement de la méthode</i>	119
3.2.	<i>Phase mobile et échantillons non dégradés</i>	121
3.3.	<i>Tests de stress</i>	121
3.4.	<i>Validation Analytique</i> :.....	132
3.4.1.	Dosage du glimépiride par HPLC	132
3.4.2.	Dosage du sulfoglime par HPLC.....	132
	CONCLUSION	134

Introduction

Dans un temps où les efforts que déploie l'industrie pharmaceutique tendent vers la réduction du temps et du coût que demande la mise en marché des médicaments, les problèmes et les imprévus qui concernent la stabilité et les taux des impuretés dans les produits et qui affectent le cadre temporel du développement pharmaceutique ont augmenté de manière dramatique. C'est la raison pour laquelle les tests de stress ont toujours été reconnus comme étant une partie essentielle du processus du développement pharmaceutique.¹

Le développement pharmaceutique repose sur le principe de l'amélioration continue de la qualité du produit, de sa durée de conservation et de son innocuité. D'où l'intérêt grandissant de former une idée très précise à propos du comportement des principes actifs dans les conditions de stress.

Le diabète non insulino-dépendant (Type 2) est en passe de devenir l'une des maladies chroniques les plus répandues à travers le monde. La maladie peut entraîner des séquelles graves à long terme, comme la cécité, l'insuffisance rénale, les maladies cardiaques, les troubles neurologiques et l'accident vasculaire cérébral (AVC). En outre, les atteintes vasculaires donnent lieu au risque d'amputation chez les patients atteints du diabète de type 2, du dysfonctionnement sexuel, et d'autres séquelles liées aux effets de l'hyperglycémie et des taux anormaux d'insuline et de lipides.²

Contre ce fléau, les sulfonyles sont efficaces, il s'agit de médicaments bien tolérés qui ont été depuis plus de 40 ans. Cependant, la plupart des sulfonyles de la deuxième génération sont associés à un gain de poids et une hypoglycémie et ne peuvent donc pas être appropriés pour les patients sujets à l'hypoglycémie ou pour ceux qui sont en surpoids ou une insuffisance rénale. La découverte du glimépiride, sulfonyle récente de la 3^{ème} génération, a conduit

à l'identification de plusieurs propriétés qui peuvent surmonter certaines de ces limitations. En effet, le glimépiride est connu pour réduire efficacement les taux de glycémie postprandiale, de glycémie à jeun et les concentrations de l'hémoglobine glycosylée (fraction HbA1C) et a un bon profil d'innocuité.^{2,3}

En 2004, une étude de dégradation forcée a été réalisée par Kovářiková et al. sur la matière première de glimépiride. Cinq produits de dégradation ont été détectés, mais sans pour autant être identifiés.⁴

En 2008, G. Bansal et al. mènent une étude de tests de stress en utilisant un couplage HPLC-PDA/HPLC-MS pour la détection et l'identification de 4 produits de dégradation du glimépiride.⁵

Aucune étude de tests de stress effectuée sur le produit fini de glimépiride (Glimépiride 4mg) pour déterminer l'effet de la formulation sur le comportement de la molécule n'a été publiée.

Notre étude a été réalisée aux laboratoires BOTTU S.A. sur un produit fini (PF) fourni par un laboratoire pharmaceutique Marocain.

Le but de ce travail est d'étudier le comportement du glimépiride dans sa forme brute et aussi dans sa forme commerciale (Glimépiride 4mg comprimé), en l'exposant à différents types de stress à travers une méthode d'analyse par HPLC (Chromatographie liquide à haute performance)-PDA (DéTECTEUR PhotoDiode Array). Ainsi de déterminer les marges d'amélioration éventuelles qui pourront toucher la ligne du développement et le processus de fabrication et d'analyse de ce produit.

Partie théorique

1. Tests de stress

Les tests de stress ont toujours été reconnus comme étant une partie essentielle du processus du développement pharmaceutique.¹

Grace aux efforts de la conférence internationale sur l'harmonisation (ICH), des exigences réglementaires de plus en plus poussées en ce qui concerne la stabilité et l'identification des impuretés à des taux minimes ont été instaurées.^{6, 7, 8}

Les tests de stress sont l'outil majeur à utiliser dans les buts de prévoir les problèmes de stabilité et d'identifier les produits et les schémas de dégradation.¹ D'ailleurs, les résultats acquis lors de ces études font partie intégrante des données fournies aux autorités réglementaires dans les dossiers d'Autorisation de la Mise sur le Marché (AMM).⁶ Cependant, les textes réglementaires sont restés loin d'être tranchants dans la définition des détails de ces tests et sont restés ouvertes aux interprétations.⁹ Ce qui fait que leur pratique diffère significativement d'un laboratoire à un autre.¹⁰

1.1. Définition

D. Breton et al. ont défini les tests de stress comme étant les études qui consistent à imposer, à un produit donné, des conditions de stress (température, humidité, pH, lumière, etc.) plus drastiques que celles employées en conditions de vieillissement accéléré.¹⁰

Selon les lignes directrices de l'International Conference on Harmonization (ICH), les tests de stress peuvent aider à déterminer les produits de dégradation de la molécule et par conséquent ses voies de dégradation, la stabilité intrinsèque de la molécule et valider la capacité des méthodes d'analyse à détecter les produits de dégradation. Les méthodes sont choisies en fonction de la nature de la substance et du type de produit.⁶ Les textes soulignent aussi la différence entre la notion de dégradation forcée et celle des études de stabilité.¹¹

1.2.Contexte historique

Avant l'an 2000, la discussion à propos des tests de stress a été évoquée surtout dans le contexte général des études de stabilité.¹

En 1964, Kennon et al. ont discuté l'effet de l'augmentation de la température à 85 °C à partir de la température ambiante sur les taux de dégradation des produits pharmaceutiques, dans un contexte général de prédiction de la durée de vie de ces produits.¹²

Cet article fut la base sur laquelle plusieurs travaux avaient été fondés. Comme ceux de Yang et Roy en 1980¹³ et de Witthaus en 1981¹⁴ qui ont permis à la Food and Drugs Administration (FDA) de proposer « la Règle de Joel Davis » : ¹ le stockage d'un produit pendant 3 mois à 40 °C et 75% d'humidité correspond à 24 mois de son stockage à température ambiante (25°C).¹⁵

En 1995, Jens T. Carstensen postule une règle alternative à « la règle de Joel Davis », historiquement connue sous le nom de « la Règle du Pouce » : 5 semaines de stockage à 42°C correspondent à 2 ans de stockage à la température ambiante.¹⁶ Mais toutes ces études ont traité ce sujet d'un point de vue de discussion autour du vieillissement accéléré.¹

En 2000, Singh et Bakshi ont défini les approches de tests de stress telle que nous les connaissons.¹⁷ Ils ont effectué plusieurs études en milieu basique, acide, neutre et au peroxyde d'hydrogène à de différentes concentrations et à des températures relativement élevées, pour remarquer à la fin qu'il existe toute une panoplie de conditions à appliquer en fonction du composé étudié, et que pour chaque composé il s'agirait d'abord de redéfinir les limites de dégradation à atteindre pour réaliser ces études de tests de stress.¹ Ils ont tenté ainsi de définir un système de classification des produits selon leur sensibilité à la dégradation.

En 2001, Alsante et al. ont fourni un guide des tests de stress qui suggère des limites opératoires des conditions de stress.¹⁸

En 2002, la PhRMA (Pharmaceutical Research and Manufacturer's Association) a publié un article qui détermine les types de tests de stress qui doivent être appliqués pour les matières premières et les produit finis en soulignant les exigences réglementaires sans pour autant s'intéresser aux détails des conditions de stress a appliquer.¹⁹

En 2003, Karen M. Alsante et al. ont conduit une étude de benchmarking sur les modalités de tests de stress appliqués dans 20 laboratoires pharmaceutiques aux Etats Unis. Cette étude a montré la diversité chaotique des approches suivi par les différents laboratoires et explique cette diversité par le manque de textes réglementaires clairs définissant la ligne directrice à suivre pour mener ces études.²⁰

En 2005, Silke Klick et al. ont proposé une approche générique pour réaliser les tests de stress.²¹ La même année, Steven W. Baertschi publie le premier et l'unique ouvrage jusqu'à maintenant qui traite spécifiquement les détails des meilleurs pratiques des tests de stress et le cadre scientifique et bibliographique traitant les différents aspects du sujet.¹

En 2007, Karen M. Alsante et al. fournissent un guide pour la planification des études de tests de stress pendant le développement pharmaceutique, les conditions à tester, les outils à utiliser pour une meilleure exploitation des résultats.²²

La diversité de protocoles utilisés pour l'application des études de stress a, certes, diminué après la publication de lignes directrices d'ICH⁶ à ce propos. Mais le fait qu'elle continue à se développer peut relever de deux causes :

- Que les tests de stress appartiennent plus au champ de la recherche scientifique. Ainsi, la flexibilité et le jugement scientifique qui en font partie mènent à de différentes approches et conditions expérimentales.
- Qu'il existe très peu de textes réglementaires ou scientifiques qui définissent spécifiquement les conditions et les approches à appliquer.¹

1.3.Contexte réglementaire

Dans les guidelines de l'ICH, il y a très peu d'informations sur la stratégie et les principes pour conduire des études de dégradation forcée à l'exception de la photostabilité qui est décrite avec précision. Différentes lignes directrices reprennent la notion des tests de stress (selon la nouvelle codification ICH):¹⁰

- [ICH-Q1A(R2)] : Essais de stabilité de nouveaux produits et substances médicamenteux.⁶
- [ICH-Q1C] : Essais de stabilité: exigences relatives aux nouvelles formes posologiques.²³
- [ICH-Q1B] : Essais de stabilité : essais de photostabilité des nouveaux produits et substances médicamenteuses.¹¹
- [ICH-Q3B(R2)] : Présence d'impuretés dans les nouveaux produits.⁷
- [ICH-Q3A(R2)] : Présence d'impuretés dans les nouvelles substances médicamenteuse.⁸
- [ICH-Q2(R1)] : Validation des procédures d'analyse : Texte et méthodologie.²⁴
- [ICH-Q6A] : Spécifications: Méthodes analytiques et critères d'approbation pour les nouvelles substances médicamenteuses et les nouveaux produits : substances chimiques.²⁵

1.4. Conditions de stress

Comme est mentionné dans l'article de la PhRMA, ¹⁹ les tests de stress doivent inclure des conditions qui examinent les mécanismes de dégradation dans 4 types de stress essentiels : thermolytique, hydrolytique, oxydatif et photolytique. ²⁶ (voir Annexe I)

Dans le cadre de la conception d'une étude de dégradation forcée, il est souhaitable d'atteindre une dégradation correspondant à l'ordre de 5% à 30% du principe actif. Les conditions proposées seront ajustés pour ce but. ¹⁰

D. Breton et al. ont proposé des conditions de stress qui sont résumées dans les tableaux suivants (Tableau I et Tableau II) : ¹⁰

Tableau I. Proposition de conditions de dégradation du principe actif.

Stress	Etat du PA	Conditions types	Conditionnement	Conditions maximales de stress
Chaleur	Tel quel	- Au minimum 10°C au dessus de la condition accélérée et maximum 20-30°C au dessous de la température de fusion ou de transition cristalline. -Abri lumière.	Contenant verre hermétiquement fermé	12 jours à 80 °C
Chaleur + Humidité	Tel quel	-Au minimum 75% d'humidité relative. - Température : condition retenue pour le stress par la chaleur sèche. -Abri lumière.	Contenant verre ouvert	12 jours 80°C 95%HR
Photo-dégradation	Tel quel	Décrite dans ICH Q1B. ¹¹	Contenant inerte et transparent aux UV	1.2 millions de lux.heures et pas moins de 200 w.h/m ² ¹¹
Influence du pH	Solution aqueuse ou si nécessaire hydro-organique	-pH basique : NaOH 0.1 à 1 M. -pH natif. -pH acide : HCl 0.1 à 1M -Température ambiante -Abri lumière	Contenant étanche et inerte	10 jours, molarité 1M et T _{max} =60°C
Oxydation	Solution aqueuse ou si nécessaire hydro-organique	-H ₂ O ₂ 0.1 à 10% ou autre oxydant. -Température ambiante. -Abri lumière	Contenant étanche et inerte	24h, concentration 10%

Tableau II. Proposition de conditions de dégradation du produit fini.

Stress	Forme pharmaceutique	Conditions types	Conditionnement	Conditions maximales de stress
Chaleur	Solide	- Au minimum 10°C au dessus de la condition accélérée et maximum 20-30°C au dessous de la température de fusion ou de transition cristalline. -Abri lumière.	Contenant fermé	4 semaines à 60°C ou 12 jours à 80 °C
	Liquide et semi solide		Conditionnement primaire et/ou contenant inerte fermé	
Chaleur + Humidité	Solide	-Au minimum 75% d'humidité relative. - Température : condition retenue pour le stress par la chaleur sèche. -Abri lumière.	Contenant ouvert	4 semaines à 60°C (ou 12 jours à 80°C) Haut niveau d'humidité
Photo-dégradation	Solide	Décrite dans ICH Q1B. ¹¹	Contenant inerte et transparent aux UV	1.2 millions de lux.heures et pas moins de 200 w.h/m ² ¹¹
	Liquide et semi solide			

1.5. Bilan Massique (Mass Balance)

D'après les textes de l'ICH, le bilan massique est la méthode consistant à additionner la valeur finale de l'essai et les concentrations des produits de dégradation pour vérifier si la somme est égale ou presque égale à 100% de la valeur initiale, en tenant compte de la marge d'erreur analytique.⁶

Toute diminution sensible dans le bilan massique de la molécule mère lors d'une dégradation est, d'un point de vue théorique, égal à la masse totale des produits de dégradation formés. D'un point de vue pratique, ceci n'est jamais possible. La formation, lors de la dégradation de substances volatiles qui s'échappent de la matrice analysée, de substances qui s'adsorbent au contenant de la matrice ou à la phase stationnaire et/ou d'autres formes de pertes physiques exclue toute possibilité d'agir dans un système réactionnel fermé. Autant plus quand on ne peut, pratiquement, contrôler toute les composantes de l'environnement expérimental de l'échantillon. Chose qui est peu prioritaire quand on prend en considération les contraintes du temps et des ressources disponibles pour fournir l'information vraiment nécessaire pour comprendre la présente dégradation.¹

1.5.1. L'importance du bilan massique :

Plusieurs raisons font que le bilan massique à un rôle central dans l'analyse pharmaceutique.

En démontrant que les pertes lors de la dégradation de la molécule mère sont bien corrélées avec l'augmentation des produits de dégradation, on peut confirmer qu'il n'existe potentiellement pas de produits de dégradation non détectables par la méthode analytique.¹

Le bilan massique est aussi important dans la validation des méthodes^{27, 28} et dans la compréhension des schémas de dégradation alternatifs.²⁹

1.5.2. Méthode de calcul et d'expression

Il existe plusieurs façons d'exprimer le bilan massique. Le taux de perte de la molécule mère et des produits de dégradation peuvent être exprimés en termes proportionnels à la masse ou au nombre de moles :¹

$$M_{P,0} - M_{P,x} = M_{I,x} - M_{I,0}$$

Avec $M_{P,0}$: masse du produit à T_0 .(non dégradé)

$M_{P,x}$: masse du produit au temps T_x de la réaction de dégradation.

$M_{I,x}$: masse du produit de dégradation à T_x .

$M_{I,0}$: masse du produit de dégradation à T_0 .

Ainsi, on peut définir le défaut du bilan massique absolu (AMBD) par l'expression suivante :

$$AMBD=(M_{P,0} - M_{P,x}) - (M_{I,x} - M_{I,0})$$

Cette expression est celle qu'on va utiliser dans notre étude en raison de sa significativité plus évidente.

Aussi, on définit le défaut du bilan massique relatif (RMBD) par :

$$RMBD=[(M_{P,0} - M_{P,x}) - (M_{I,x} - M_{I,0})] \times 100 \div (M_{P,0} - M_{P,x})$$

1.5.3. Approches pour expliquer les problèmes du défaut du bilan massique

Quand l'AMBD est significativement supérieur ou inférieur à 0, plusieurs causes potentielles peuvent être à l'origine du déficit ou de l'excès. Nous citons dans ce qui suit les causes les plus communes qui engendrent ces problèmes.

1.5.3.1. $AMBD > 0$

Le taux d'augmentation de la masse des produits de dégradation formés est inférieur au taux de diminution de la masse de la molécule mère. Ceci peut être dû à plusieurs causes :

- Les produits de dégradation ne sont pas élués de la colonne HPLC.²⁷
- Les produits de dégradation ne sont pas détectés par le détecteur utilisé.

30

- Les produits de dégradation sont perdus de la matrice de l'échantillon.³⁰

- Une quantité de la molécule mère est perdue au niveau de la matrice de l'échantillon.
- Les produits de dégradation sont co-élués avec la molécule mère dans la méthode d'analyse.
- Les pics des produits de dégradation ne sont pas intégrés à cause d'une mauvaise chromatographie.
- Défaut de quantification dû à un facteur de réponse variable.¹

1.5.3.2. $AMBD < 0$

Le taux d'augmentation des produits de dégradation est supérieur au taux de diminution de la masse de la molécule mère dans l'échantillon. Ceci peut être dû aux causes suivantes :

- Défaut de quantification dû à un facteur de réponse variable.
- Un des réactifs contenus dans la matrice est impliqué dans une réaction d'addition avec la molécule mère.
- Les impuretés formées sont issues d'autres sources que la dégradation de la molécule mère.
- Les produits de dégradation sont co-élués avec la molécule mère dans la méthode d'analyse.

1.6. Intérêt des tests de stress : Rôle dans le développement pharmaceutique

Depuis la découverte du médicament et jusqu'à l'extension de la gamme du produit à de nouvelles formes et de nouveaux dosages, les tests de stress interviennent dans les différents stades de développement d'un nouveau produit pharmaceutique.¹⁸

1.6.1. Découverte de la molécule (établissement de la relation structure-activité)

Le but des tests de stress à cette étape précoce est de déterminer si un composant a la stabilité nécessaire pour être administré par tel ou tel voie d'administration et s'il a une durée de validité qui peut garantir sa commercialisation.¹

1.6.2. Phases préclinique, I et II

A ce stade, l'intérêt des tests de stress réside dans le développement de méthodes analytiques indicatrices de stabilité valides spécifiques pour le composé évalué. Ces méthodes doivent être capables de séparer les produits de dégradation, les impuretés de synthèse et les autres composantes analytiques de la matrice de l'échantillon de ce composé.

Le but de ces études, aussi, est de garantir la stabilité du composé lors de la période des essais clinique et de donner des informations basiques pour aider à un développement précoce des formulations.¹

1.6.3. Stade de commercialisation et soumission du dossier d'AMM

L'objectif de la réalisation des tests de stress dans cette étape est de comprendre tous les aspects et les problèmes de stabilité potentiels de la molécule, y compris ceux dus aux conditions de stockage, de distribution, des variations de températures brusques, aux problèmes de formulation. A ce stade, les tests de stress servent à développer une compréhension minutieuse de comportement de la molécule dans la condition du stress, de ses produits et de ses schémas de dégradation potentiels.¹ Ces informations formeront une partie intégrale de l'ensemble des informations fournies aux autorités réglementaires lors du dépôt de la demande d'enregistrement.⁶

1.6.4. Extension de la ligne du développement vers de nouvelles formes et dosages, mise à jour des méthodes reliées aux produits déjà présents sur le marché

A cette étape, les tests de stress sont réalisés pour influencer des changements dans les processus de fabrication dans un but de réduire le coût, augmenter la qualité ou l'efficacité ou diminuer l'impact sur l'environnement. Il est souvent désiré que ces changements aient lieu dans des périodes beaucoup plus courtes que celles qui sont requise pour l'établissement d'études de vieillissement accéléré (3 à 6 mois). Ceci fait des tests de stress le meilleur choix possible pour établir ces améliorations dans le processus de fabrication que ce soit dans le but de créer de nouvelles formes d'administration ou de perfectionner les paramètres de fabrication des produit déjà mis sur le marché. ¹

2. Glimépiride : Généralités et considérations chimiques

2.1. Généralités

2.1.1. Origine

Le glimépiride est une molécule hypoglycémiante moderne, qui appartient à la 3^{ème} génération des sulfonylurées, utilisée dans le traitement du diabète non insulino-dépendant (type 2).³

Les premières molécules des sulfonylurées (chlorpromamide et tolbutamide) ont été introduites au marché depuis plus de 40 ans. Elles sont très rarement prescrites de nos jours à cause de leurs multiples effets indésirables et interactions médicamenteuses.³¹

De minimes modifications structurales ont donné une seconde et une 3^{ème} génération de sulfonylurées, dont, parmi d'autres molécules, le glimépiride, qui présentent une plus grande sélectivité envers les récepteurs des cellules β pancréatiques, ce qui permet une diminution des doses utilisées et une meilleure efficacité dans le traitement par rapport à la première génération.^{32, 33}

Le glimépiride est actuellement privilégié dans le traitement du diabète de type 2, grâce à sa posologie permettant un contrôle de glycémie à travers une seule dose toutes les 24h et sa meilleure efficacité et sécurité par rapport aux autres sulfonylurées.^{3, 2}

2.1.2. Formule et structure chimique :

1-[[4-[2-[[3-éthyl-4-méthyl-2-oxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)carbonyl]amino]éthyl]phényl]sulfonyl]-3-(trans-4-méthylcyclohexyl)urée.³⁴

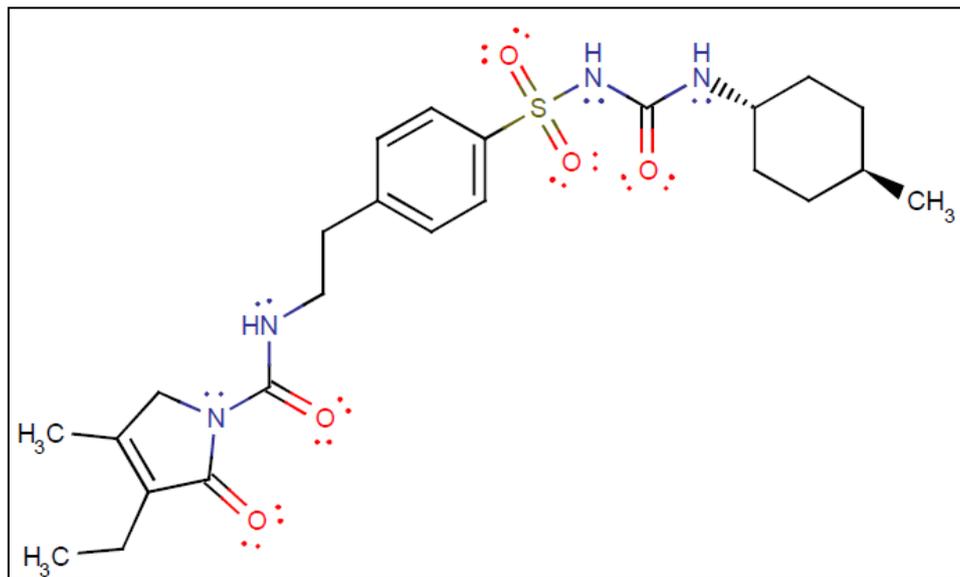


Figure 1. Structure développée du trans-glimépiride.³⁵

2.1.3. Caractère organoleptique :

Poudre blanche ou sensiblement blanche.³⁴

2.1.4. Présentation et voie d'administration

Le gliclazide est administré par voie orale sous forme de comprimés dosés à 1, 2, 3 et 4 mg.

2.1.5. Pharmacologie

2.1.5.1. Mécanisme d'action :

Augmente la libération d'insuline par le pancréas.

En provoquant la fermeture au niveau des cellules bêta pancréatiques d'un canal potassique ATP dépendant, le gliclazide induit une dépolarisation membranaire et l'ouverture de canaux calciques. L'entrée de calcium dans la cellule déclenche la libération d'insuline par exocytose.

Pourrait également posséder une activité hypoglycémiante extrapancréatique, indépendante de la libération d'insuline et impliquant notamment une augmentation de la capture de glucose au niveau des cellules musculaires et adipeuses. Cette activité extrapancréatique serait plus marquée qu'avec les sulfamides hypoglycémiants des générations précédentes.^{36, 37}

2.1.5.2. Indication thérapeutique

Traitement du diabète non insulino-dépendant (type 2).

2.1.5.3. Effet recherché

Hypoglycémiant, antidiabétique.

2.1.5.4. Effets secondaires

- Hypoglycémie.
- Trouble oculaire.
- Nausées.
- Vomissement.
- Diarrhées.
- Douleur abdominale.
- Hépatite cholestatique.
- Eruption cutanée.
- Thrombopénie.
- Leucopénie.
- Hyponatrémie.

2.1.5.5. Contre-indication

Ce médicament est contre-indiqué en cas de grossesse, d'allaitement, d'hypersensibilité au glimépiride ou au diabète insulino-dépendant.

2.1.5.6. Posologie

Dose usuelle par voie orale :

- Adulte : débiter par un milligramme par jour en une prise unique au petit déjeuner.

En cas de besoin, la posologie est augmentée à deux, trois ou quatre milligrammes par jour, par paliers successifs, avec un intervalle de 1 à 2 semaines entre chaque palier.

2.1.5.7. Pharmacocinétique

2.1.5.7.1. Absorption

Résorbé par voie orale.

Le pic plasmatique s'observe 2h30 après la prise. La prise d'aliments ne modifie pas la biodisponibilité qui est totale.

2.1.5.7.2. Répartition

Liaison aux protéines plasmatiques supérieure à 99%.

Passé dans le lait.

Franchit la barrière placentaire.

Faible passage de la barrière hémato-encéphalique.

2.1.5.7.3. Demi-Vie

La demi-vie d'élimination varie entre 5 à 8 heures.

2.1.5.7.4. Métabolisme

Complètement métabolisé en composé ne contribuant pas à l'activité.

2.1.5.7.5. Élimination

*Voie fécale : 35% de la dose sont éliminés dans les fèces.

*Voie rénale : 58% de la dose sont éliminés dans les urines entièrement sous forme métabolisée.³⁷

2.2. Impuretés de synthèse et de dégradation

La pharmacopée européenne (6^{ème} édition) a cité 10 impuretés différentes du glimépiride.³⁴

2.2.1. Synthèse du glimépiride

Le glimépiride est synthétisé à partir du sulfoglime selon les schémas de synthèse suivants :

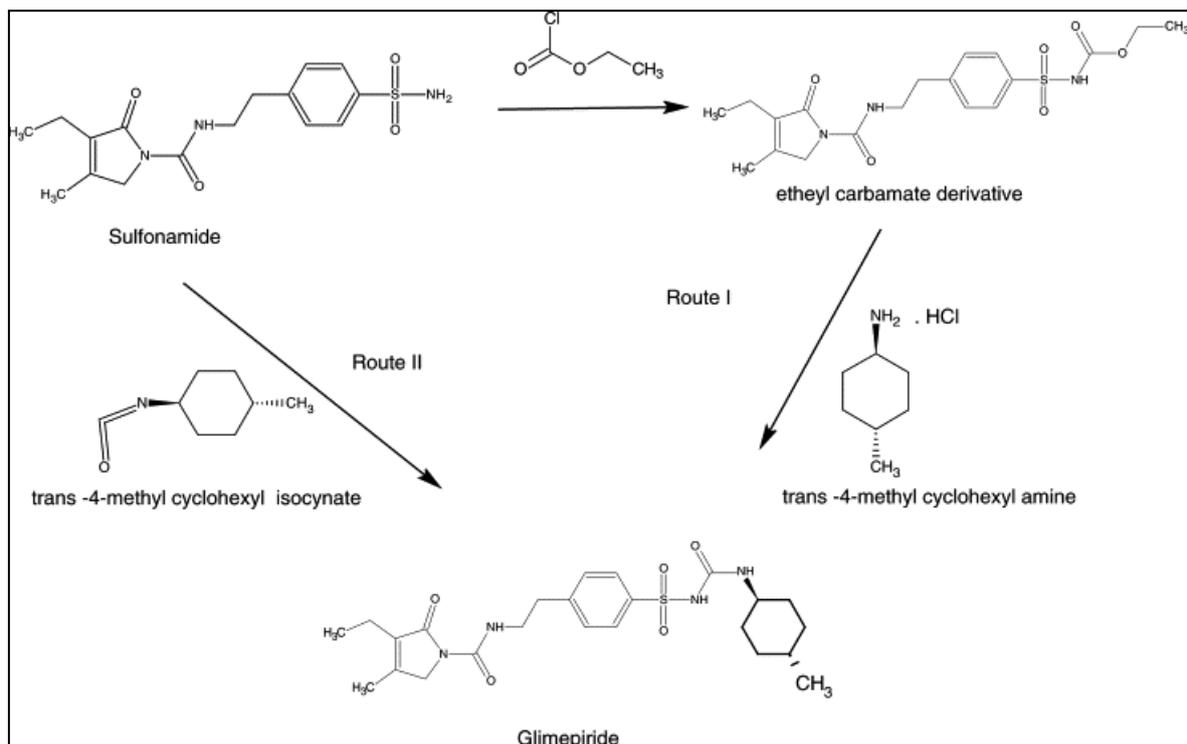


Figure 2. Schémas de synthèse du glimépiride.³⁸

2.2.2. Impuretés de synthèse

M. A. Khan et al. ont détecté et isolé 5 impuretés de synthèse du glimépiride :³⁸

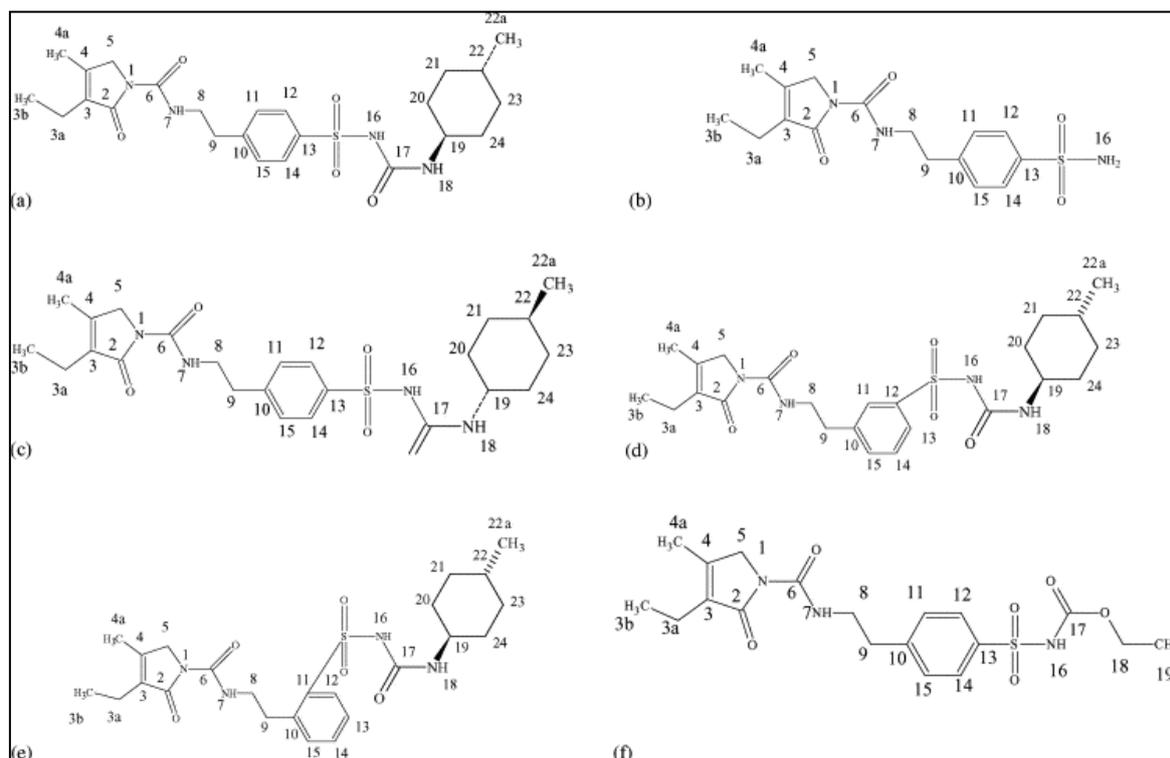


Figure 3. Structures du glimépiride (a) et de ses impuretés de synthèse (b)-(f).

Les noms chimiques de ces impuretés sont:

(b) **impureté-A:** [N-(4-[2-(3-éthyl-4-méthyl-2-oxo-3-pyrroline-1-carboxamido)-éthyl] benzène sulphonamide);

(c) **impureté-B:** 1-[[4-[2-(3-ethyl-4-methyl-2-oxo-3-pyrroline-1-carboxamido)-ethyl]phenyl]-sulphonyl]-3-cis-(4-methylcyclohexyl)urée;

(d) **impureté-C:** 1-[[3-[2-(3-éthyl-4-méthyl-2-oxo-3-pyrroline-1-carboxamido)-ethyl]phényl]-sulphonyl]-3-(4-methylcyclohexyl)urée;

(e) **impurity-D:** 1-[[2-[2-(3-éthyl-4-méthyl-2-oxo-3-pyrroline-1-carboxamido)-éthyl] phényl]-sulphonyl]-3-(4-methylcyclohexyl)urée;

(f) **impurity-E:** N-[4-[2-(3-éthyl-4-méthyl-2-oxo-3-pyrroline-1-carboxamido)-ethyl]-benzènesulphonyl]éthyl carbamate.

2.2.3. Impuretés de dégradation

La présence d'un pont sulfonyle, d'un lien carboxamide, d'un cycle de lactame contraint et d'un système de carbonyle α , β -insaturés dans la structure chimique du glimépiride (Figure 1) rend la molécule susceptible à subir des dégradations, en raison de la labilité de ces liens et des groupes fonctionnels à l'hydrolyse et la photolyse.^{1, 39, 40, 5} En conséquence, on prévoit la formation de plusieurs produits de dégradation au cours des essais de stabilité formels de médicament.⁵

En 2004, cette susceptibilité de dégradation a été étudiée par Kovářiková et al. à travers une étude de tests de stress sur la matière première de glimépiride. Cinq produits de dégradation ont été détectés, mais sans pour autant être identifiés.⁴

En 2008, G. Bansal et al. mènent une étude de tests de stress en utilisant un couplage HPLC-PDA/HPLC-MS pour la détection et l'identification de 4 produits de dégradation du glimépiride, aussi, pour déterminer les schémas réactionnels menant à la formation de ces produits de dégradation (Figure 4).⁵ Nous remarquons que le sulfoglime (Produit II sur la Figure 4) et aussi présent parmi les produits de dégradation du glimépiride :

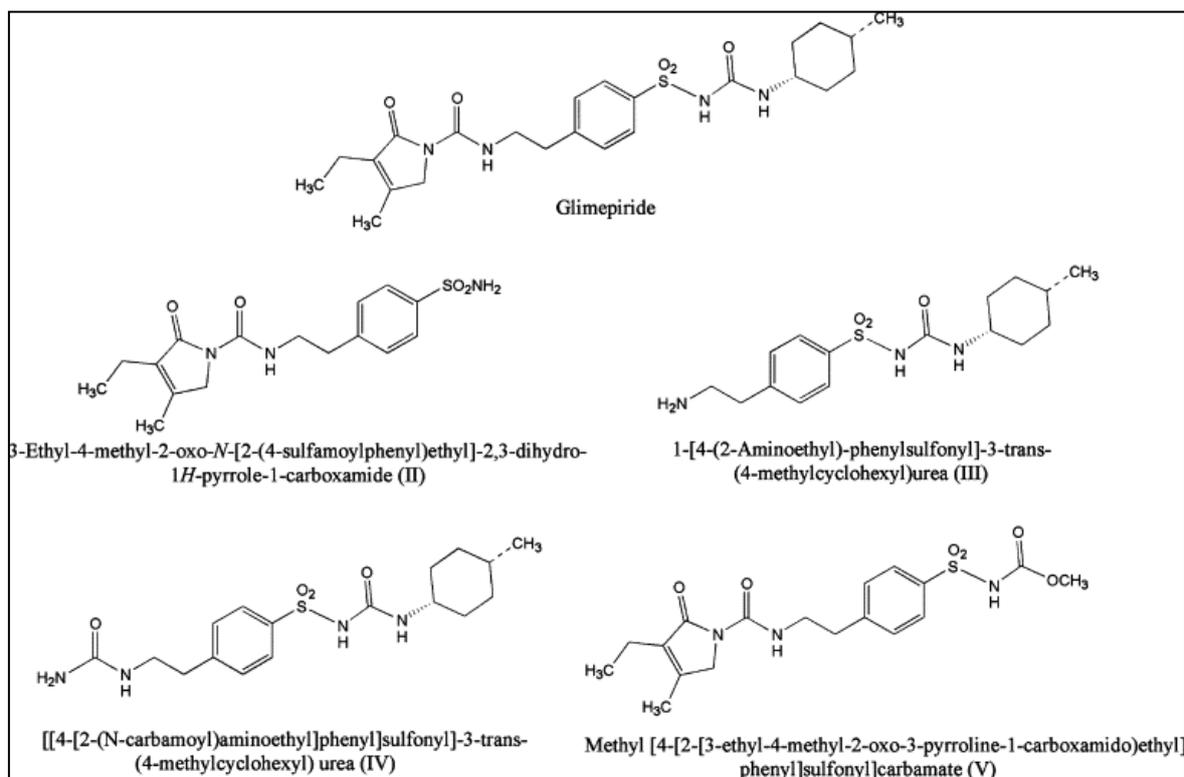


Figure 4. Structures et noms chimiques du glimépiride et de 4 de ses produits de dégradation.

Les schémas réactionnels de dégradation proposés par G. Bansal et al. (Figure 5) montre que la formation du sulfoglime (produit II) par clivage de la molécule et libération du dioxyde de carbone et du trans-méthylcyclohexylamine (t-MCA) est favorisée par le milieu acide, tandis que le milieu basique favorise un autre type de dégradation dû à une attaque nucléophile qui ouvre le cycle du dihydropyrrole qui mène à la formation du produit III inconnu.

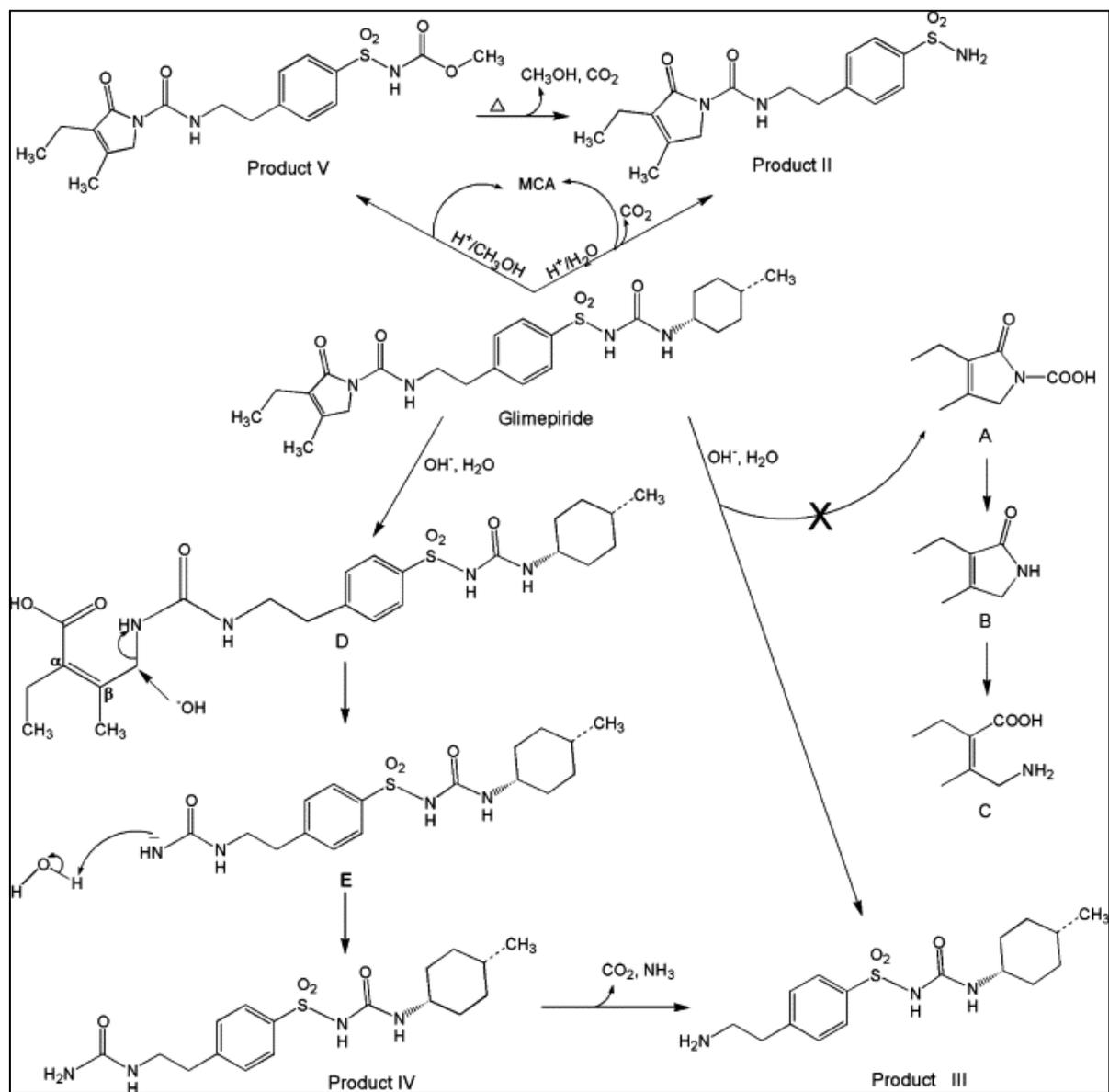


Figure 5. Les schémas de dégradation du glimépiride au produits II-V.

Aucune étude n'a été menée sur le produit fini de glimépiride pour déterminer l'effet de la formulation sur le comportement de la molécule.

Partie Pratique

Matériel et Méthodes

Résultats

Discussion

1. Matériel et Méthodes

1.1. Matériel

1.1.1. Matière première, Standards de référence et produit fini

1.1.1.1. Matière première (MP)

Le Glimépiride a été fourni par Sanofi-Aventis Deutschland GmbH.

Conformité par rapport aux spécifications définies dans la pharmacopée européennes prouvée préalablement.³⁴

1.1.1.2. Standards de Référence (SCR)

- Glimépiride SCR : Fourni par Council of Europe – EDQM.
- Impureté A (Cis-Glimépiride SCR) : Fourni par LGC GmbH.
- Impureté B (Glimépiride Sulfonamide SCR ou Sulfoglime SCR) : Fourni par LGC GmbH.
- Impureté D (Glimépiride-3-isomère SCR) : Fourni par USP.

1.1.1.3. Produit fini (PF) et placebo

Le produit fini (Glimépiride 4 mg, comprimés) et son placebo a été fourni par un laboratoire pharmaceutique marocain.

Le placebo est composé de lactose monohydrate, carboxyméthylamidon, cellulose microcristalline, PVP 30, stéarate de magnésium et Indigo carmine.

1.1.2. Réactifs

- Acétonitrile grade HPLC : fourni par VWR® BDH Prolabo®.
- Méthanol grade HPLC LiChrosolv® : fourni par Merck KGaA-Germany.
- Tétrahydrofurane (THF) Chromasolv® grade HPLC : fourni par Sigma Aldrich- Germany.
- Acide chlorhydrique HCl 0.5M préparé à partir de HCl 1M : Flacon prêt à l'emploi fourni par VWR® BDH Prolabo®.

- Hydroxyde de Potassium KOH 0.1N, 0.25N, 0.5N préparés à partir de KOH 1N : Flacon prêt à l'emploi fourni par VWR® BDH Prolabo®.
- Eau oxygénée 30% H₂O₂ Suprapur® : fourni par Merck KGaA-Germany.
- Eau distillée et filtrée pour HPLC.
- Dihydrogène orthophosphate de potassium cristallisé : fourni par FLUKA®.
- Triéthylamine HiPerSolv CHROMANORM® pour HPLC: fourni par VWR® BDH Prolabo®.

1.1.3. Appareillage :

a- Chaînes HPLC-PDA:

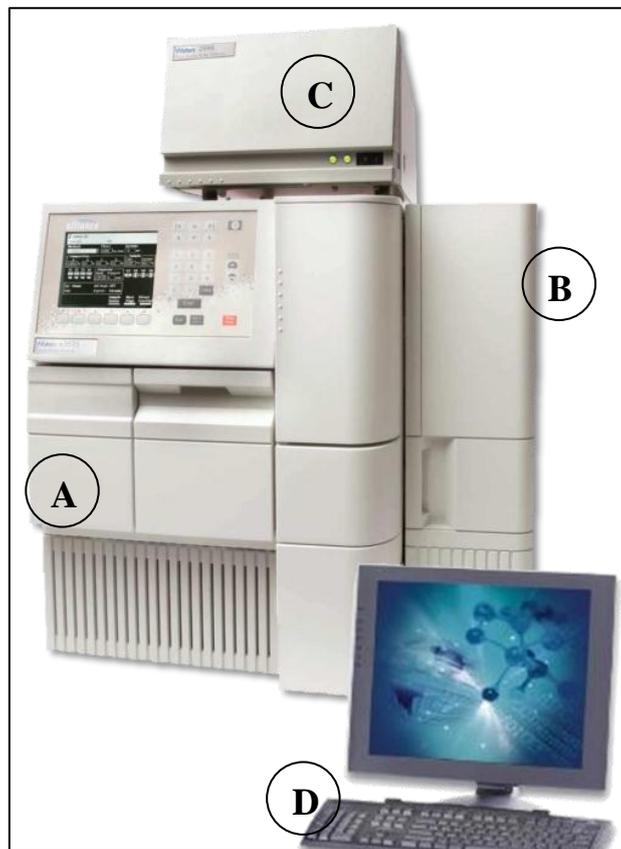


Figure 6. Module de séparation Waters® e2695 (A) muni de son module de chauffage des colonnes (B) et d'un détecteur PDA Waters® 2998 (C) et relié à un ordinateur muni du logiciel Empower Pro®, Empower 2 software (FR5) (D) pour le traitement des données chromatographiques.

i. Pour les tests de stress :

Modules: - **Alliance HPLC 11: Waters® e2695 Separation Module**
+ **Column Heater Module (Figure 6)**

- Date de Qualification: 10/06/09
- Prochaine Qualification: 10/06/09

Détecteur: - **PhotoDiode Array Detector Waters® 2998 (Figure 6)**

- Date de Qualification: 10/06/09
- Prochaine Qualification: 10/06/09

Logiciel: - **Empower Pro, Empower 2 software (FR5)**

ii. Pour les tests de stress :

Modules: - **Alliance HPLC 7: Waters e2695 Separation Module**
+ **Column Heater Module**

- Date de Qualification: 08/04/09
- Prochaine Qualification: 08/04/10

Détecteur: - **PDA Waters 2998**

- Date Qualification: 08/04/09
- Prochaine Qualification: 08/04/10

Logiciel: - **Empower Pro, Empower 2 software (FR5)**

b- Divers:

Vials en verre : fournis par Waters®.

Verrerie du laboratoire.

Seringues en plastique.

Bain marie à Ultra Sons:

- Transonic 820/H

Balance:

- Mettler Toledo® AG204 (Figure 7) :

- Max: 210g

- Min: 10 mg

- e = 1mg

- d = 0,1 mg

- Vérification Quotidienne et après chaque coupure d'électricité.

- Etalonnage hebdomadaire.



Figure 7. Balance Mettler Toledo® AG204.

Etuve Memmert:

- Qualification Annuelle: 30/11/09 par Intertec Sigma.

PH-mètre:

- **pHmeter pH 538**
- Etalonnage Quotidien
- Dernière Qualification mensuelle 28/04/09.

Conductimètre:

- **Schott®.**
- Dernière Calibration Quadrimestrielle : 31/08/09
- Dernière Qualification Annuelle le 28/04/09.

Enregistreur de Température:

- **Ebro® EBI 125 – A (Figure 8)**



Figure 8. Enregistreur de Température Ebro® EBI 125 - A.

Thermomètre

- **Ebro TTX 110 (Figure 9).**
- **Plage de mesure: -50 à +350°C**



Figure 9. Thermomètre Ebro® TTX 110.

Filtres de seringues Whatman® GD/X (Figure 10):

- Diamètre des pores de 0.45µm.
- Diamètre du filtre : 25mm.
- Membrane à fibres de verre.



Figure 10. Filtres de seringue Whatman® GD/X.

1.2.Méthodes

1.2.1. Collecte de données

Avant d'entamer les études de tests de stress, nous avons recueilli les informations concernant les propriétés chimiques et organoleptiques de la molécule de Glimépiride.

En analysant sa structure chimique développée, nous avons déduit d'autres données à propos de ses schémas de dégradation, de ses impuretés de synthèse et de dégradation et de sa susceptibilité à présenter un phénomène de polymorphisme ou des isomères.

1.2.2. Méthodologie générale

L'analyse chromatographique a été faite selon les conditions du dosage des produits apparentés spécifiées dans la technique de contrôle qualité du produit fini de Glimépiride 4 mg extraite du DMF (Drug Master File) du glimépiride micronisé (MP) : ⁴¹

▪ Conditions chromatographiques :

Détecteur	: PDA, extraction du chromatogramme à 210nm.
Colonne	: X-Terra C18, 5µm (250 x 4.6mm), Waters®.
Température colonne	: 25°C
Température essai	: 25°C ± 1°C
Volume injecté	: 20 µl
Débit	: 1.0 ml/min
Durée d'injection	: 30 min
Phase mobile A	: Tampon pH 6.00 (5.3 g de dihydrogène orthophosphate de potassium dans 1000 ml d'eau et ajuster à pH 6.00 avec Triéthylamine).

Phase mobile B	: Acétonitrile HPLC
A – B %	: 50 – 50 %
Solvant de dilution	: Méthanol HPLC -- Acétonitrile HPLC (50 % -- 50 %)

N.B : Equilibrer la colonne avec un débit de 1.0 mL/min pendant 20 min.

▪ **Préparation des solutions :**

- ***Solution standard mère pour la détermination de Sulfoglime :*** Peser et transférer 12.5 mg de Sulfoglime SCR dans une fiole jaugé de 100 ml, ajuster au volume avec le solvant de dilution. Passer aux ultrasons jusqu' au avoir une solution claire et agiter jusqu'à l'homogénéisation. (M1).

Transférer 5 ml da la solution (M₁) dans une fiole jaugée de 50 ml, ajusté au volume avec le solvant de dilution (M₂). Après transférer 5 ml da la solution (M₂) dans une fiole jaugée de 50 ml, ajusté au volume avec le solvant de dilution (M₃). Filtrer la solution sur filtre de diamètre 0.45µm et éliminer les premiers 1 ou 2 ml du filtrat. (Concentration = 1.25×10^{-3} mg/ml)

- ***Solution standard mère pour la détermination de Glimépiride:*** Peser et transférer 25.0mg de Glimépiride standard de référence dans une fiole jaugé de 50 ml, ajuster au volume avec le solvant de dilution. Passer aux ultrasons jusqu'à avoir une solution claire et agiter jusqu'à homogénéisation (C_{ST-I} = 0.5 mg/ml).

- ***Préparation d'essais :*** Broyer 10 comprimés, peser et transférer une quantité de poudre correspondante à 25 mg de Glimépiride dans une fiole jaugé de 25 ml. Ajuster jusqu'à trait de jauge avec le solvant de dilution, Après agiter magnétiquement pendent 30 min. filtrer sur filtre membrane 0.45µm.

- **blanc** : Méthanol HPLC / Acétonitrile HPLC (50 % / 50 %)

- On a procédé à la préparation de la phase mobile et du solvant de dilution (comme elle a été décrite ci-dessus) avant de procéder à la préparation des solutions stocks et aux tests de stress.

- Pour certains tests de stress, le solvant est adapté aux conditions appliquées à l'échantillon selon les spécifications du DMF et les exigences techniques de l'expérience.

- Tous les échantillons ont subi une filtration à l'aide de filtres Whatman® de 0.45µm de diamètre de pores avant le remplissage des vials.

- Bien que la méthode analytique a été déjà établie au niveau du DMF, plusieurs paramètres ont été modifiés en vue d'obtenir des résultats significatifs.

1.2.3. Tests de Stress

Nous avons préparé des échantillons non dégradés dans le but de s'en servir pour calculer les pourcentages de dégradation et les taux des produits de dégradation formés dans les différents échantillons dégradés.

Dans un but d'alimenter la bibliothèque du système d'exploitation des données chromatographiques, nous avons préparé les échantillons des impuretés de synthèse (A et D) de Glimépiride pour en déduire les spectres UV.

Pour l'impureté de dégradation connue (le Sulfoglime) et le SCR de glimépiride, les spectres UV ont été déjà répertoriés dans la bibliothèque du système lors de la validation analytique réalisée par le laboratoire au préalable.

1.2.3.1. Préparation des échantillons

1.2.3.1.1. Non dégradés

- Blanc : mélange du solvant de dilution (Méthanol/Acétonitrile 50:50 V:V).
- Placebo (PND) : Peser et transférer une quantité de poudre du placebo correspondante à 25 mg de Glimépiride (d'après la formule du PF, cela correspond à 1073.5 mg de poudre placebo) dans une fiole jaugé de 25 ml. Ajuster jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution. Agiter énergiquement et passer la fiole aux ultrasons pendant 15 min.
- Témoin (TND) : Peser et transférer une quantité de glimépiride (MP) correspondante à 25 mg de Glimépiride dans une fiole jaugé de 50 ml. Ajuster jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution. Agiter énergiquement et passer la fiole aux ultrasons pendant 15 min.
- Essai (END) : Broyer 10 comprimés de Glimépiride 4 mg. Peser et transférer une quantité de poudre correspondante à 25 mg de Glimépiride (d'après le la formule du PF, cela correspond à 1062.5 mg de poudre de comprimés broyés) dans une fiole jaugé de 25 ml. Ajuster jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution. Agiter énergiquement et passer la fiole aux ultrasons pendant 15 min.
- Prises d'essai :
 $m_{\text{PND}}=1037.6 \text{ mg}$; $m_{\text{TND}}= 25.3 \text{ mg}$; $m_{\text{END}}= 1062.0 \text{ mg}$

1.2.3.1.2. Impuretés

- Peser et transférer 2.5 mg du standard de référence de l'impureté concernée dans une fiole jaugée de 10mL. Ajuster jusqu'au trait de jauge avec le solvant de dilution. Pour diluer à 1/100 par le solvant de dilution
- Prises d'essai :
 $m_{\text{Impureté A}}= 2.4 \text{ mg}$; $m_{\text{Impureté D}}= 2.5 \text{ mg}$.

1.2.3.2. Ajustement de la méthode analytique

1.2.3.2.1. Hydrolyse neutre, acide ou oxydative :

- La méthode proposée sur le DMF :

Dissoudre 100 mg de glimépiride dans 50 mL d'un mélange (eau, HCl 0.5N ou H₂O₂ 30%)/THF (50:50) (V:V).

- La méthode ajustée :

Dissoudre 25 mg de glimépiride dans 50 mL d'un mélange (eau, HCl 0.5N, ou H₂O₂ 30%)/THF (50:50) (V:V).

1.2.3.2.2. Hydrolyse basique :

- La méthode proposée sur le DMF :

Dissoudre 100 mg de glimépiride dans 50 mL d'un mélange de KOH 0.25N/THF 50:50 V:V.

- La méthode préliminaire :

Dissoudre 25 mg de glimépiride dans 50 mL d'un mélange de KOH 0,25N/THF 50:50 V:V.

- La méthode ajustée :

Dissoudre 25 mg de glimépiride dans 50 mL d'un mélange de KOH 0,5N/THF 80:20 V:V.

1.2.3.3. Conditions des tests de stress

En fonction des résultats obtenus lors de l'ajustement de la méthode (paragraphe précédent), nous avons définie les conditions stress décrits ci-dessous.

Pour chaque condition, les trois échantillons suivants subissent les mêmes conditions de stress :

- Blanc : composé du solvant de dilution de la condition de stress que l'échantillon subit.
- Placebo : Composé de la poudre du placebo du produit de Glimépiride 4 mg comprimés.
- Témoin : Composé de la Matière Première (MP) de Glimépiride conforme aux spécifications de la pharmacopée européenne.
- Essai : Composé d'une prise d'essai de la poudre du broyat du Produit Fini (PF).

1.2.3.3.1. Hydrolyse neutre :

Prises d'essai:

Placebo : ~1073.5 ; Témoin : ~25.0 mg ; Essai : ~ 1062.5 mg

Conditions :

Transférer chaque échantillon dans une fiole jaugée de 50 mL. Dissoudre les échantillons dans un mélange eau/THF (50:50) (V:V). Bien agiter la fiole jaugée. Ajuster ensuite jusqu'au trait de jauge, puis exposer aux ultrasons pendant 15 min (jusqu'à dissolution totale du Glimépiride).

Chaque échantillon est ensuite chauffé sous reflux à 110 °C pendant 3h avant d'être analysé par chromatographie dans les conditions cités ci-dessus (paragraphe 1.2.2).

Programme d'analyse :

Les analyses ont été faites à T_0 (avant chauffage) et à $T=3h$.

1.2.3.3.2. Hydrolyse acide

Prises d'essai:

Placebo : ~1073.5 ; Témoin : ~25.0 mg ; Essai : ~ 1062.5 mg

Conditions :

Transférer chaque échantillon dans une fiole jaugée de 50 mL. Dissoudre les échantillons dans un mélange HCl 0.5N/THF (50:50) (V:V). Bien agiter la fiole jaugée. Ajuster ensuite jusqu'au trait de jauge, puis exposer aux ultrasons pendant 15 min (jusqu'à dissolution totale du Glimépiride).

Chaque échantillon est ensuite chauffé sous reflux à 110 °C pendant 3h avant d'être analysé par chromatographie dans les conditions cités ci-dessus (paragraphe 1.2.2).

Programme d'analyse :

Les analyses ont été faites à T₀ (avant chauffage) et à T=3h.

1.2.3.3.3. Hydrolyse basique

Prises d'essai:

Placebo : ~1073.5 ; Témoin : ~25.0 mg ; Essai : ~ 1062.5 mg

Conditions :

Transférer chaque échantillon dans une fiole jaugée de 50 mL. Dissoudre les échantillons dans un mélange KOH 0.5N/THF (80:20) (V:V). Bien agiter la fiole jaugée. Ajuster ensuite jusqu'au trait de jauge, puis exposer aux ultrasons pendant 15 min (jusqu'à dissolution totale du Glimépiride).

Chaque échantillon est ensuite conservé à la température ambiante pendant 24h avant d'être analysé par chromatographie dans les conditions citées ci-dessus (paragraphe 1.2.2).

Programme d'analyse :

Les analyses ont été faites à T₀, à T=3h et à T=24h.

1.2.3.3.4. Chaleur sèche

Prises d'essai:

Placebo : ~1073.5 ; Témoin : ~25.0 mg ; Essai : ~ 1062.5 mg

Conditions :

Les échantillons ont été exposés à une température entre 100 et 105 °C pendant 15 jours dans des flacons en verre marron couverts par du papier Aluminium.

Transférer chaque échantillon dans une fiole jaugée de 50 mL. Dissoudre les échantillons dans le solvant de dissolution définie dans la méthodologie générale. Bien agiter la fiole jaugée. Ajuster ensuite jusqu'au trait de jauge, puis exposer aux ultrasons pendant 15 min (jusqu'à dissolution totale du Glimépiride).

Chaque échantillon est ensuite analysé par chromatographie dans les conditions citées ci-dessus (paragraphe 1.2.2).

Programme d'analyse :

Les analyses ont été faites à T_0 et à $T=15$ jours.

1.2.3.3.5. Photodégradation

Prises d'essai:

Placebo : ~1073.5 ; Témoin : ~25.0 mg ; Essai : ~ 1062.5 mg

Conditions :

Les échantillons ont été exposés à la lumière du soleil pendant 15 jours dans des boîtes de pétri en plexiglas hermétiquement scellées.

Transférer chaque échantillon dans une fiole jaugée de 50 mL. Dissoudre les échantillons dans le solvant de dissolution définie dans la méthodologie générale. Bien agiter la fiole jaugée. Ajuster ensuite jusqu'au trait de jauge, puis exposer aux ultrasons pendant 15 min (jusqu'à dissolution totale du Glimépiride).

Chaque échantillon est ensuite analysé par chromatographie dans les conditions citées ci-dessus (paragraphe 1.2.2).

Programme d'analyse :

Les analyses ont été faites à T₀ et à T=15 jours.

1.2.3.3.6. Dégradation oxydative

1.2.3.3.6.1. A la température ambiante

Prises d'essai:

Placebo : ~1073.5 ; Témoin : ~25.0 mg ; Essai : ~ 1062.5 mg

Conditions :

Transférer chaque échantillon dans une fiole jaugée de 50 mL. Dissoudre les échantillons dans un mélange H₂O₂ 30%/THF (50:50) (V:V). Bien agiter la fiole jaugée. Ajuster ensuite jusqu'au trait de jauge, puis exposer aux ultrasons pendant 15 min (jusqu'à dissolution totale du Glimépiride).

Chaque échantillon est ensuite conservé à la température ambiante pendant 24h avant d'être analysé par chromatographie dans les conditions citées ci-dessus (paragraphe 1.2.2).

Programme d'analyse :

Les analyses ont été faites à T₀, à T=3h et à T=24h.

1.2.3.3.6.2. Sous reflux (SR)

Prises d'essai:

Placebo : ~1073.5 ; Témoin : ~25.0 mg ; Essai : ~ 1062.5 mg

Conditions :

Transférer chaque échantillon dans une fiole jaugée de 50 mL. Dissoudre les échantillons dans un mélange H₂O₂ 30%/THF (50:50) (V:V). Bien agiter la fiole jaugée. Ajuster ensuite jusqu'au trait de jauge, puis exposer aux ultrasons pendant 15 min (jusqu'à dissolution totale du Glimépiride).

Chaque échantillon est ensuite chauffé sous reflux à 110 °C pendant 3h avant d'être analysé par chromatographie dans les conditions cités ci-dessus (paragraphe 1.2.2).

Programme d'analyse :

Les analyses ont été faites à T₀ (avant chauffage) et à T=3h.

1.2.3.4. *Calcul des pourcentages de dégradation :*

Le calcul des pourcentages de dégradation est fait en tenant compte de la correction de la différence de masse par rapport aux aires de glimépiride des échantillons non dégradés selon les formules suivante :

- Pour les témoins : $\% \text{ de dégradation}_{T\acute{e}moin} = 100 - \left(\frac{A_{TD}}{A_{TND}} \div \frac{m_{TD}}{m_{TND}} \right)$

- Pour les essais : $\% \text{ de dégradation}_{Essai} = 100 - \left(\frac{A_{ED}}{A_{END}} \div \frac{m_{ED}}{m_{END}} \right)$

o Avec :

▪ $Taux_{T\acute{e}moinD} = \left(\frac{A_{TD}}{A_{TND}} \div \frac{m_{TD}}{m_{TND}} \right)$

▪ $Taux_{EssaiD} = \left(\frac{A_{ED}}{A_{END}} \div \frac{m_{ED}}{m_{END}} \right)$

▪ A_{TD} : Aire du glimépiride ou du sulfoglime du témoin dégradé.

▪ A_{TND} : Aire du glimépiride du témoin non dégradé.

▪ m_{TD} : Masse pesée du témoin dégradé.

▪ m_{TND} : Masse pesée du témoin non dégradé.

▪ A_{ED} : Aire du glimépiride ou du sulfoglime de l'essai dégradé.

▪ A_{END} : Aire du glimépiride de l'essai non dégradé.

▪ m_{ED} : Masse pesée de l'échantillon de l'essai dégradé.

▪ m_{END} : Masse pesée de l'échantillon de l'essai non dégradé.

1.2.4. Validation analytique

La validation analytique des techniques de dosage du glimépiride et du sulfoglime par HPLC ont été réalisées au préalable par le laboratoire hôte selon le protocole suivant : ⁴²

1.2.4.1. Dosage du glimépiride par HPLC :

1.2.4.1.1. Spécificité

Elle a été évaluée en analysant en parallèle, et selon les conditions opératoires citées au paragraphe 1.2.2, une solution de glimépiride, une solution de sulfoglime, une solution essai et une solution placebo.

1.2.4.1.2. Linéarité

Cinq concentrations réparties sur l'intervalle d'étude [70% à 130%] ont été préparées selon les conditions opératoires citées au paragraphe 1.2.2. Chaque concentration a été injectée trois fois :

Tableau III. Prises d'essai pour l'étude de la linéarité de la méthode du dosage de Glimépiride par HPLC.

Solution	% Théorique de Glimépiride	Prise d'essai de Glimépiride en mg
Témoin 1	70%	17,5
Témoin 2	85%	21,25
Témoin 3	100%	25,0
Témoin 4	115%	28,75
Témoin 5	130%	32,5

On établit la régression linéaire et l'analyse des résidus avec le logiciel Microsoft® Excel® version 2007.

1.2.4.1.3. Exactitude

L'exactitude a été évaluée par la préparation des échantillons reconstitués du placebo et de glimépiride dans la gamme de concentration (70%, 100% et 130%) de la teneur théorique de glimépiride. Pour chaque concentration, on a préparé trois essais selon le tableau suivant :

Tableau IV. Prises d'essai pour l'étude de l'exactitude de la méthode du dosage de Glimépiride par HPLC.

Nombre d'essais	Nombre de séries	% Théorique de Glimépiride	Masse de glimépiride pesée en mg	Masse de Placebo pesée en mg
1	1	70%	2.8	166
2			2.8	
3			2.8	
4	2	100%	4.0	
5			4.0	
6			4.0	
7	3	130%	5.2	
8			5.2	
9			5.2	

Les séries ont été dosées par rapport à deux solutions témoins dont le coefficient de variation (CV) des facteurs de réponses est inférieur à 2%.

$$\% \text{ de recouvrement} = \left(\frac{\text{Masse de glimépiride mesurée}}{\text{Masse de glimépiride pesée}} \right) \times 100$$

1.2.4.1.4. Fidélité

La fidélité a été évaluée par l'analyse de 6 essais préparés selon les conditions opératoires du paragraphe 1.2.2 répétée pendant trois jours.

1.2.4.2. *Dosage du sulfoglime par HPLC :*

1.2.4.2.1. Spécificité

Elle a été évaluée en analysant en parallèle, et selon les conditions opératoires citées au paragraphe 1.2.2, une solution de glimépiride, une solution de sulfoglime, une solution essai et une solution placebo.

1.2.4.2.2. Linéarité

Cinq concentrations réparties sur l'intervalle d'étude [0.05% à 2.0%] ont été préparées selon les conditions opératoires citées au paragraphe 1.2.2. Chaque concentration a été injectée trois fois :

Tableau V. Prises d'essai pour l'étude de la linéarité de la méthode du dosage de Sulfoglime par HPLC.

Solution	% Théorique de Glimépiride	Masse de sulfoglime en mg
Témoin 1	0.05%	$\frac{1.25mg}{100ml} \times \frac{5ml}{50} \times \frac{5ml}{50}$
Témoin 2	0.50%	$\frac{12.5mg}{100ml} \times \frac{5ml}{50} \times \frac{5ml}{50}$
Témoin 3	1.00%	$\frac{25mg}{100ml} \times \frac{5ml}{50} \times \frac{5ml}{50}$
Témoin 4	1.50%	$\frac{37.5mg}{100ml} \times \frac{5ml}{50} \times \frac{5ml}{50}$
Témoin 5	2.00%	$\frac{50mg}{100ml} \times \frac{5ml}{50} \times \frac{5ml}{50}$

On établit la régression linéaire et l'analyse des résidus avec le logiciel Microsoft® Excel® version 2007.

1.2.4.2.1. Exactitude

L'exactitude a été évaluée par la préparation des échantillons reconstitués de sulfoglime dans la gamme de concentration (0.05%, 1.00% et 2.00%) de la

teneur théorique de sulfoglime. Pour chaque concentration, on a préparé trois essais.

$$\% \text{ de recouvrement} = \left(\frac{\text{Masse de sulfoglime mesurée}}{\text{Masse de sulfoglime pesée}} \right) \times 100$$

2. Résultats

2.1. Spécifications expérimentales de la Glimépiride:

2.1.1. Propriétés organoleptiques

2.1.1.1. MP

Poudre blanche ou sensiblement blanche.

2.1.1.2. PF (Glimépiride 4 mg comprimé)

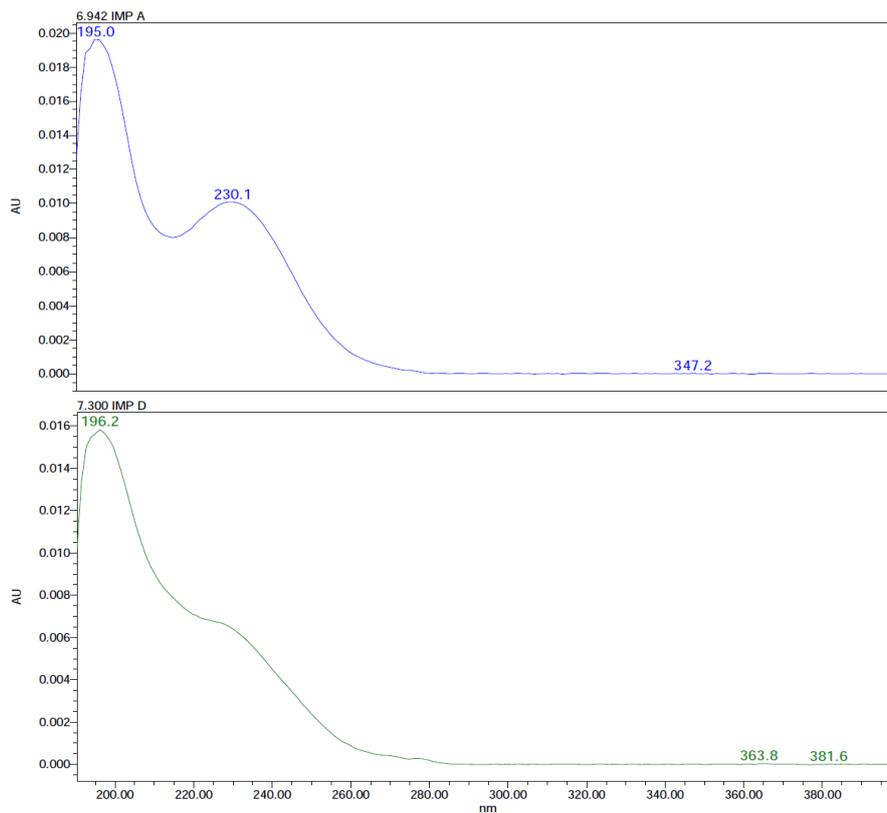
Aspect : comprimé de forme rectangulaire.

Couleur : bleu claire.

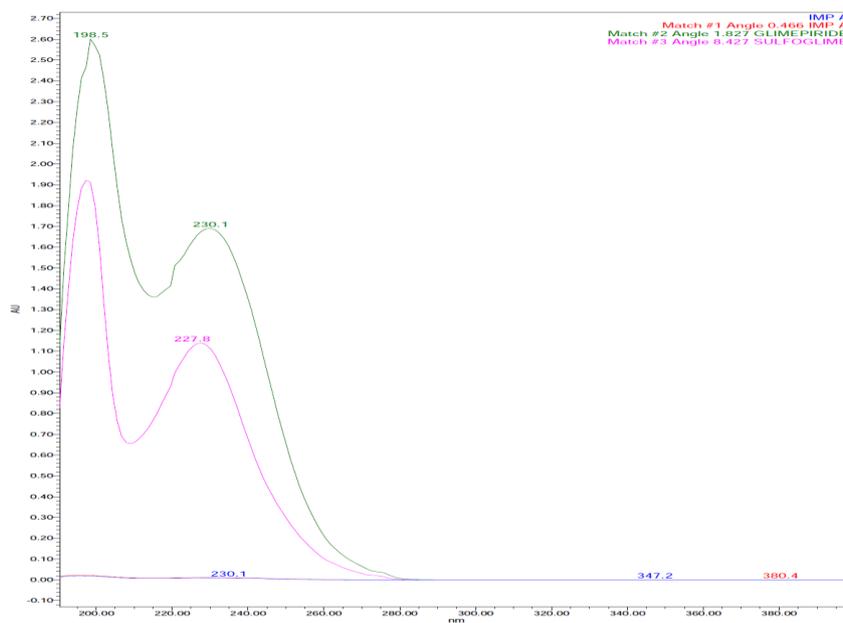
2.1.2. Propriétés chimiques

- **Solubilité :** pratiquement insoluble dans l'eau soluble dans le diméthylformamide, peu soluble dans le chlorure de méthylène, très peu soluble dans le méthanol.
- **Isomérisation Cis-trans des cycles:** La présence d'un cyclohexane (Figure 1) disubstitué implique la présence d'un Cis-isomère.
- **Le glimépiride** présente le phénomène du polymorphisme.³⁴
- **pH = 6.**

2.1.3. Spectres UV des substances apparentées à la Glimépiride (A, D, Sulfoglime)



Spectre 1. Spectres d'absorption UV des impuretés de synthèse A (en haut) et D (en bas) de la Glimépiride.



Spectre 2. Spectres d'absorption UV d la Glimépiride (en vert) comparée à la Sulfoglime (Impureté B, en rose).

2.2. Tests de Stress

2.2.1. Ajustement de la méthode analytique :

2.2.1.1. Hydrolyse neutre, acide ou oxydative :

- La méthode proposée sur le DMF :

Impossibilité de dissoudre la quantité de glimépiride dans 100ml du solvant.

- La méthode ajustée :

Bonne dissolution du produit. Voir résultats ci-après.

2.2.1.2. Hydrolyse basique :

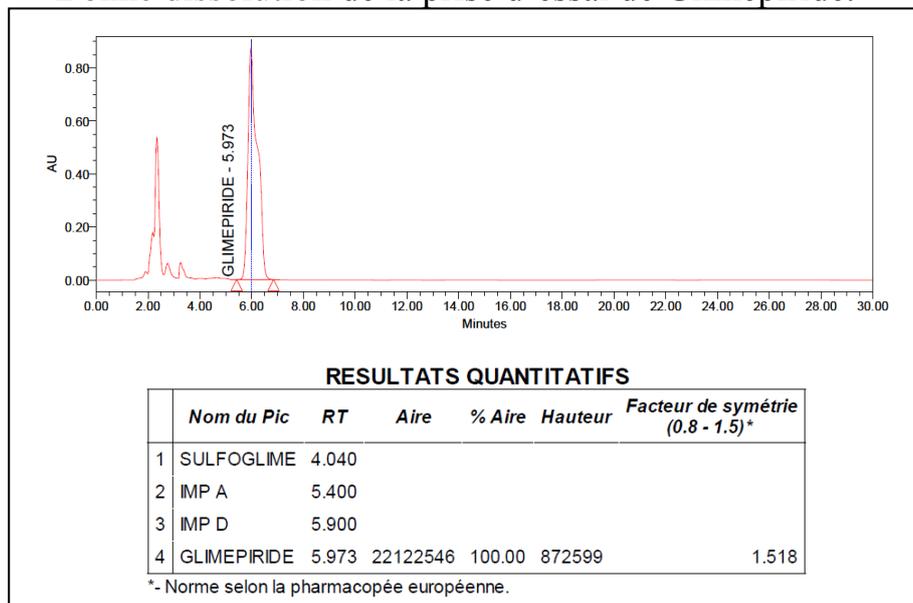
- La méthode proposée sur le DMF :

Impossibilité de dissoudre la quantité de glimépiride dans 100ml du solvant.

Le mélange du solvant n'est pas homogène.

- La méthode préliminaire :

Bonne dissolution de la prise d'essai de Glimépiride.

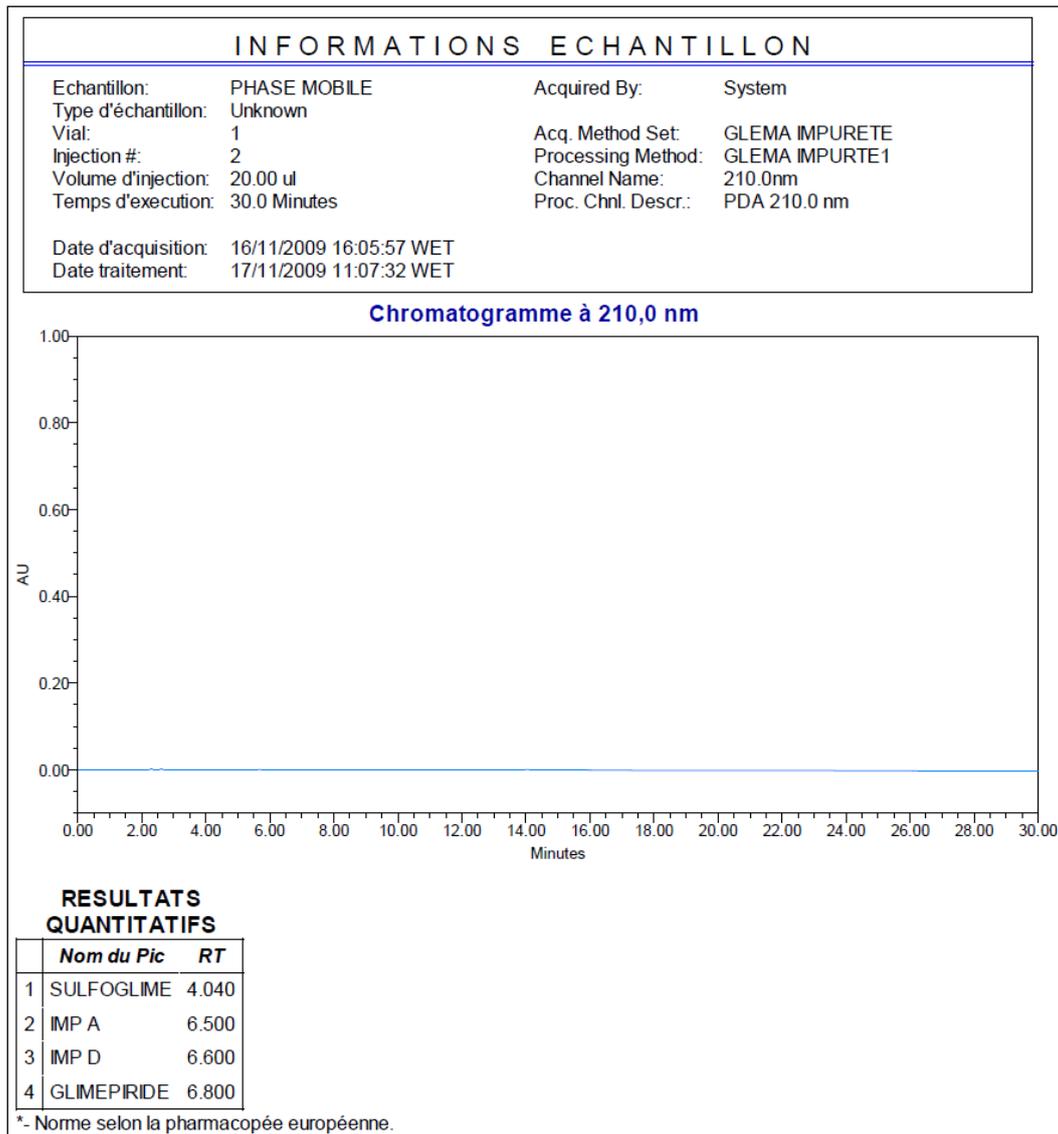


Chromatogramme 1. Résultat obtenu lors de l'application de la méthode préliminaire de l'hydrolyse basique.

- La méthode ajustée : Voir résultats ci-dessous.

2.2.2. Analyses chromatographiques et spectres UV:

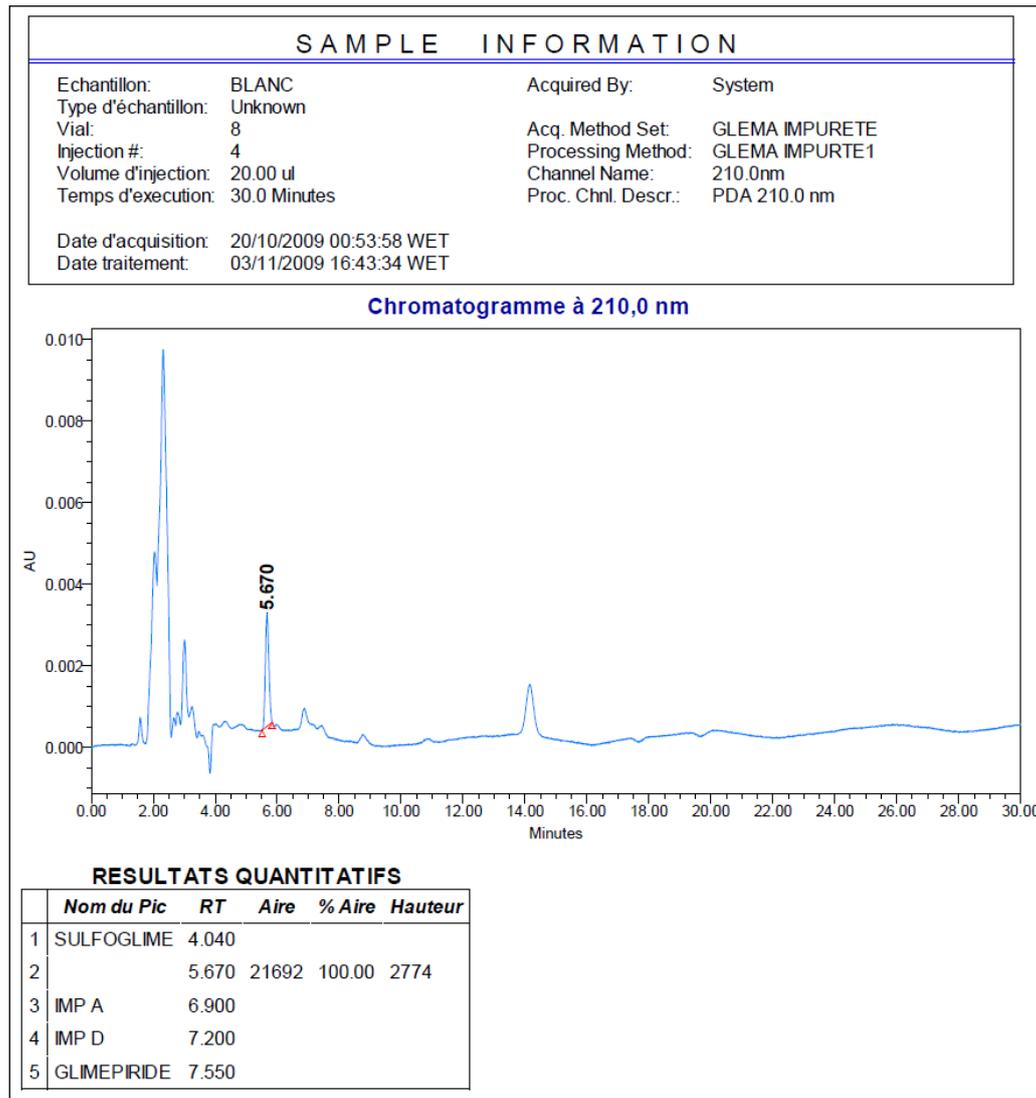
2.2.2.1. Phase mobile



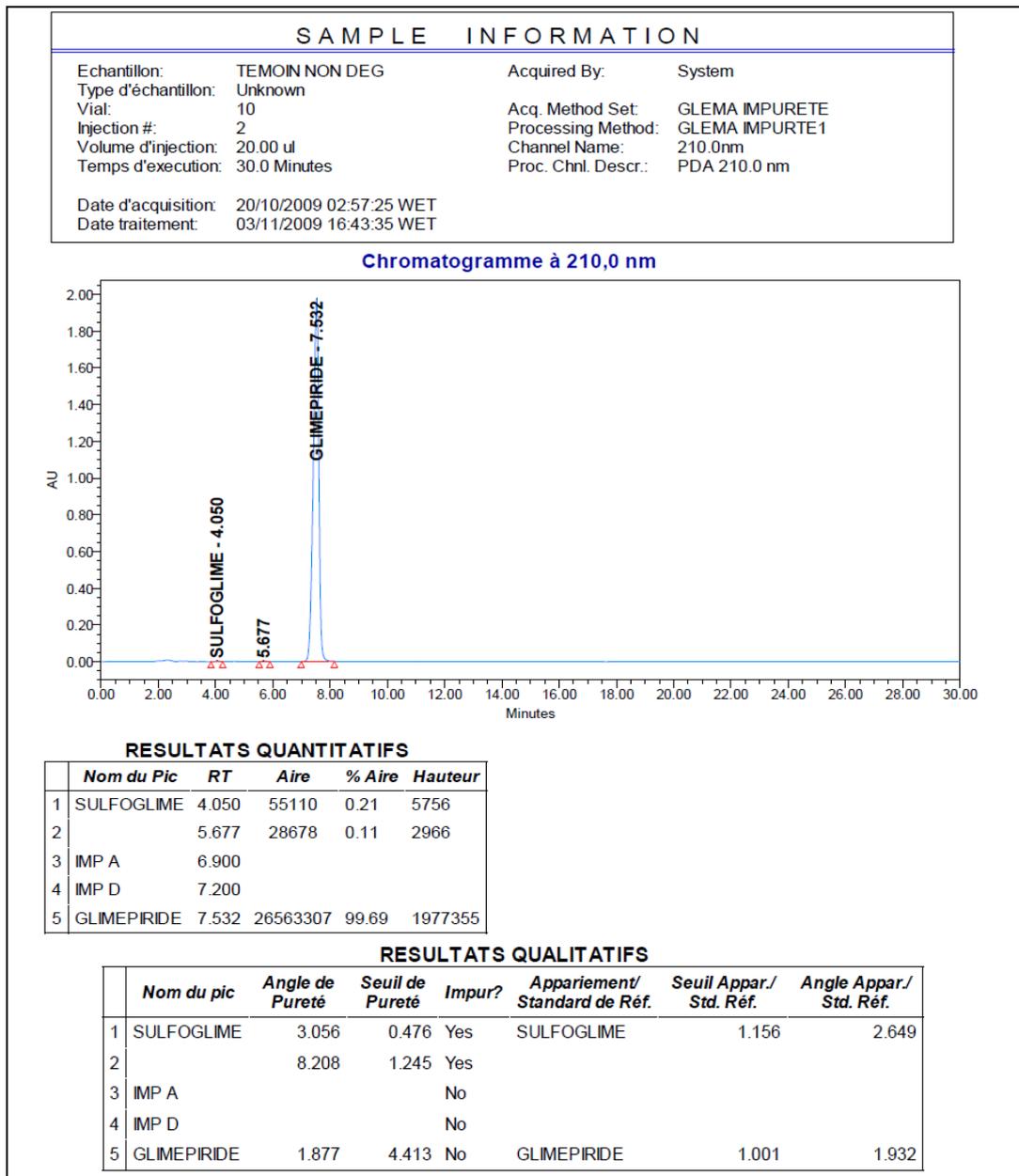
Chromatogramme 2. Résultat de l'analyse chromatographique de la phase mobile.

2.2.2.2. Echantillons non dégradés

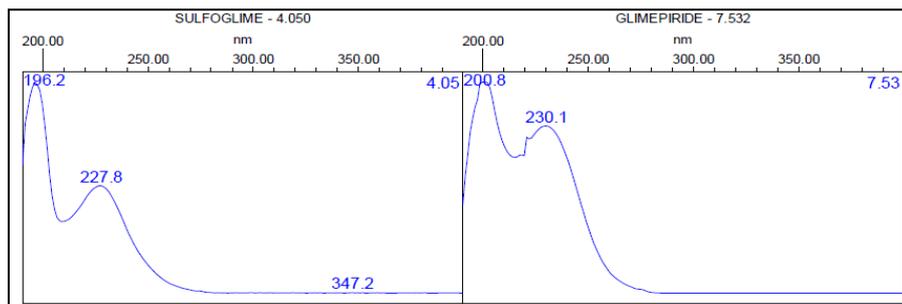
Ci-après, les chromatogrammes du blanc, du témoin (MP), et de l'essai (PF).



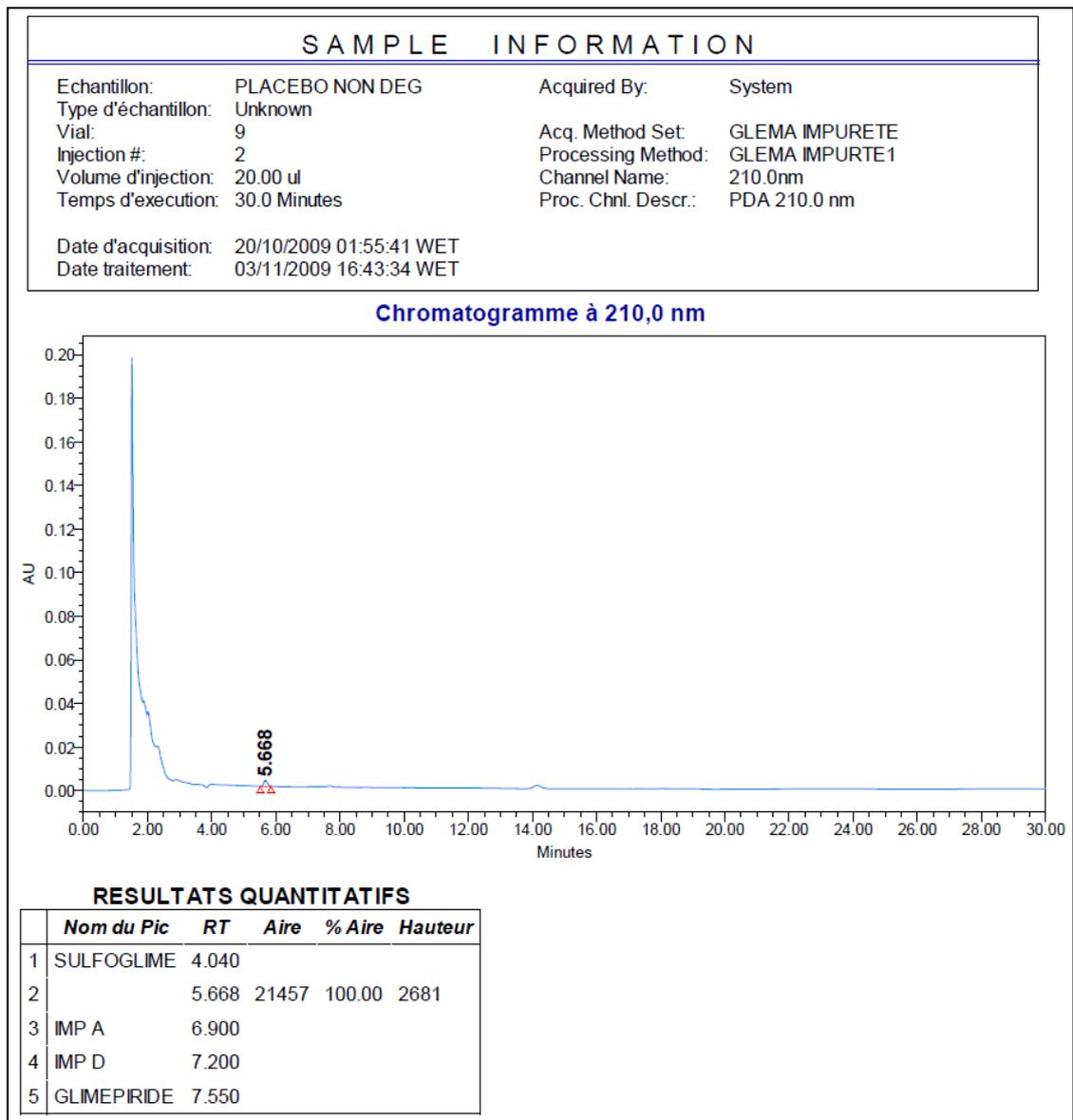
Chromatogramme 3. Résultat de l'essai du blanc (méthanol:acétonitrile 50:50 V:V) non dégradé



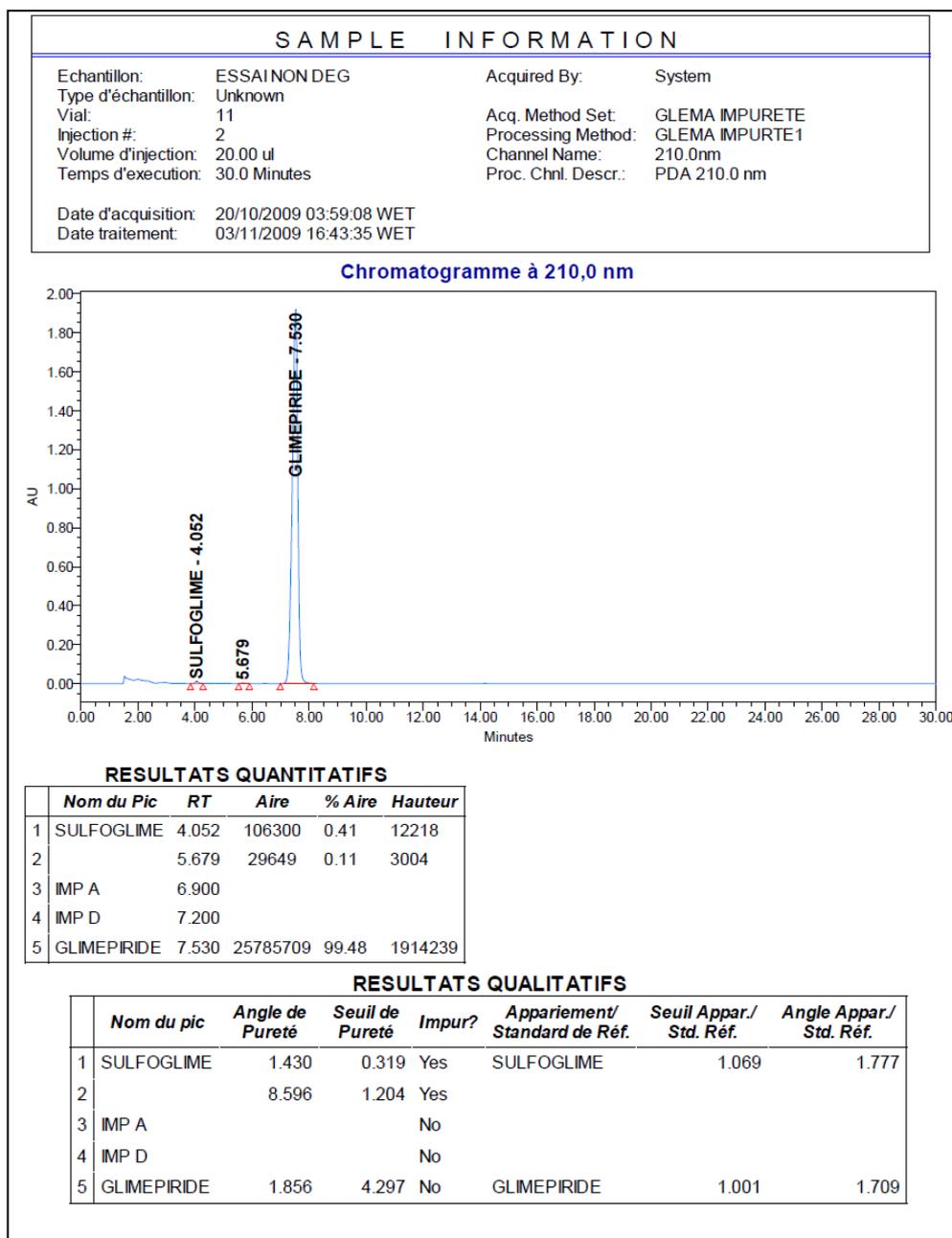
Chromatogramme 4. Résultats de l'analyse du témoin (MP) non dégradé



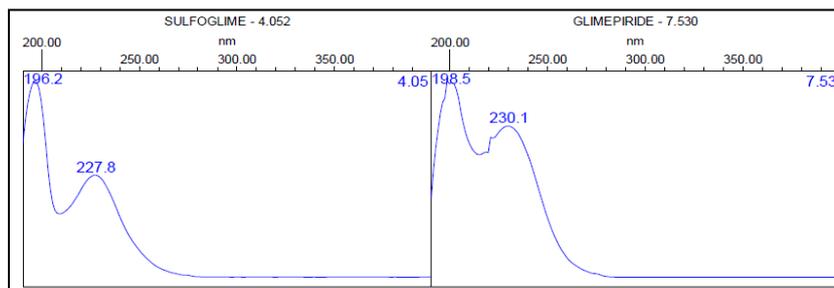
Spectre 3. Absorption UV des éléments de l'analyse du témoin non dégradé



Chromatogramme 5. Résultat de l'analyse du placebo non dégradé

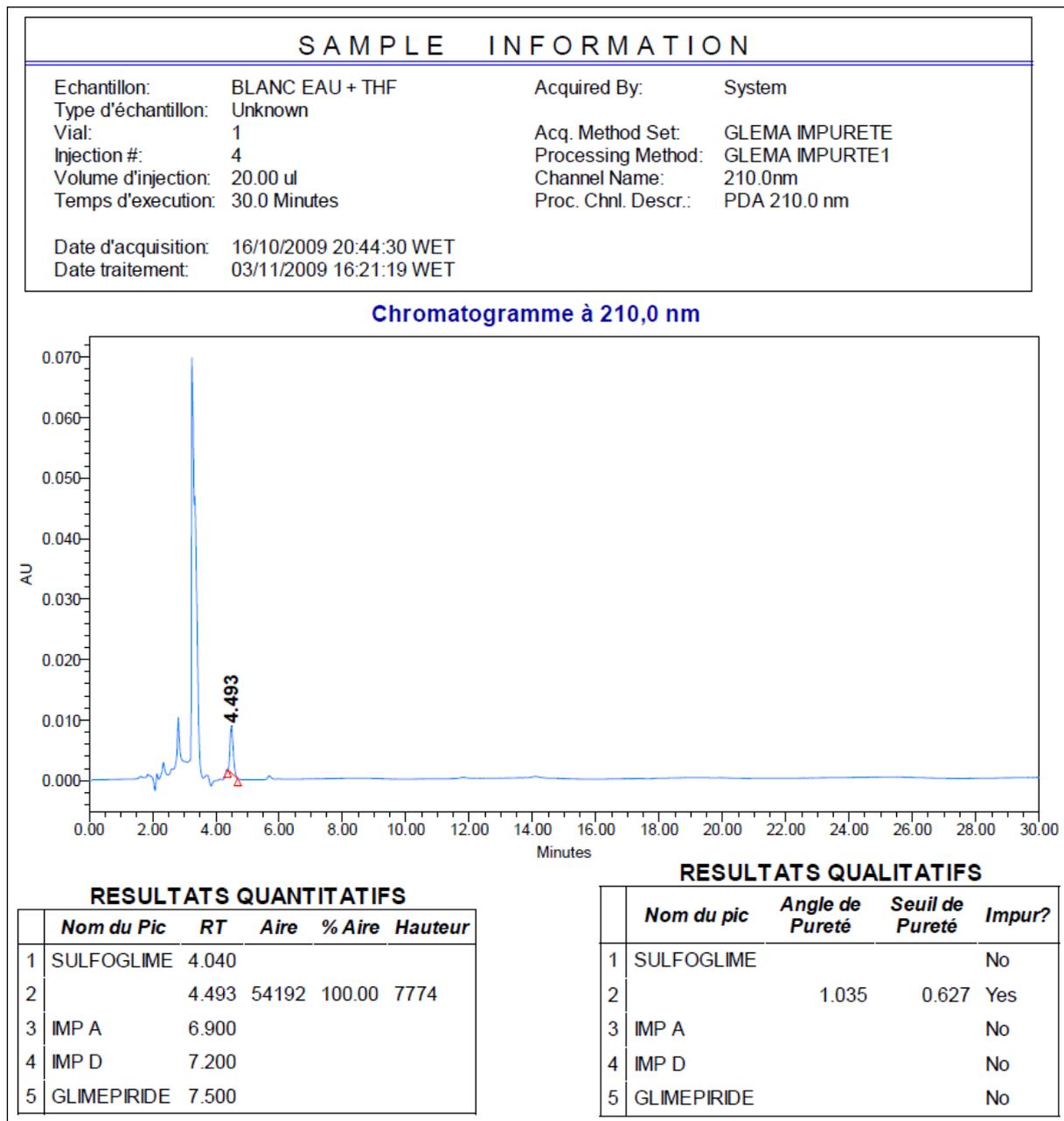


Chromatogramme 6. Résultats de l'analyse de l'essai PF non dégradé



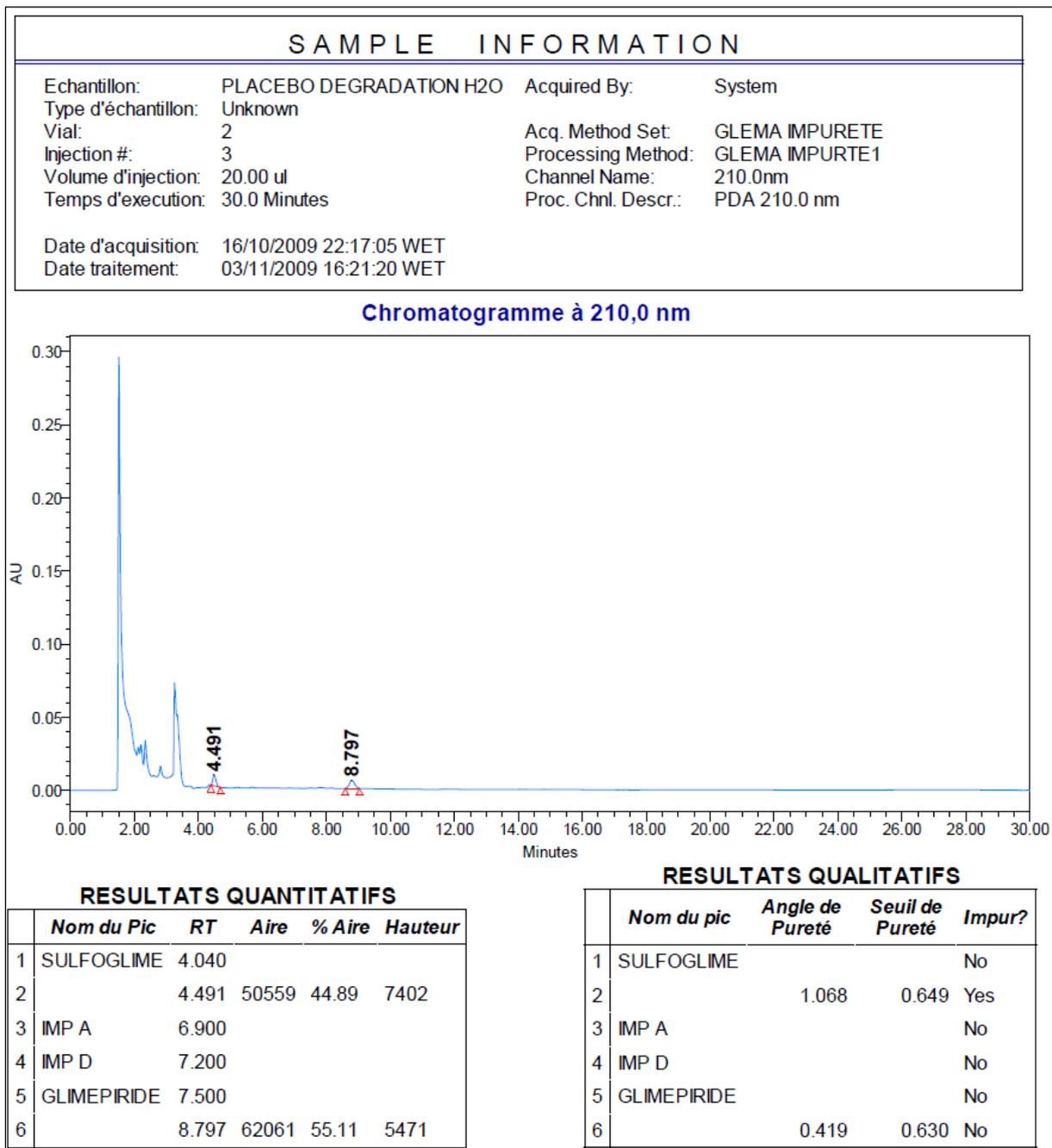
Spectre 4. Absorption UV des éléments de l'analyse de l'essai non dégradé

2.2.2.3. Hydrolyse Neutre:

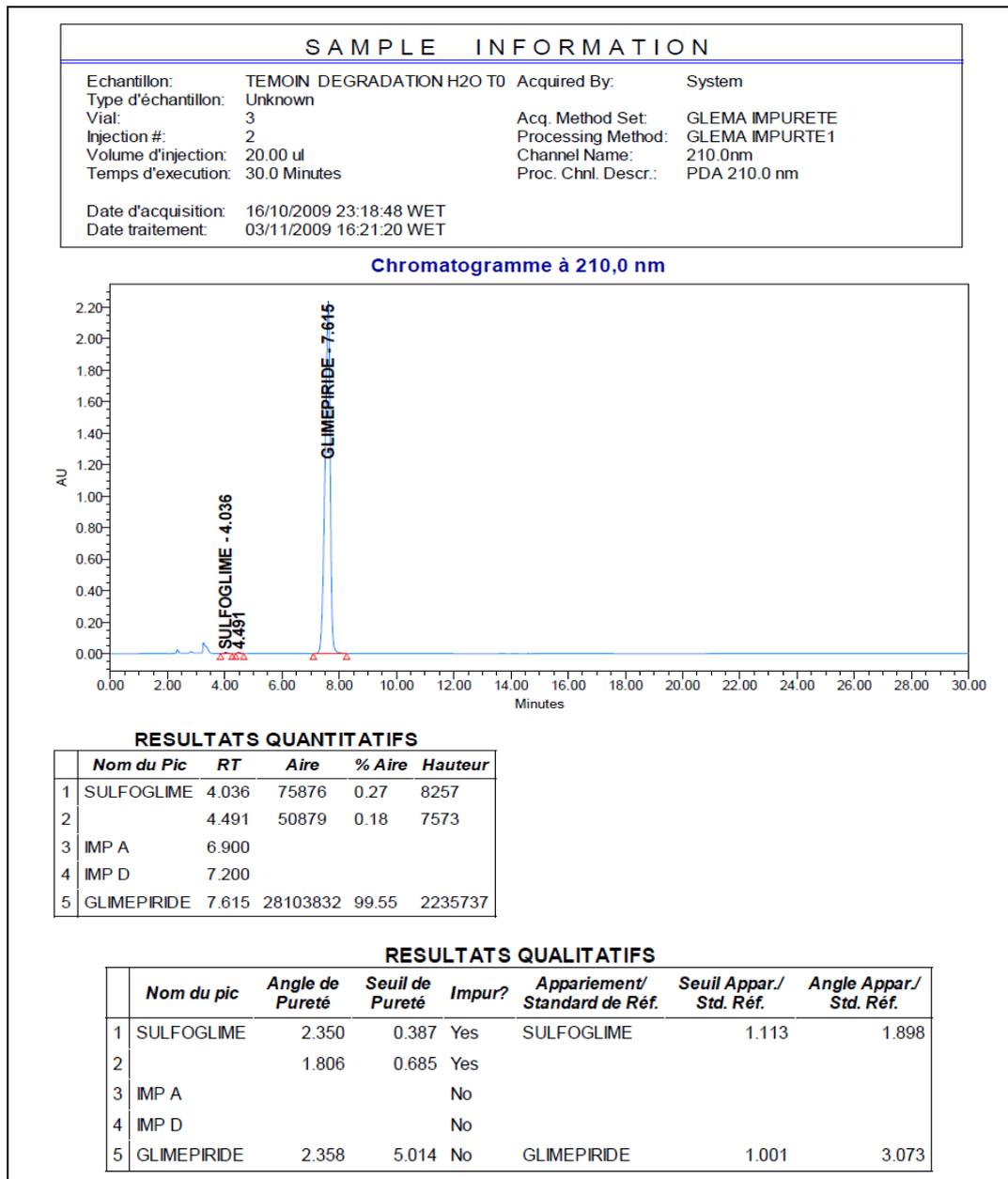


Chromatogramme 7. Résultat de l'analyse du blanc (Eau+THF) de l'hydrolyse neutre.

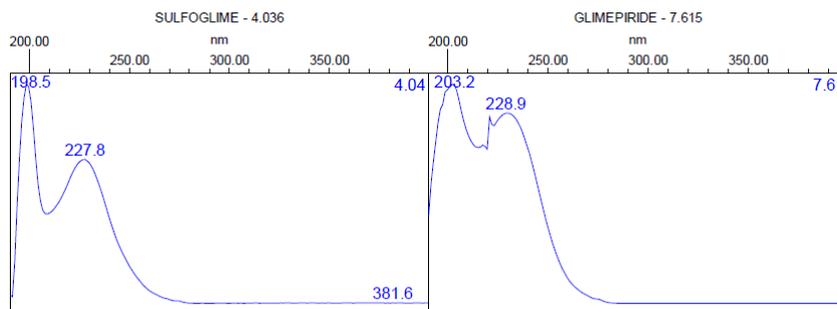
2.2.2.3.1. à T₀



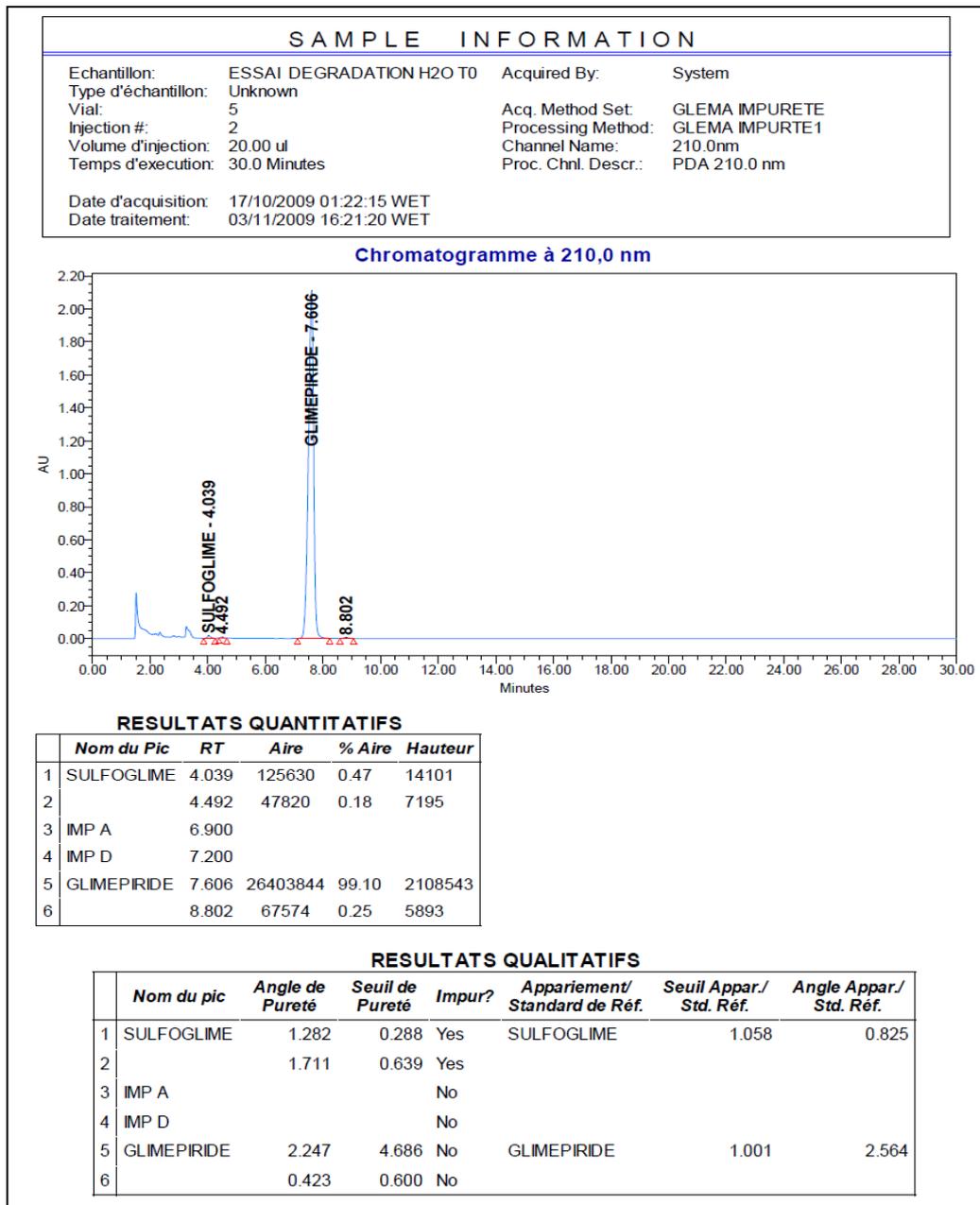
Chromatogramme 8. Résultats de l'analyse du placebo dégradé en milieu neutre T₀.



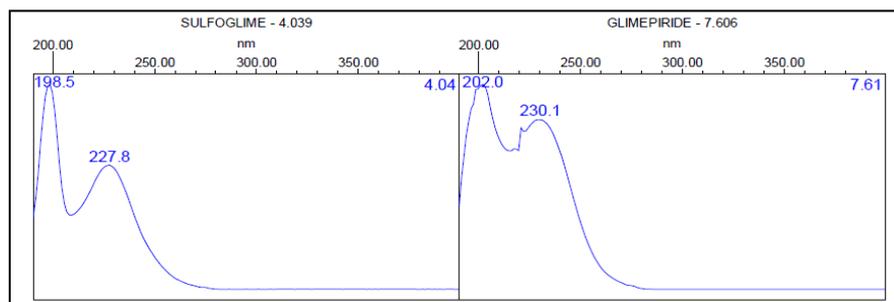
Chromatogramme 9. Résultats de l'analyse du témoin dégradé en milieu neutre à To.



Spectre 5 . Absorption UV des éléments de l'analyse du témoin dégradé par hydrolyse neutre à To.

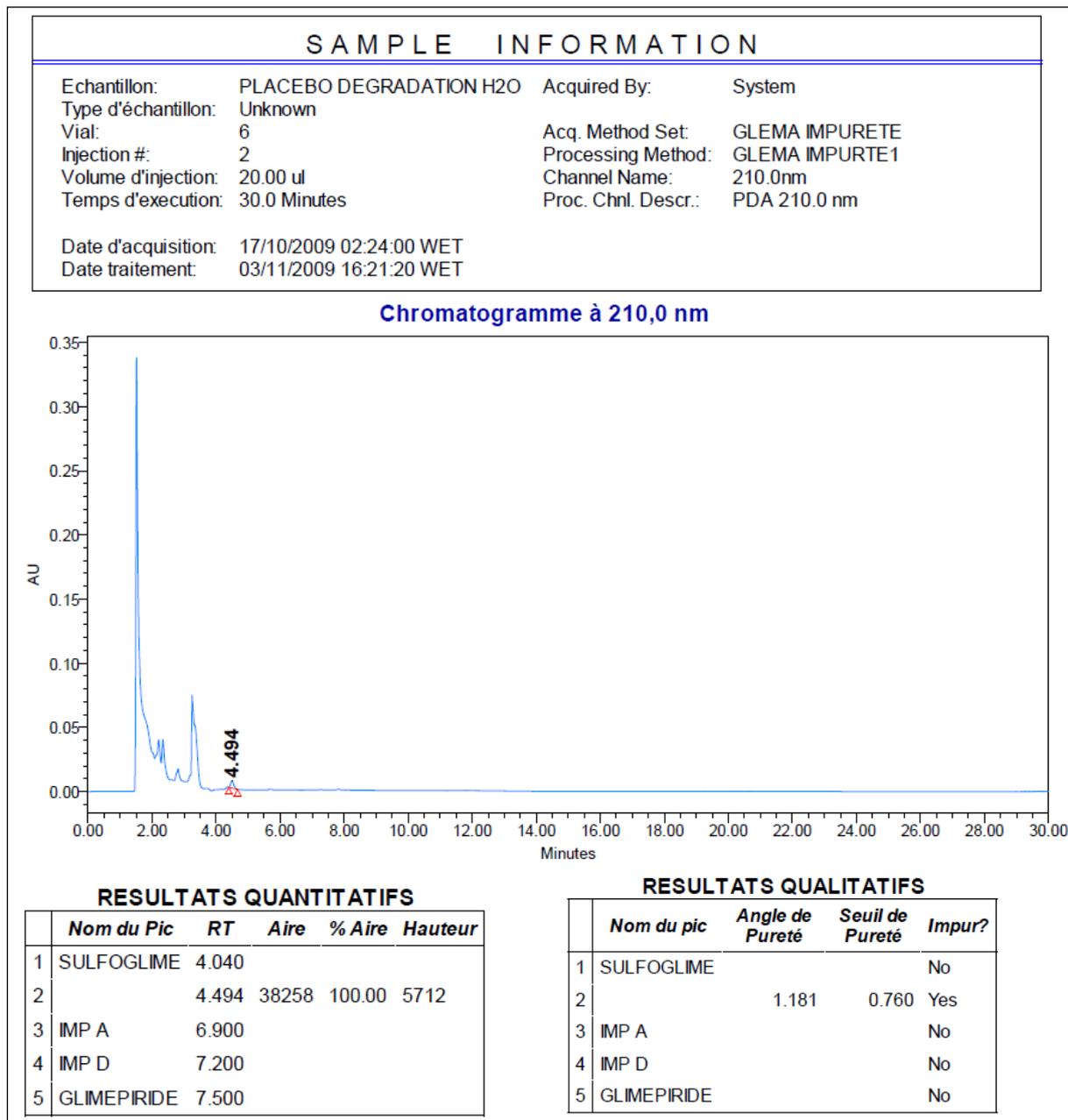


Chromatogramme 10. Résultats de l'analyse du PF dégradé en milieu neutre à To.

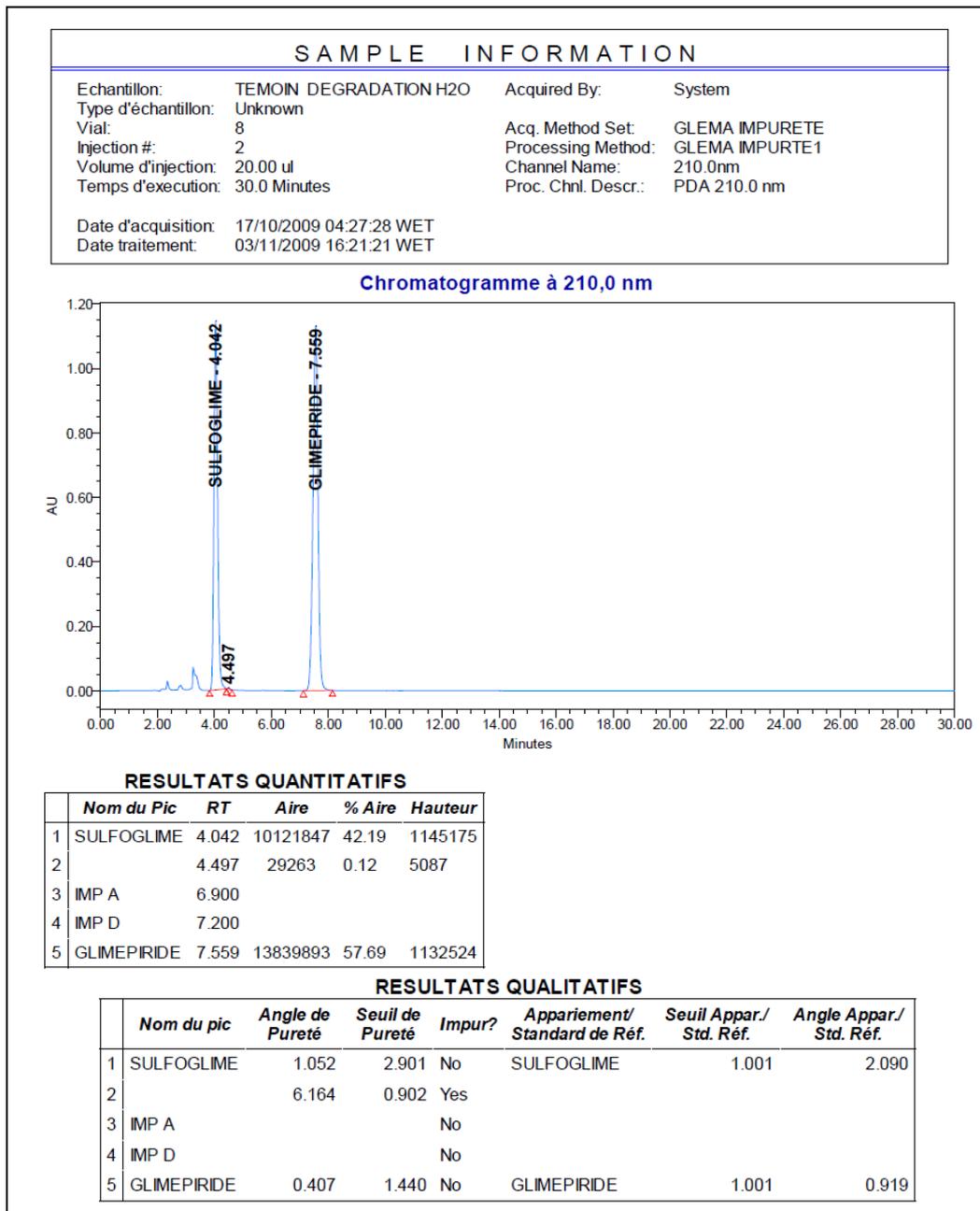


Spectre 6 . Absorption UV des éléments de l'analyse du PF dégradé par hydrolyse neutre à To.

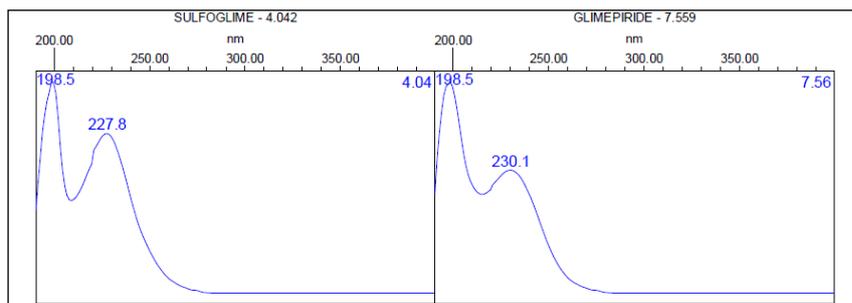
2.2.2.3.2. à T_{3h}



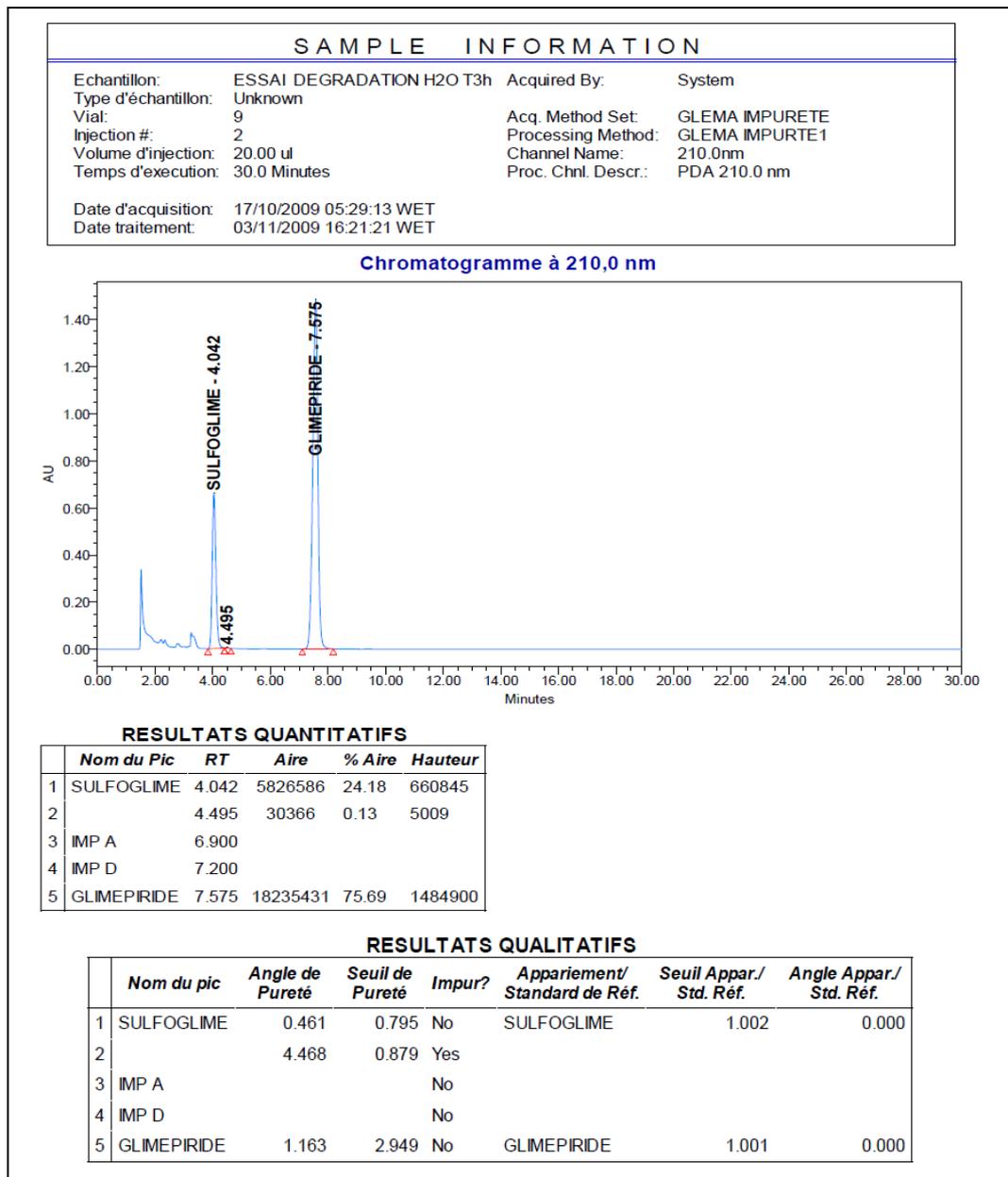
Chromatogramme 11. Résultats de l'analyse du placebo dégradé sous reflux en milieu neutre à T_{3h}.



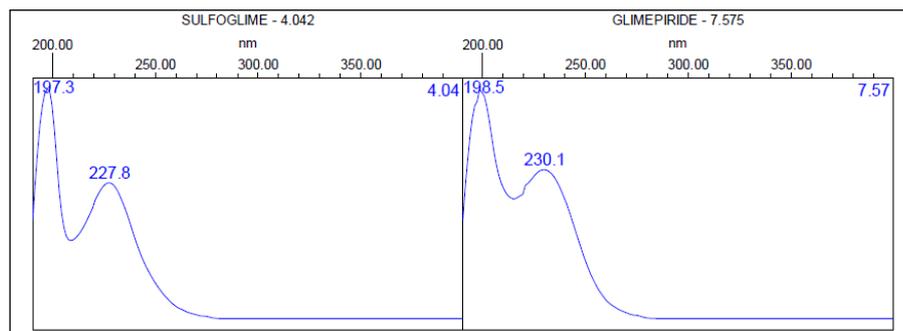
Chromatogramme 12. Résultats de l'analyse du Témoin dégradé sous reflux en milieu neutre à T_{3h}.



Spectre 7. Absorption UV des éléments de l'analyse du Témoin dégradé sous reflux en milieu neutre à T_{3h}.

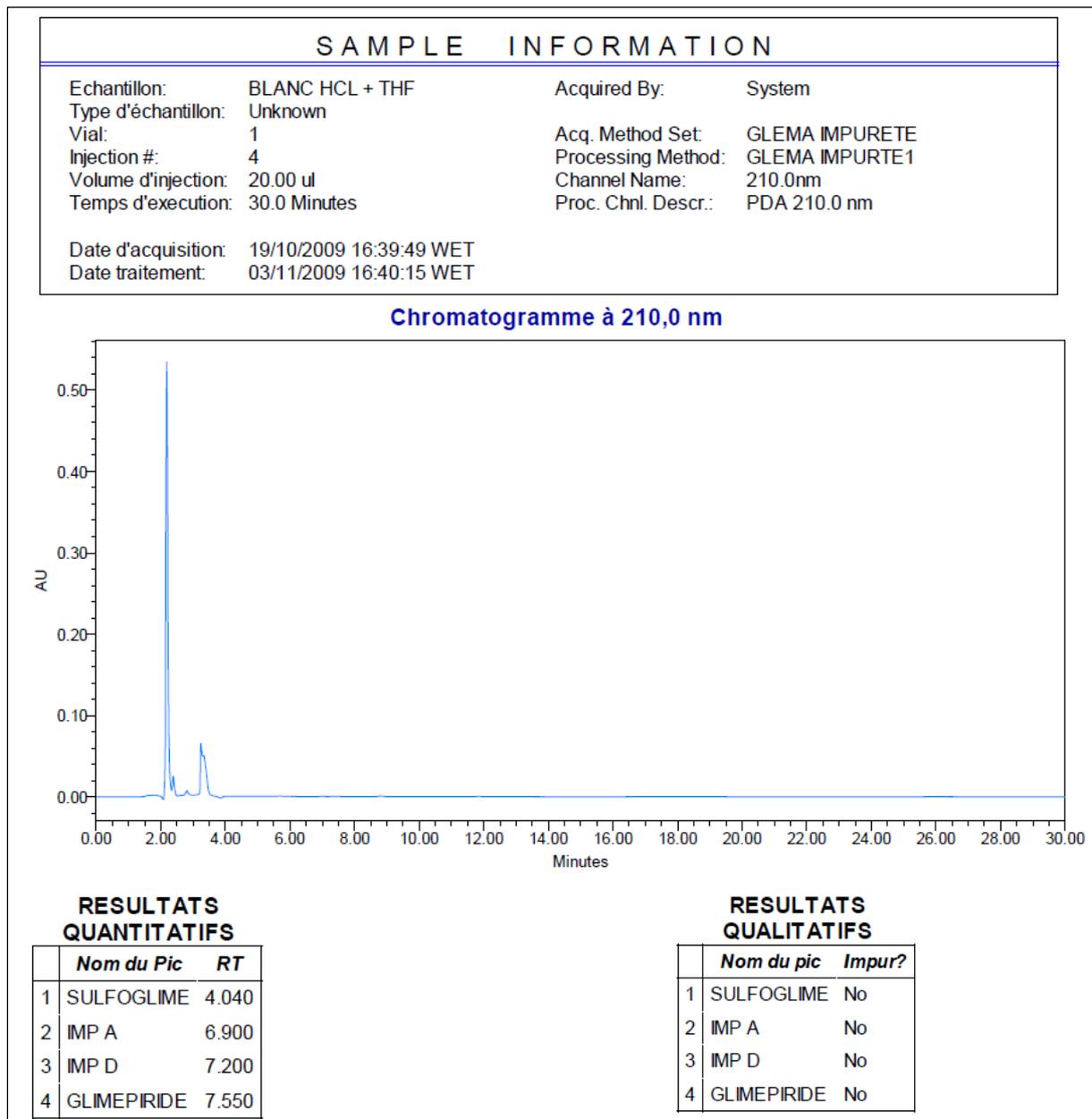


Chromatogramme 13. Résultats de l'analyse du PF dégradé sous reflux en milieu neutre à T3h.



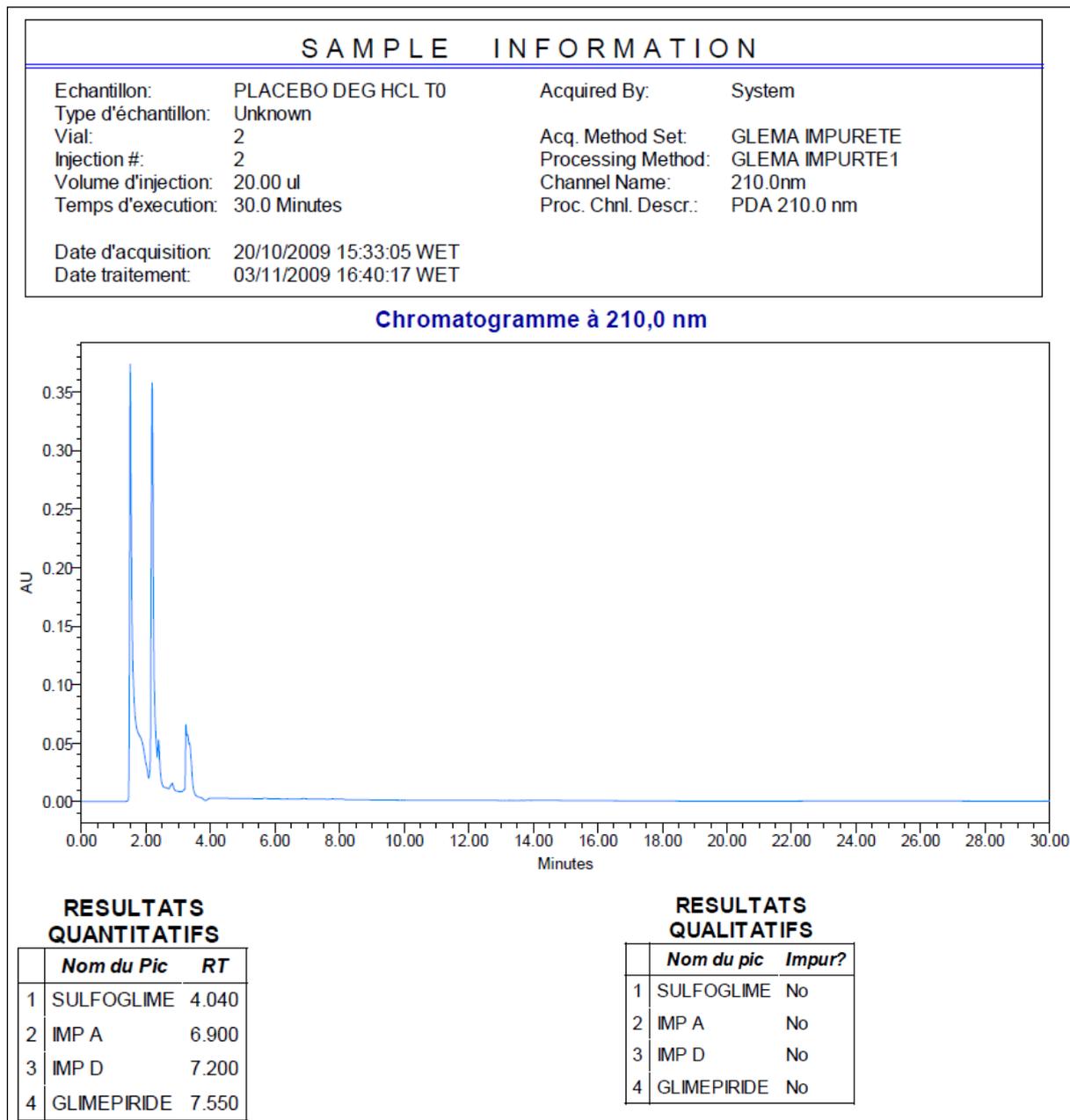
Spectre 8. Absorption UV des éléments de l'analyse du Témoin dégradé sous reflux en milieu neutre à T=3h.

2.2.2.4. Hydrolyse Acide:

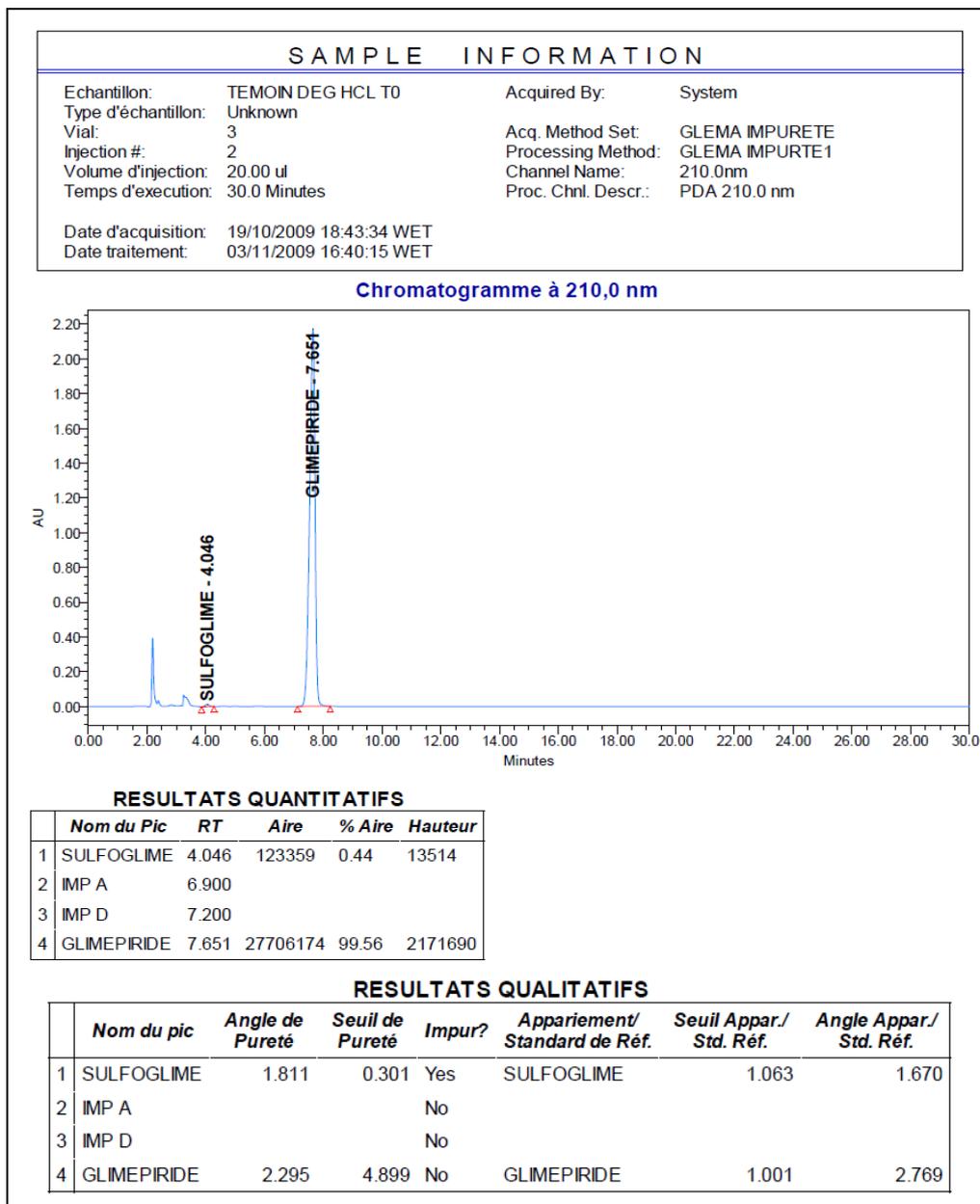


Chromatogramme 14. Résultat de l'analyse du blanc (Eau+THF) de l'hydrolyse acide.

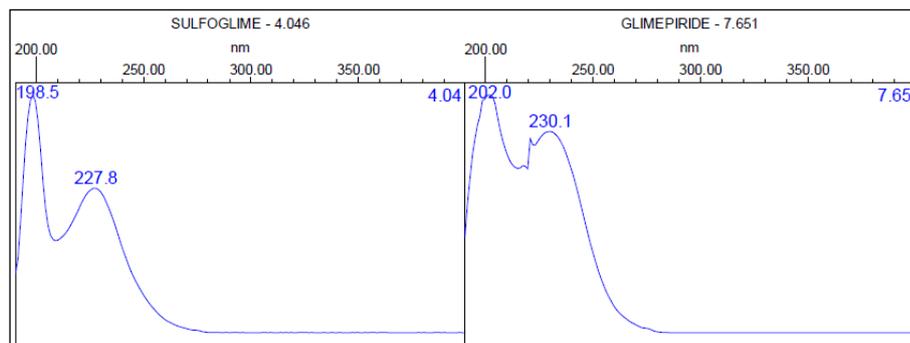
2.2.2.4.1. à T₀



Chromatogramme 15. Résultats de l'analyse du placebo dégradé en milieu acide To.

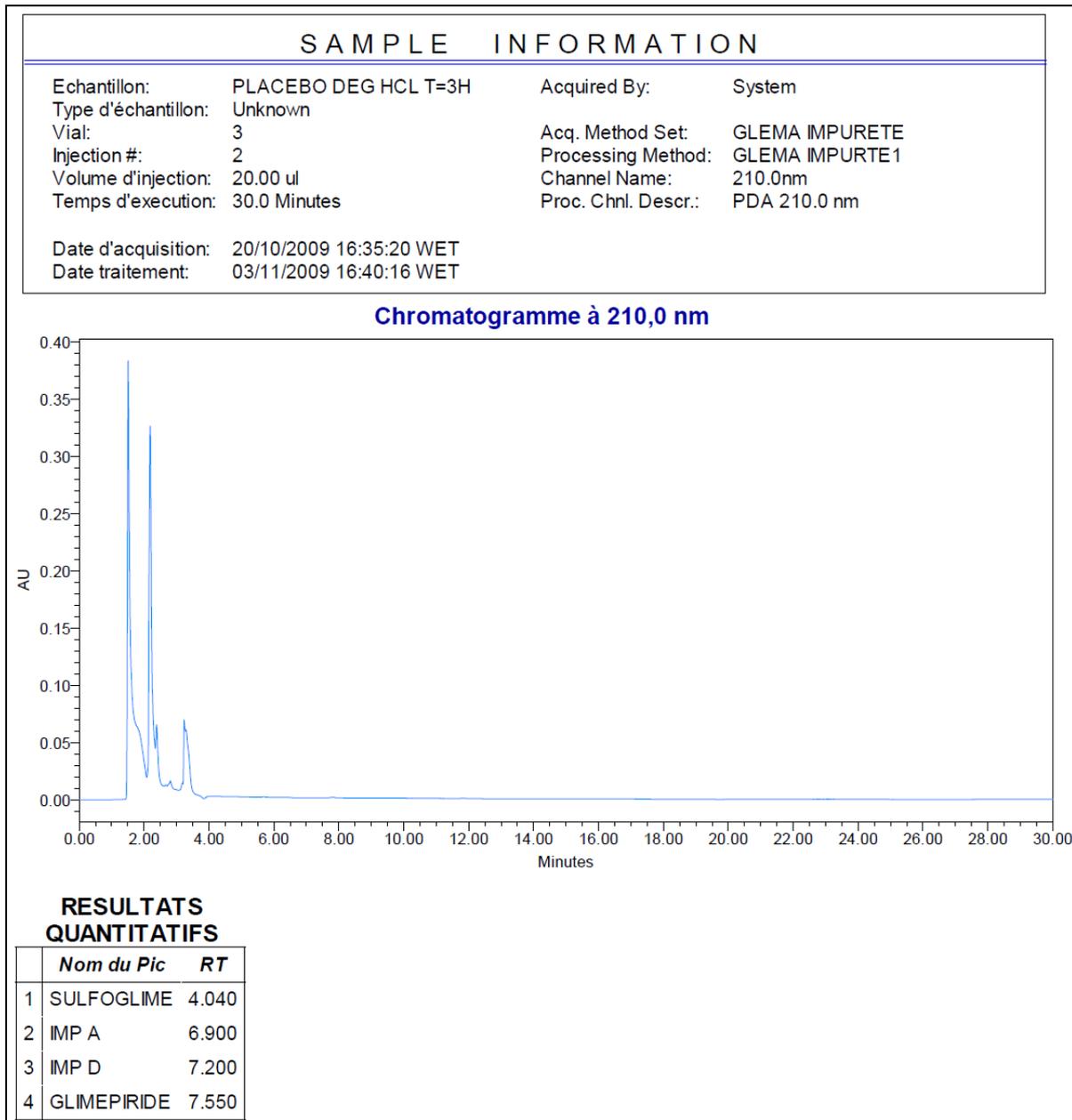


Chromatogramme 16. Résultats de l'analyse du Témoin dégradé en milieu acide à To.

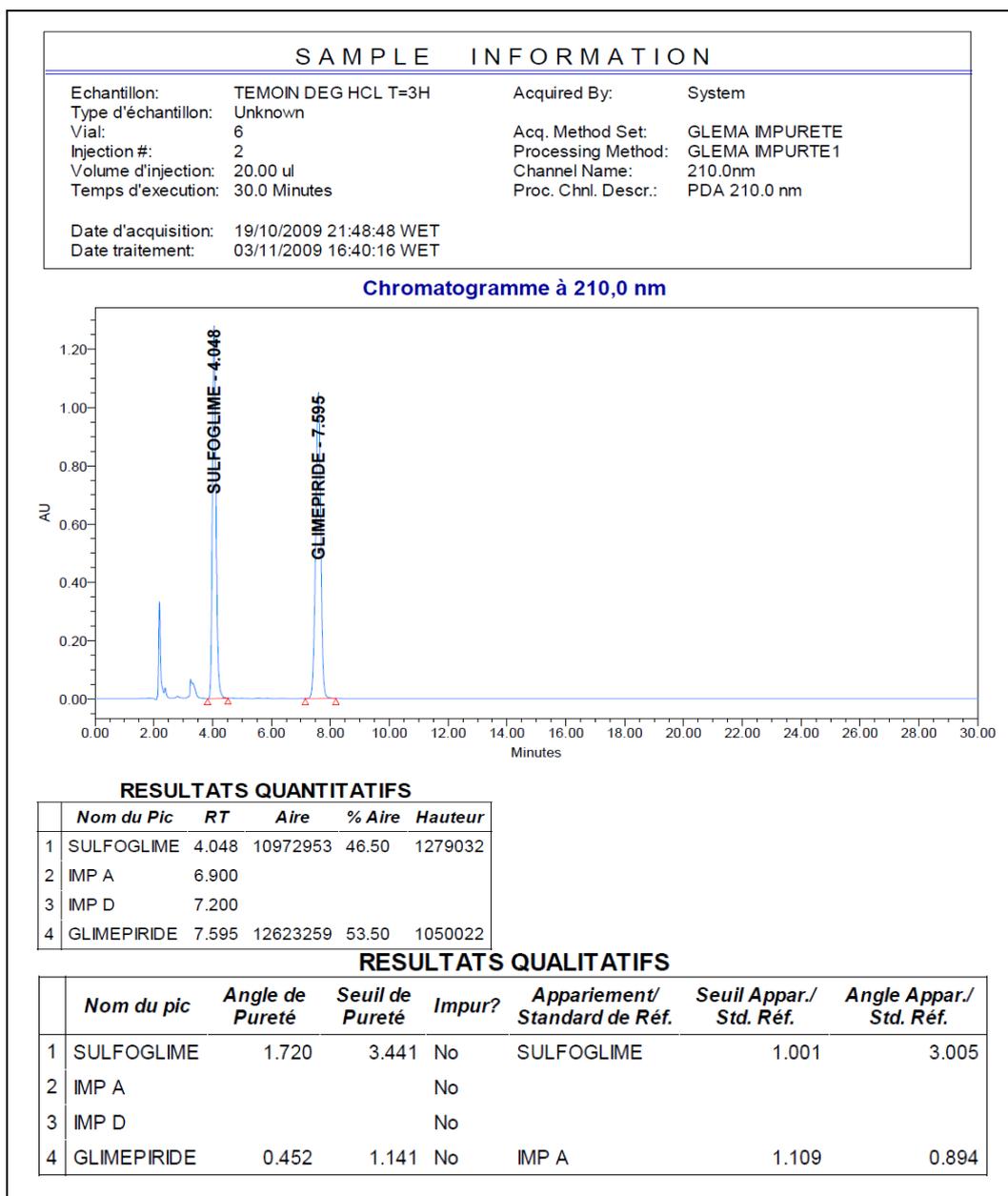


Spectre 9. Absorption UV (210nm) des éléments de l'analyse du Témoin dégradé en milieu acide à To.

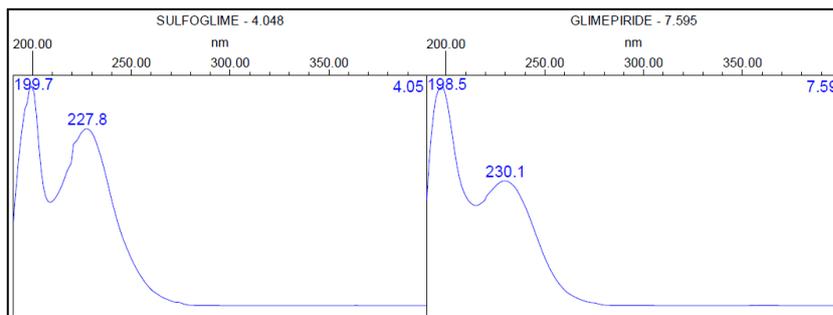
2.2.2.4.2. à T_{3h}



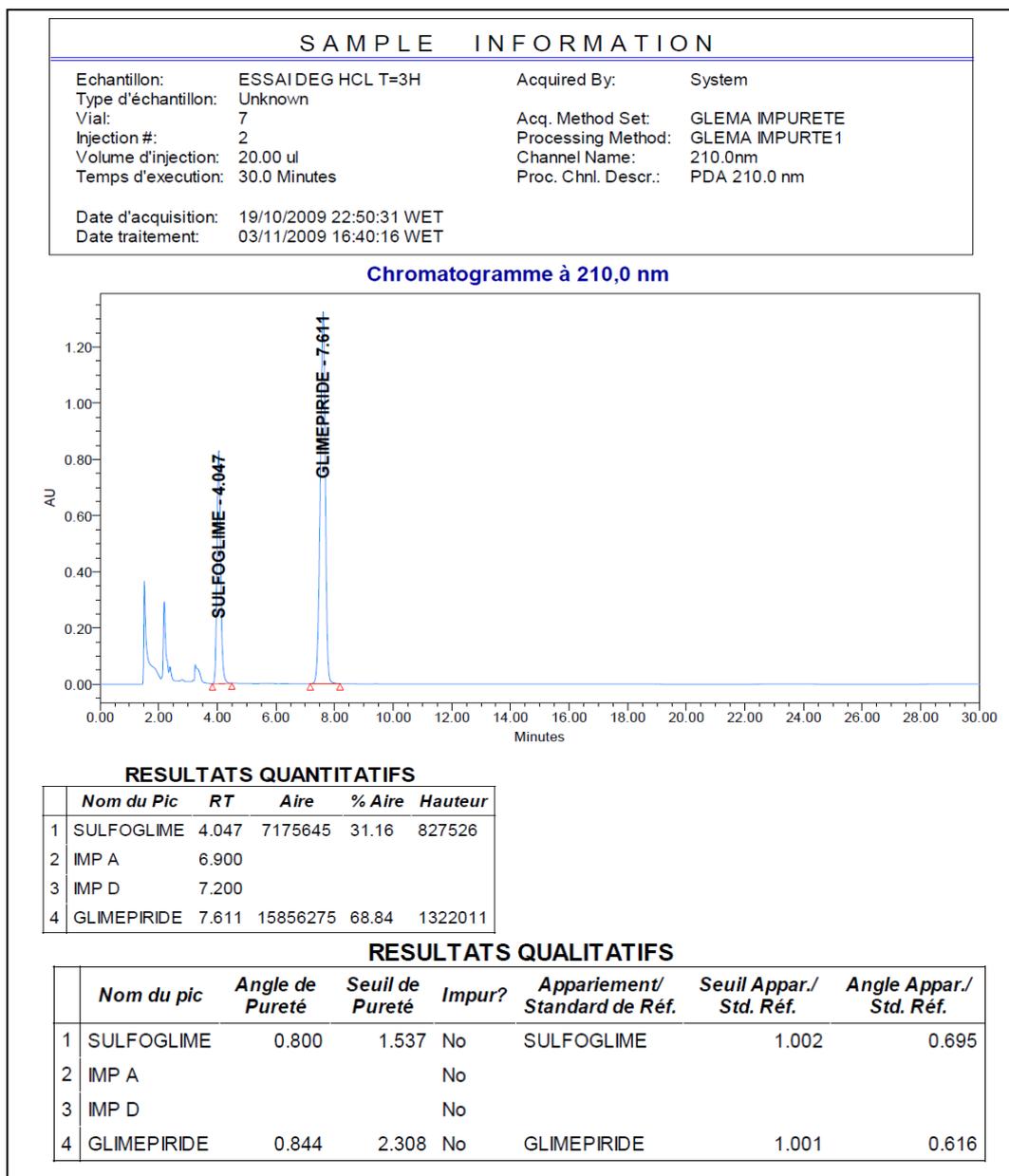
Chromatogramme 18. Résultat de l'analyse du placebo dégradé sous reflux en milieu acide à T=3h.



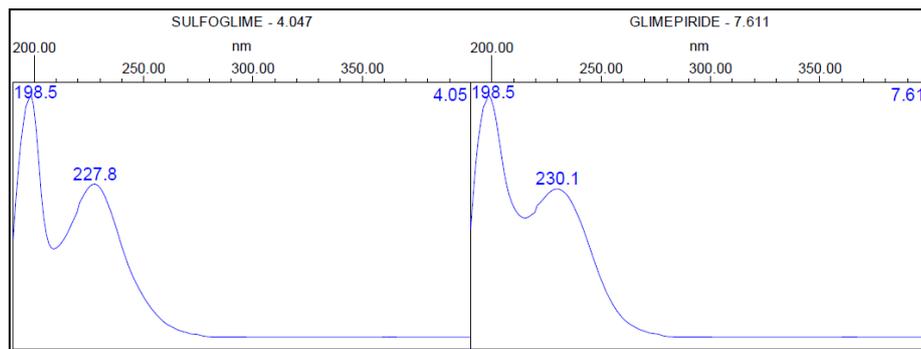
Chromatogramme 19. Résultat de l'analyse du Témoin dégradé sous reflux en milieu acide à T=3h.



Spectre 11. Absorption UV des éléments de l'analyse du Témoin dégradé sous reflux en milieu acide à T=3h.

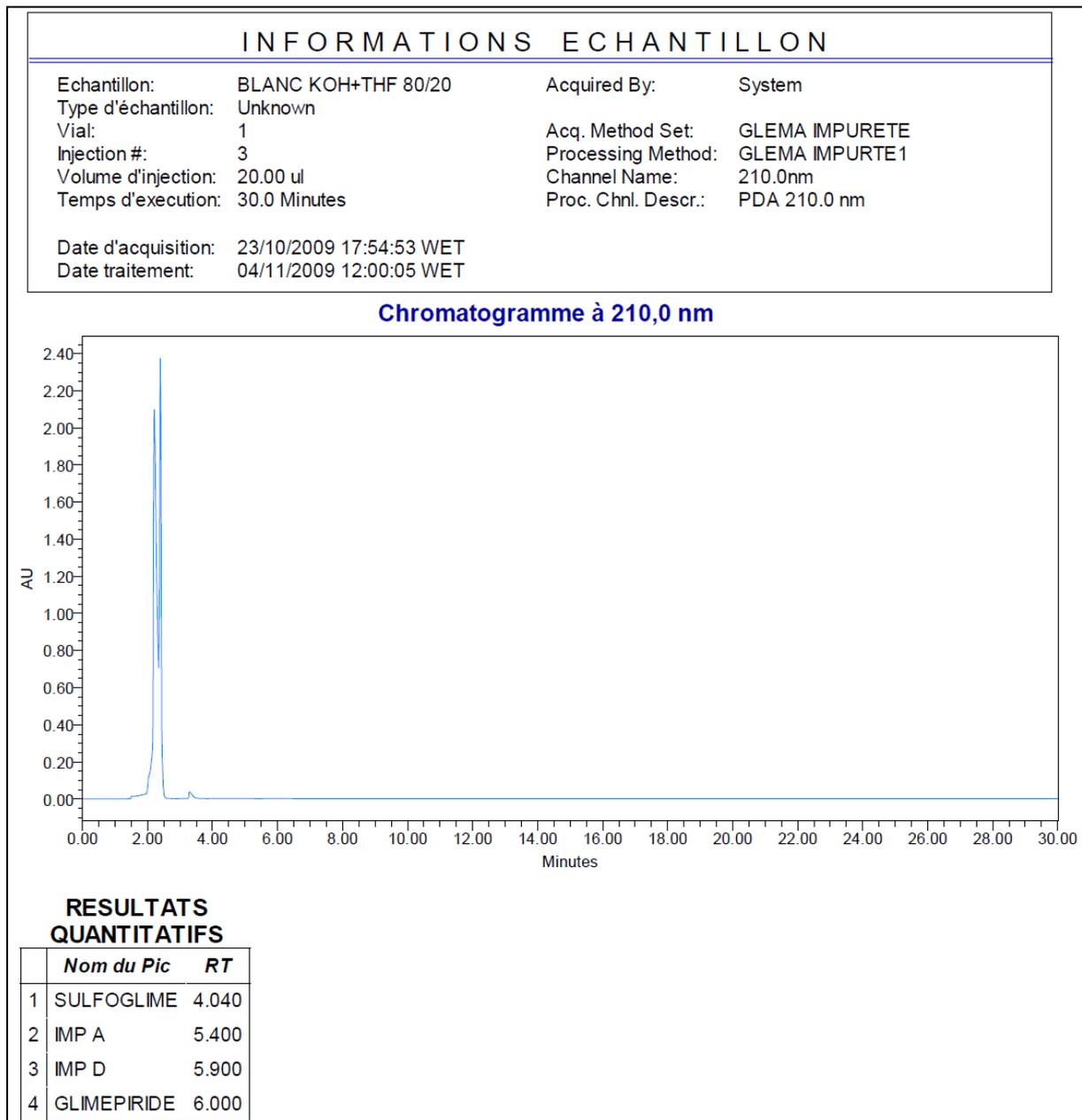


Chromatogramme 20. Résultats de l'analyse du PF dégradé sous reflux en milieu acide à T=3h.



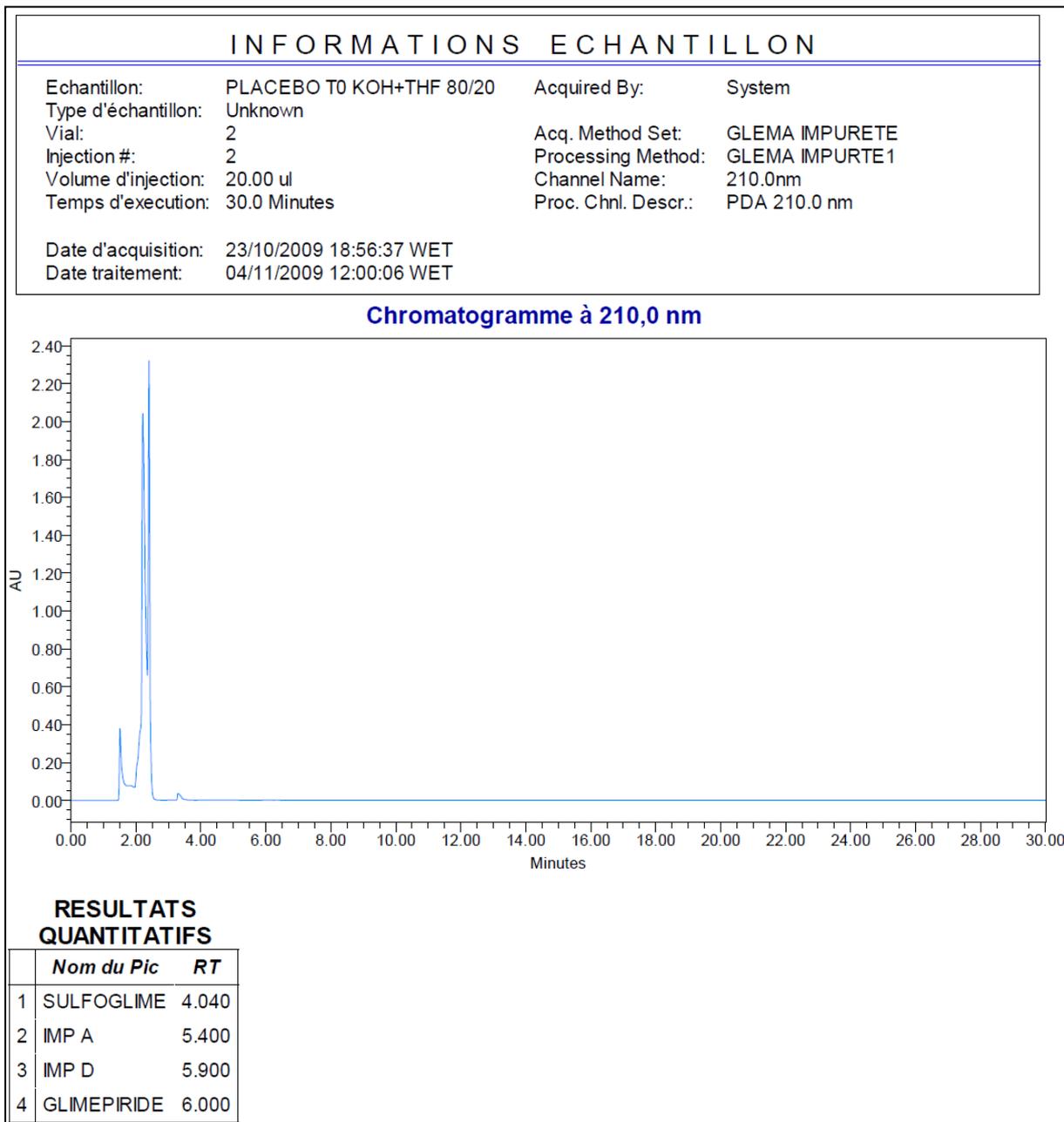
Spectre 12. Absorption UV des éléments de l'analyse du PF dégradé sous reflux en milieu acide à T=3h.

2.2.2.5. Hydrolyse basique:

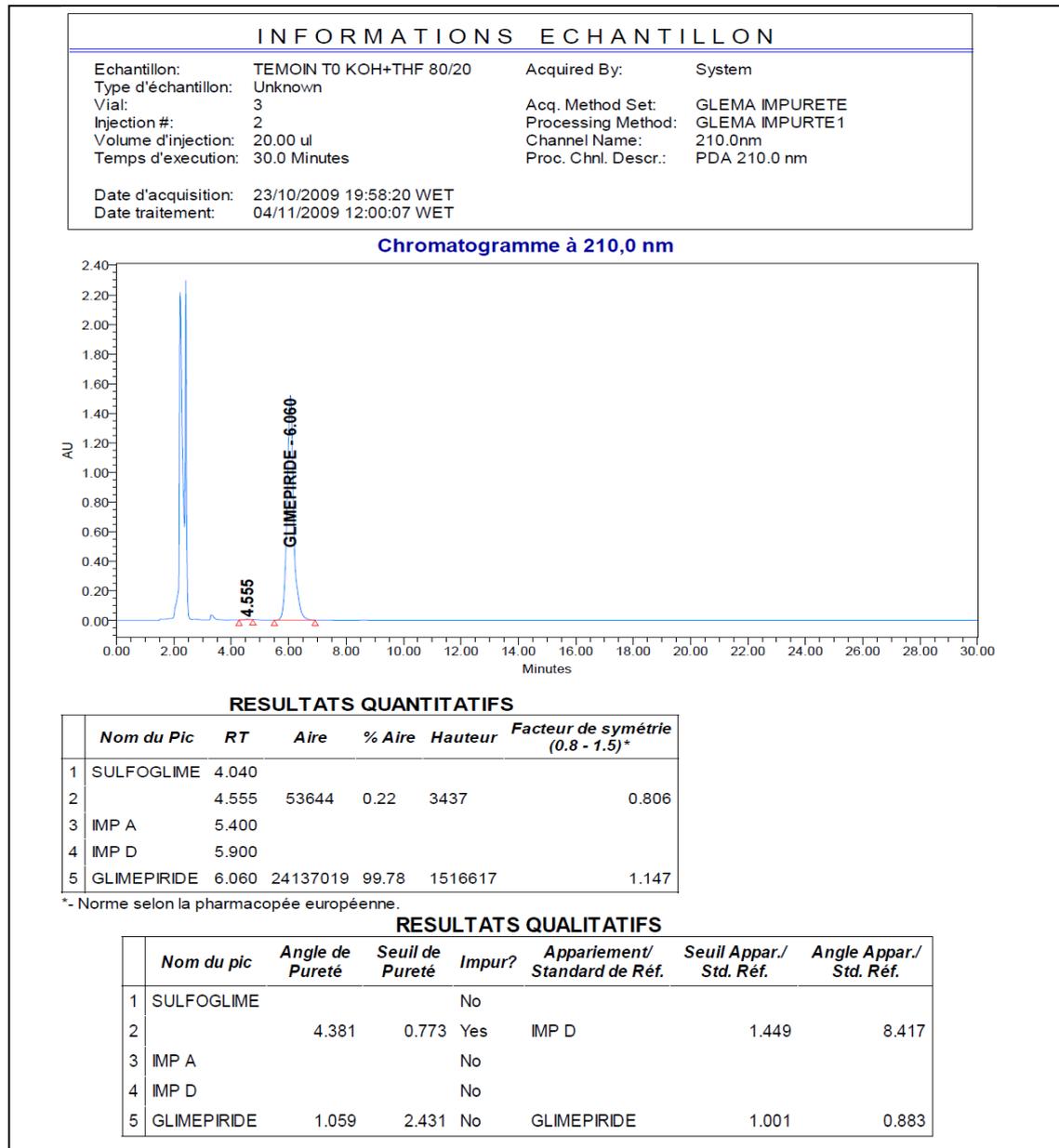


Chromatogramme 21. Résultat de l'analyse du mélange du solvant basique (KOH/THF 80:20).

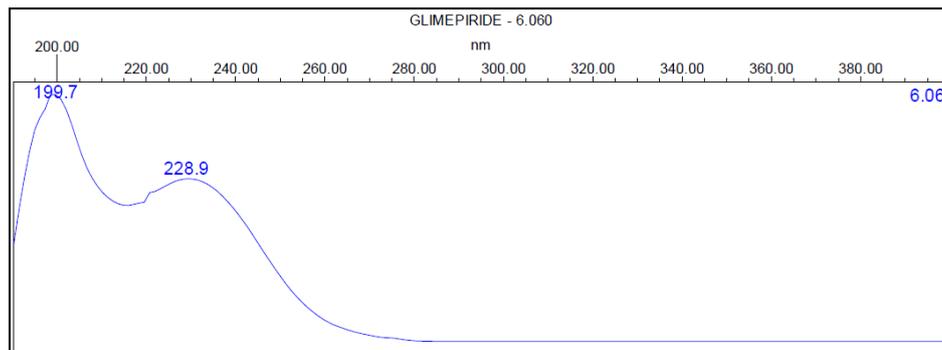
2.2.2.5.1. à T₀



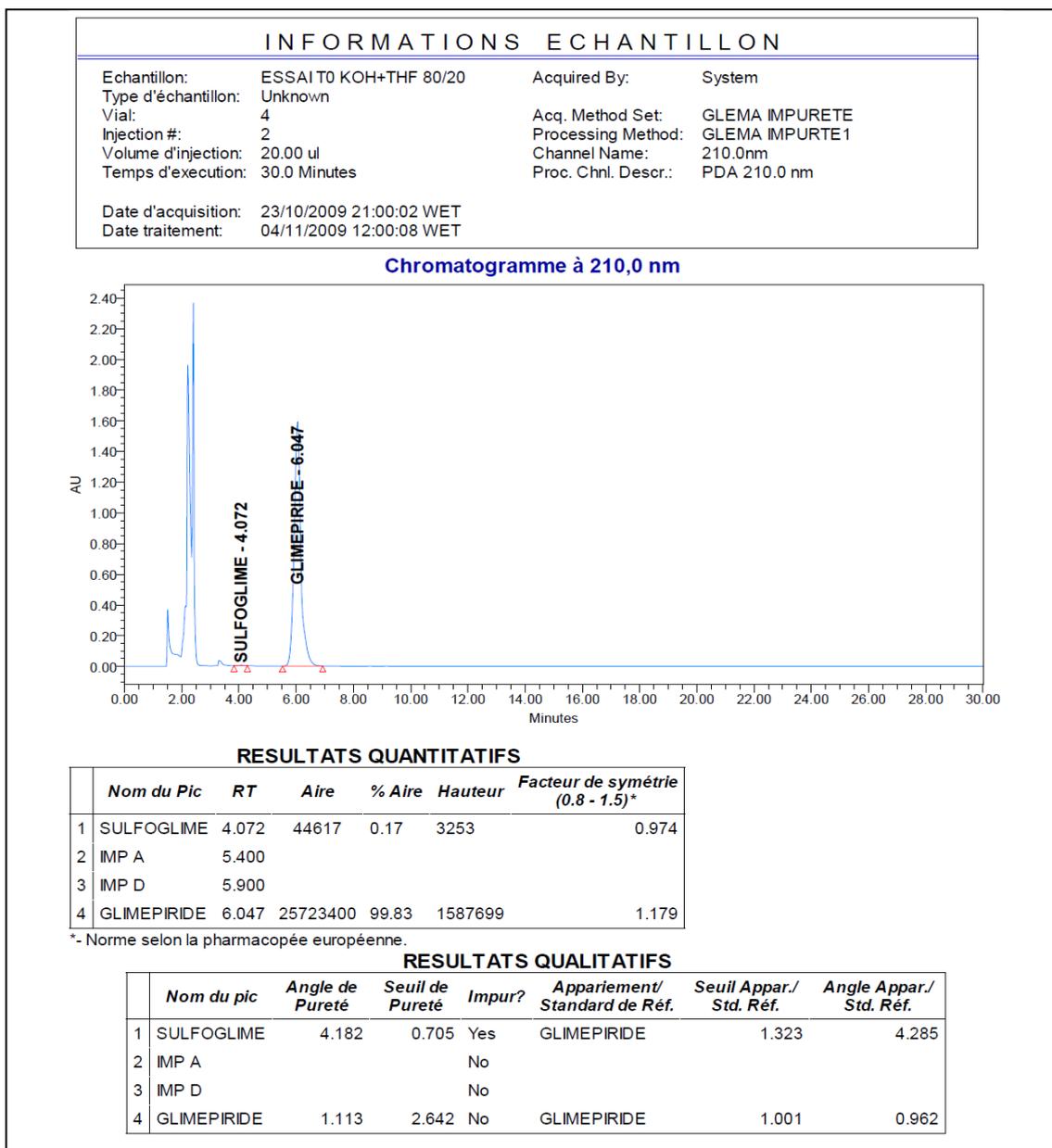
Chromatogramme 22. Résultat de l'analyse du placebo dégradé en milieu basique à T₀.



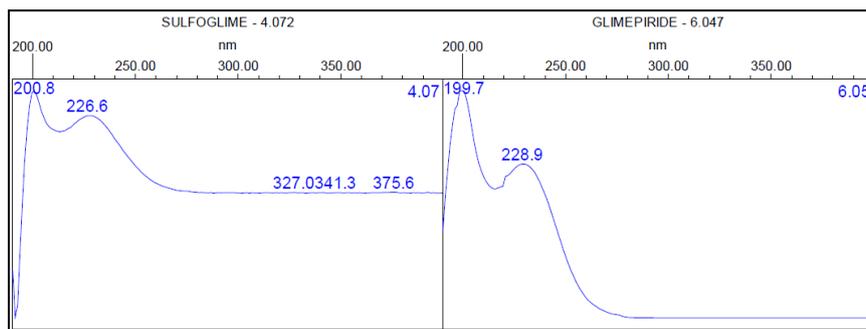
Chromatogramme 23. Résultats de l'analyse du Témoin (MP) dégradé en milieu basique à To.



Spectre 13. Absorption UV des éléments de l'analyse du Témoin (MP) en milieu basique à To.

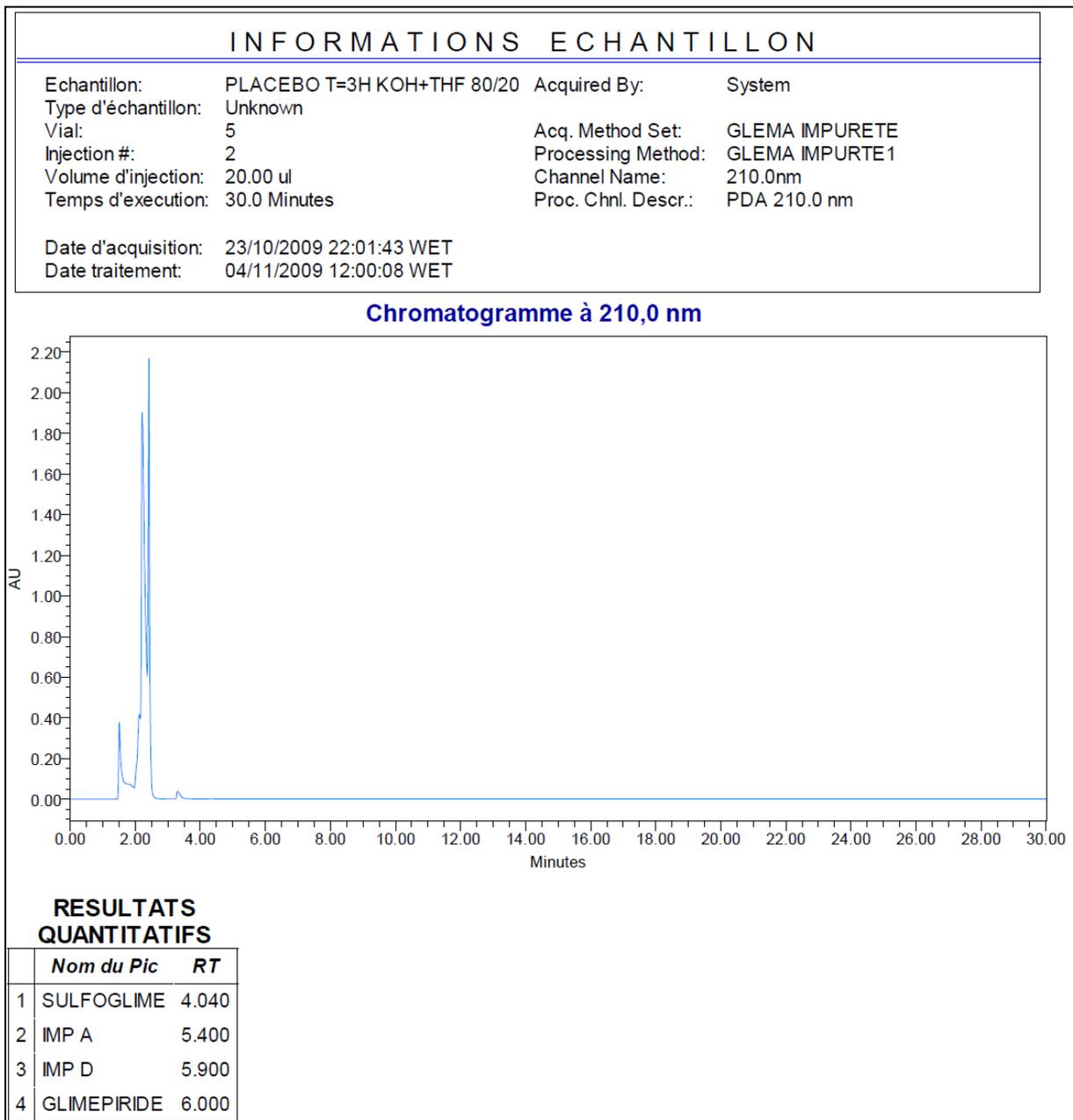


Chromatogramme 24. Résultats de l'analyse du PF dégradé en milieu basique à To.

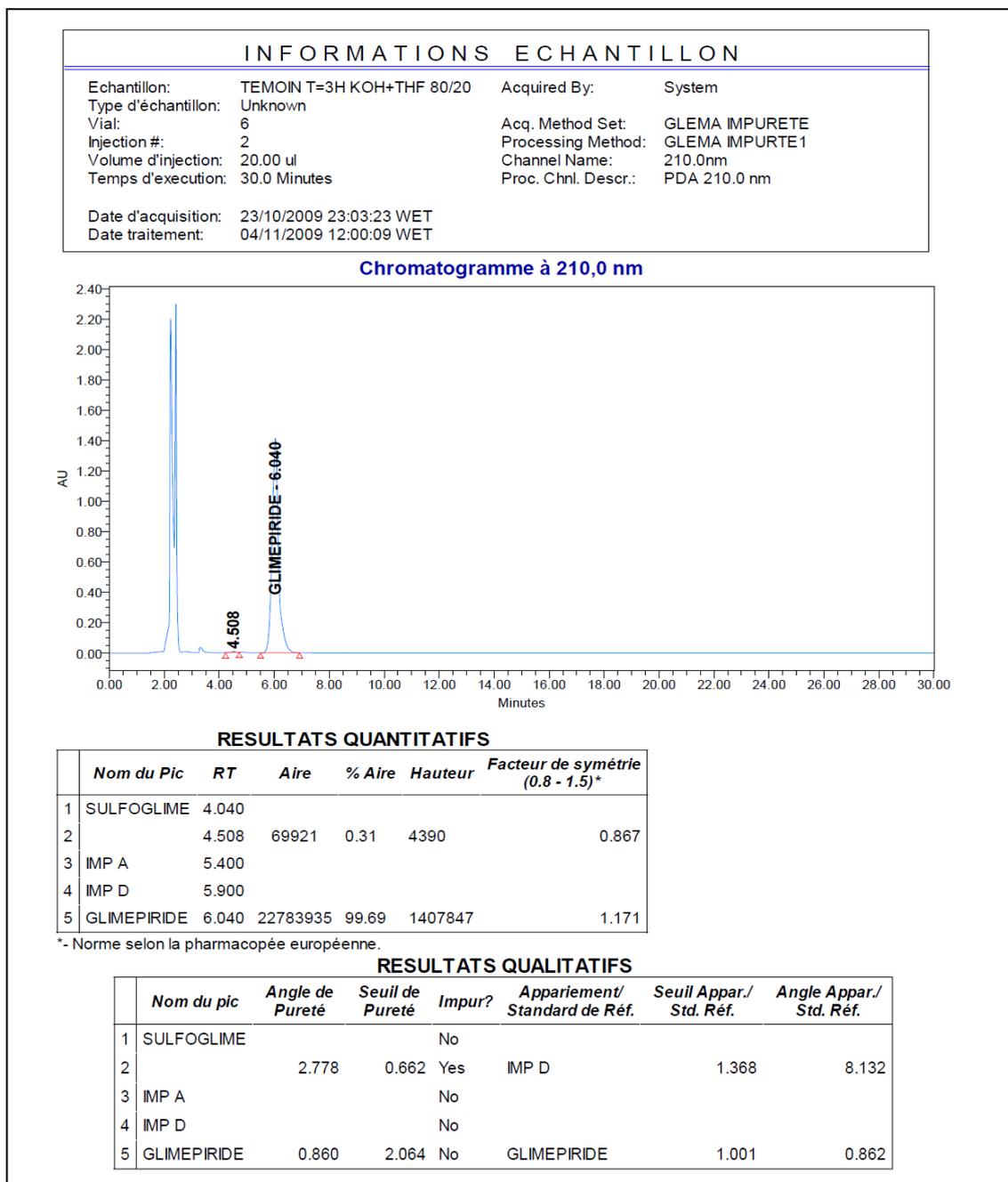


Spectre 14. Absorption UV des éléments de l'analyse du PF dégradé en milieu basique à To.

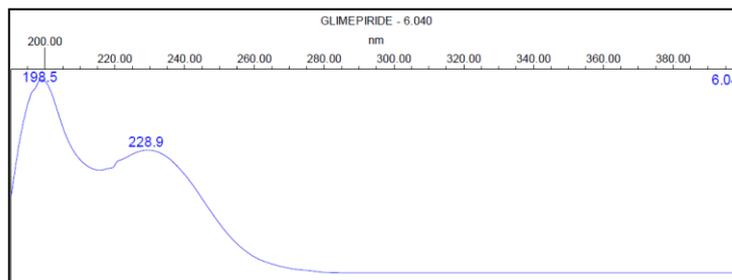
2.2.2.5.2. à T_{3h}



Chromatogramme 25. Résultat de l'analyse du placebo dégradé en milieu basique à T=3h.



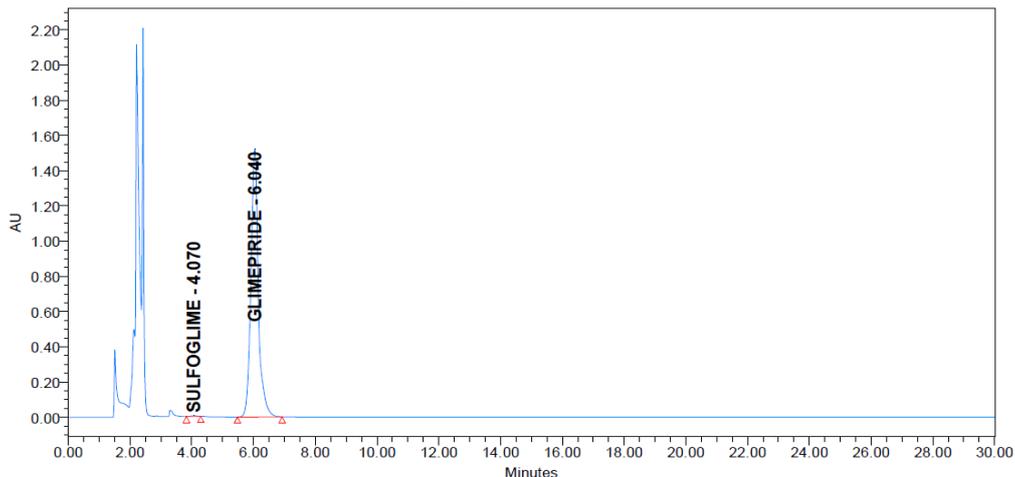
Chromatogramme 26. Résultats de l'analyse du Témoin (MP) dégradé en milieu basique à T=3h.



Spectre 15. Absorption UV de l'analyse du Témoin (MP) dégradé en milieu basique à T=3h.

INFORMATIONS ECHANTILLON			
Echantillon:	ESSAIT=3H KOH+THF 80/20	Acquired By:	System
Type d'échantillon:	Unknown	Acq. Method Set:	GLEMA IMPURETE
Vial:	7	Processing Method:	GLEMA IMPURTE 1
Injection #:	2	Channel Name:	210.0nm
Volume d'injection:	20.00 ul	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 210.0 nm
Temps d'exécution:	30.0 Minutes		
Date d'acquisition:	24/10/2009 00:05:08 WET		
Date traitement:	04/11/2009 12:00:09 WET		

Chromatogramme à 210,0 nm



RESULTATS QUANTITATIFS

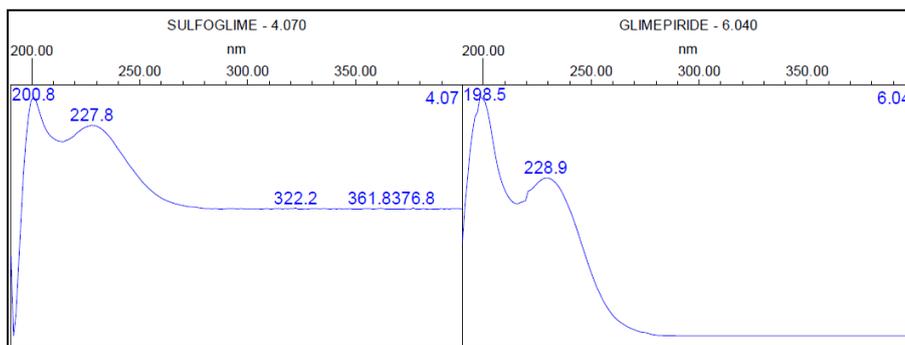
	Nom du Pic	RT	Aire	% Aire	Hauteur	Facteur de symétrie (0.8 - 1.5)*
1	SULFOGLIME	4.070	55164	0.22	3941	0.953
2	IMP A	5.400				
3	IMP D	5.900				
4	GLIMEPIRIDE	6.040	25237193	99.78	1524859	1.149

*- Norme selon la pharmacopée européenne.

RESULTATS QUALITATIFS

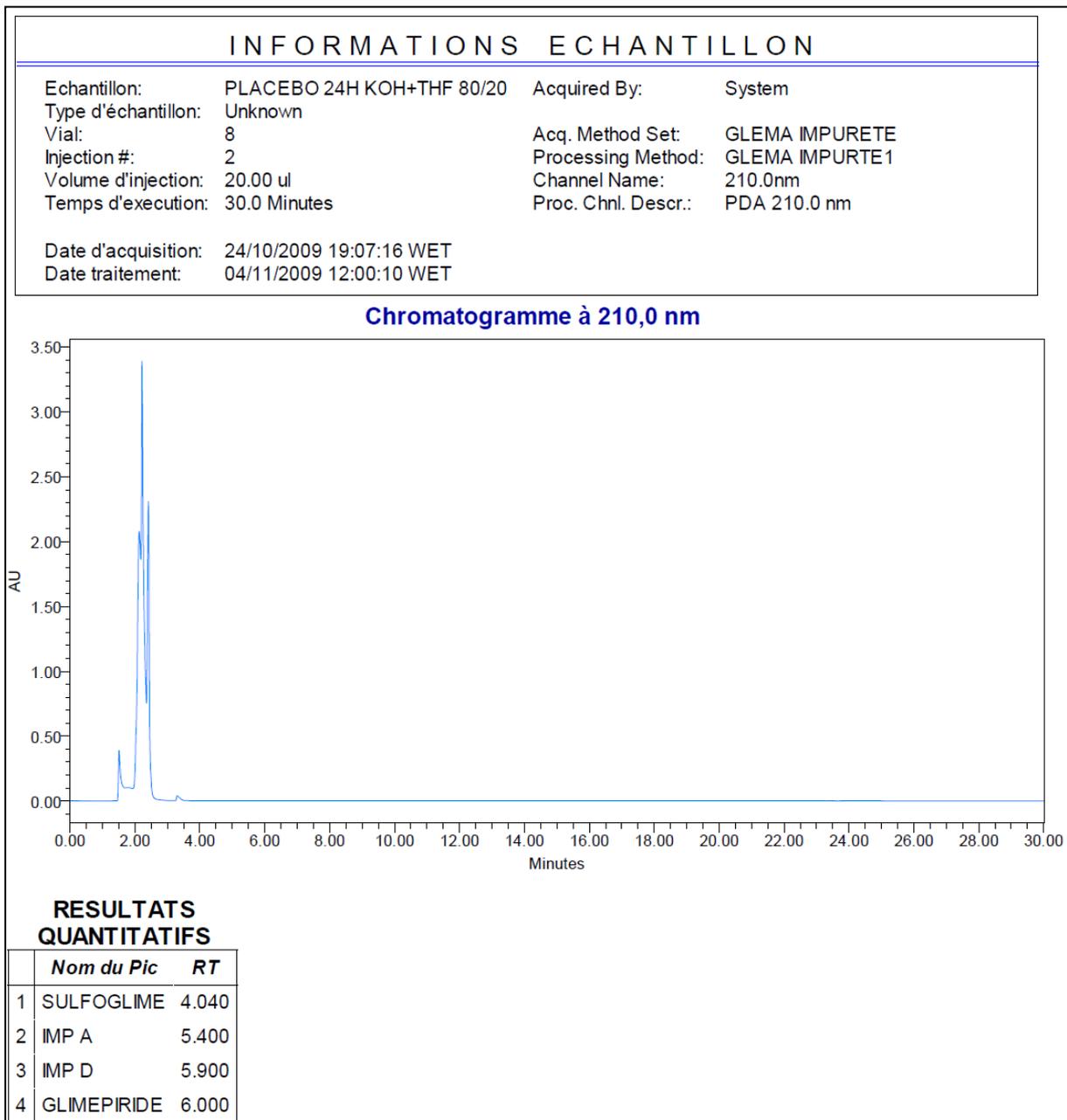
	Nom du pic	Angle de Pureté	Seuil de Pureté	Impur?	Appariement/ Standard de Réf.	Seuil Appar./ Std. Réf.	Angle Appar./ Std. Réf.
1	SULFOGLIME	3.798	0.616	Yes	GLIMEPIRIDE	1.274	3.872
2	IMP A			No			
3	IMP D			No			
4	GLIMEPIRIDE	1.089	2.457	No	GLIMEPIRIDE	1.001	0.898

Chromatogramme 27. Résultats de l'analyse du PF dégradé en milieu basique à T=3h.

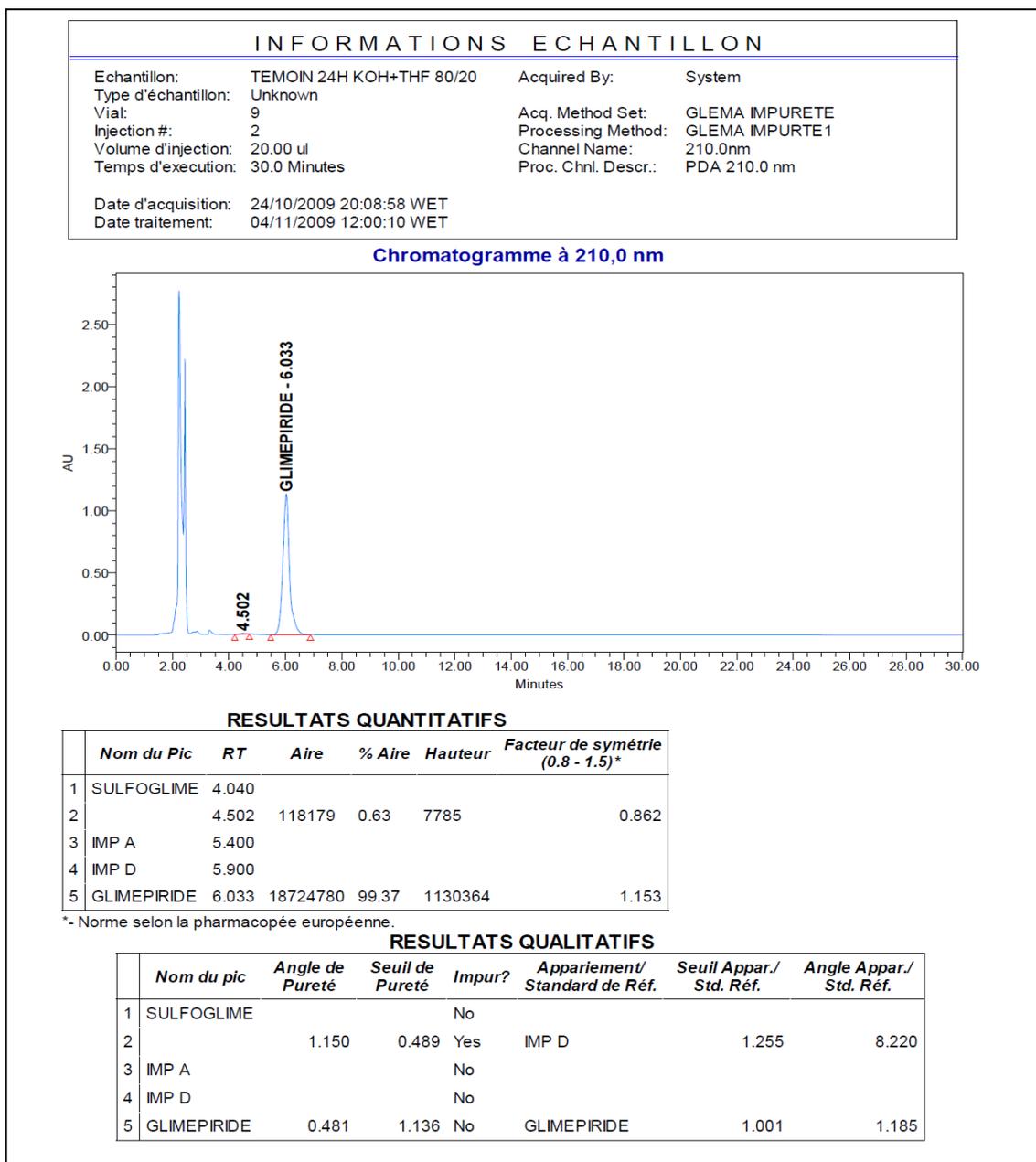


Spectre 16. Absorption UV des éléments de l'analyse du PF dégradé en milieu basique à T=3h.

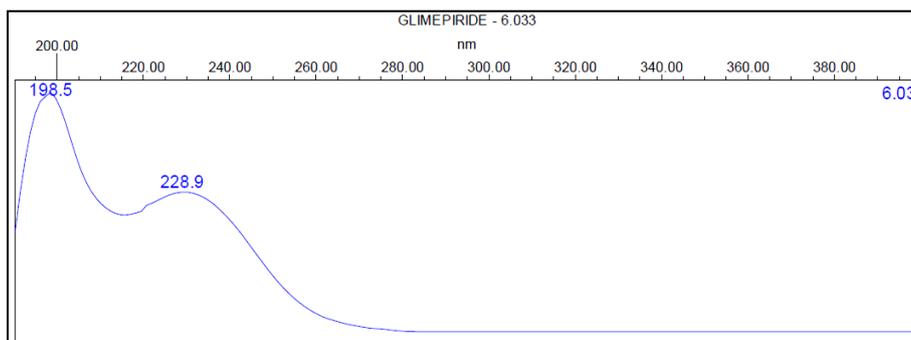
2.2.2.5.3. à T_{24h}



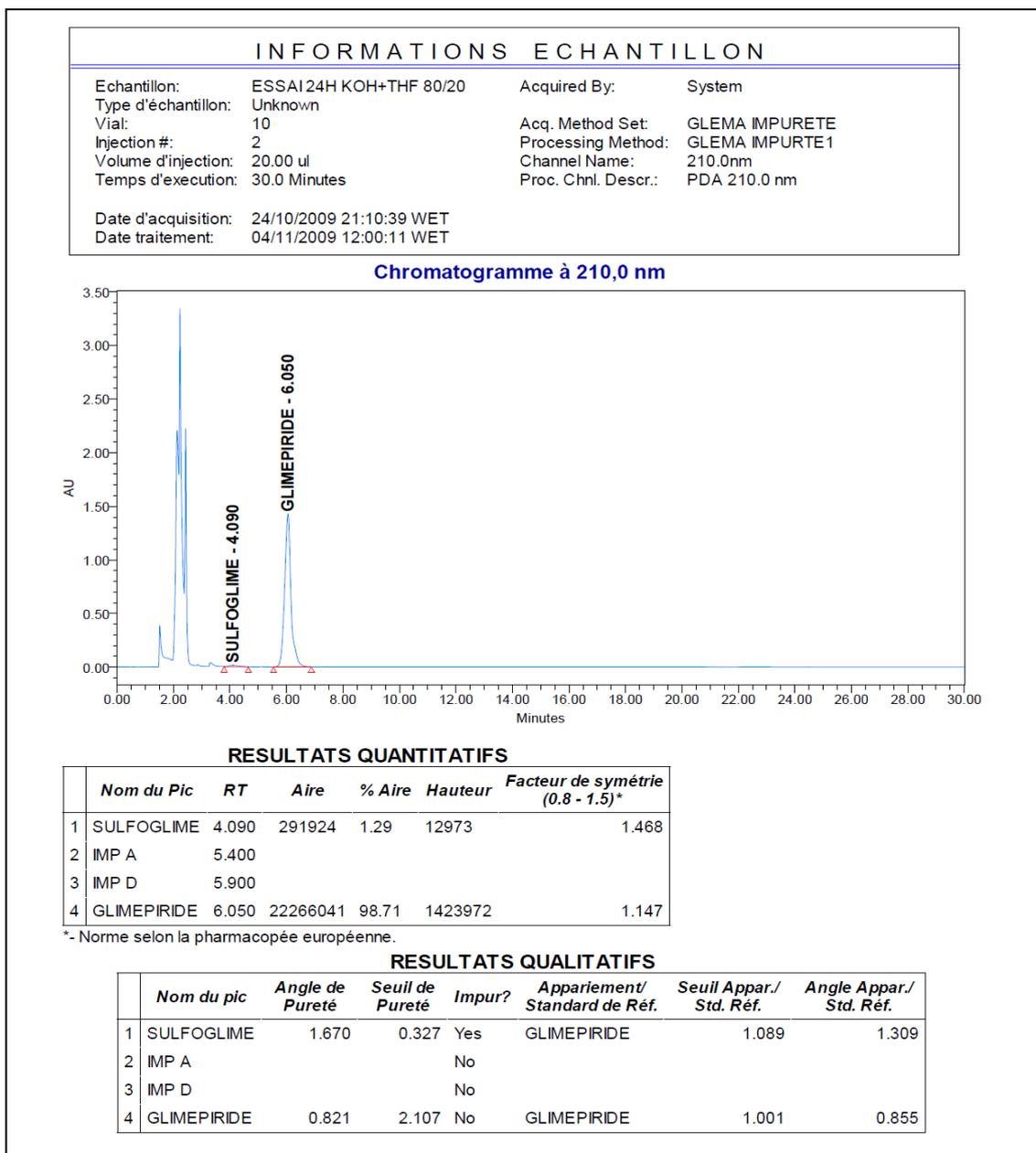
Chromatogramme 28. Résultats de l'analyse du placebo dégradé en milieu basique à T=24h.



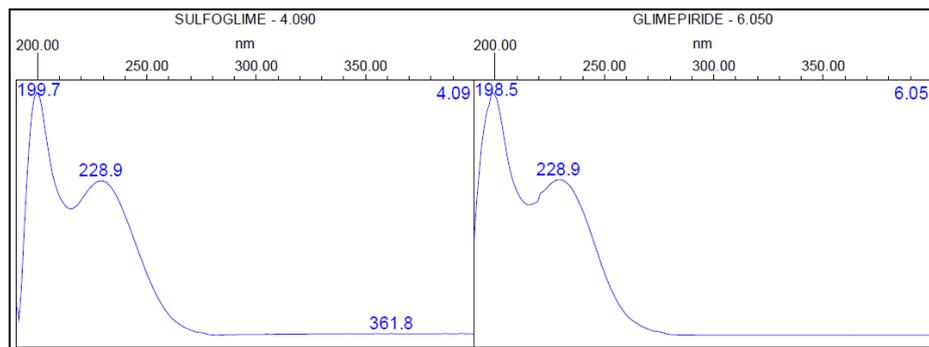
Chromatogramme 29. Résultats de l'analyse du Témoin (MP) dégradé en milieu basique à T=24h.



Spectre 17. Absorption UV des éléments de l'analyse du Témoin (MP) dégradé au milieu basique à T=24h.



Chromatogramme 30. Résultats de l'analyse du PF dégradé en milieu basique à T=24h.



Spectre 18. Absorption UV des éléments de l'analyse du PF dégradé en milieu basique à T=24h.

2.2.2.5.3.1. Evolution des aires des pics de glimépiride

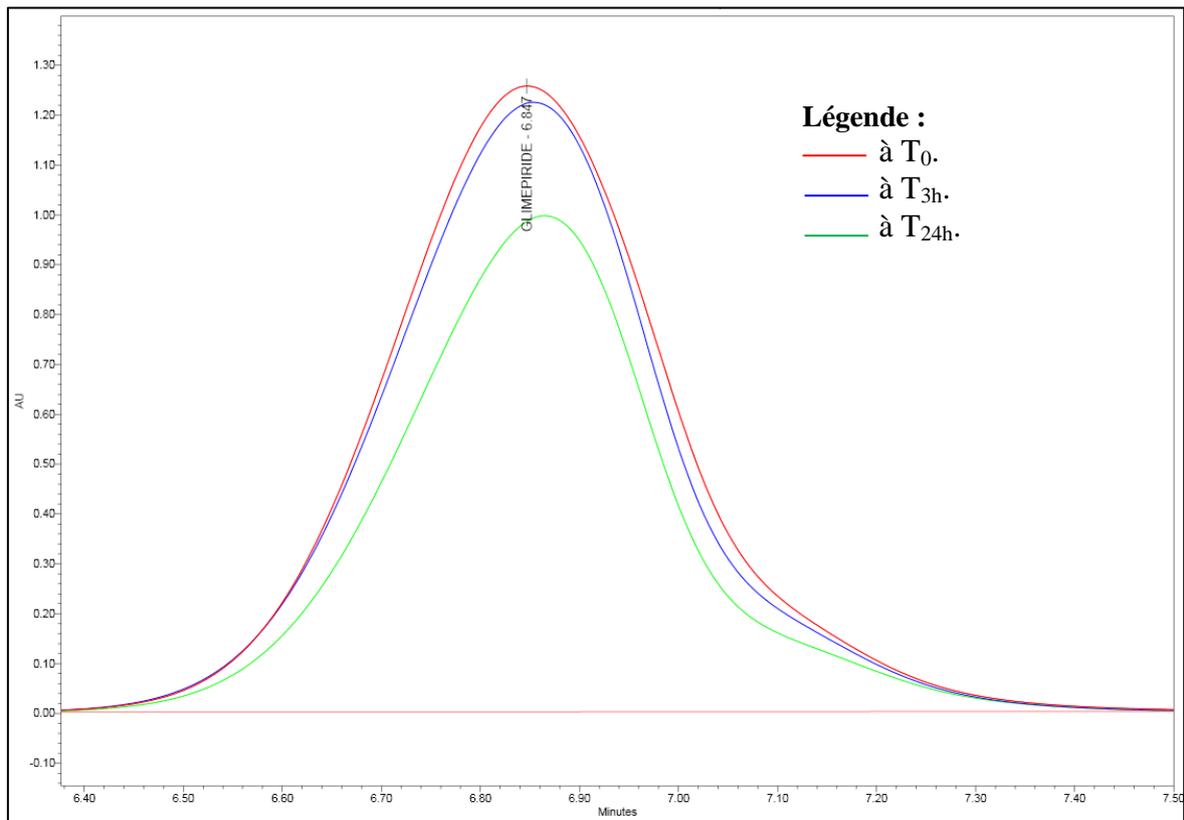
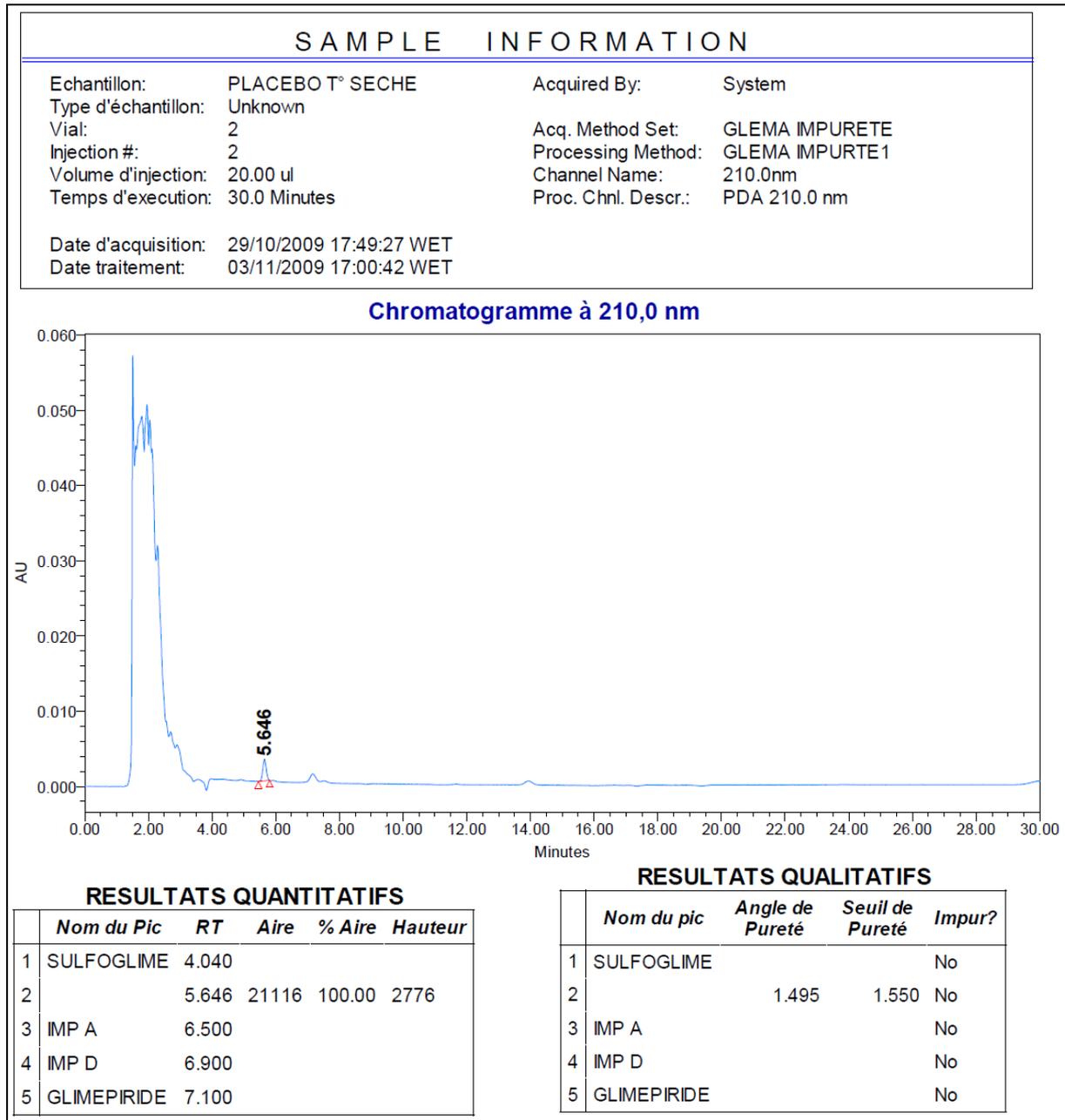


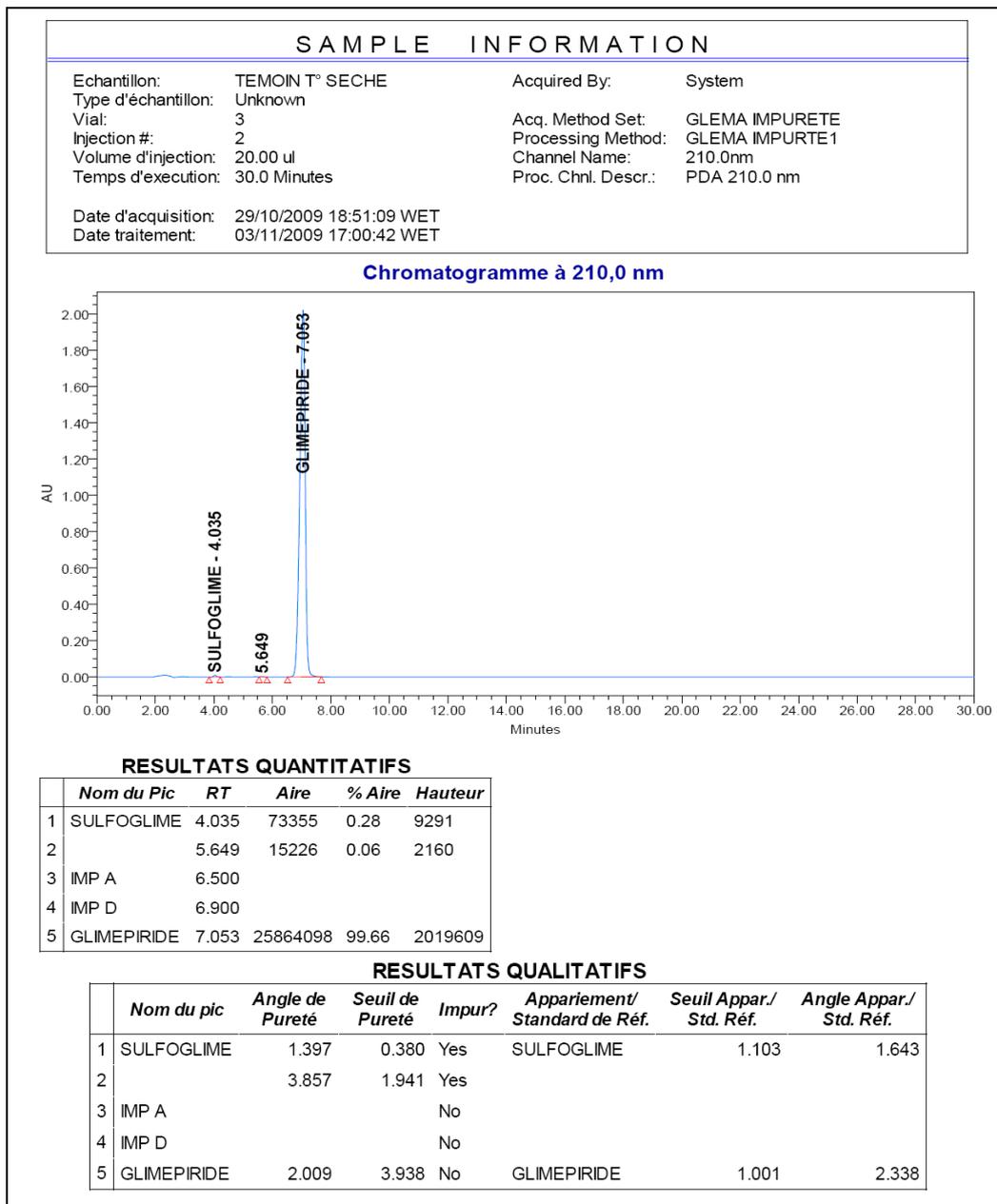
Figure 11. Evolution de l'aire du pic du Glimépiride du Témoin (MP) dégradé en milieu basique à **T₀**, **T=3h** et **T=24h**.

2.2.2.6. Chaleur Sèche:

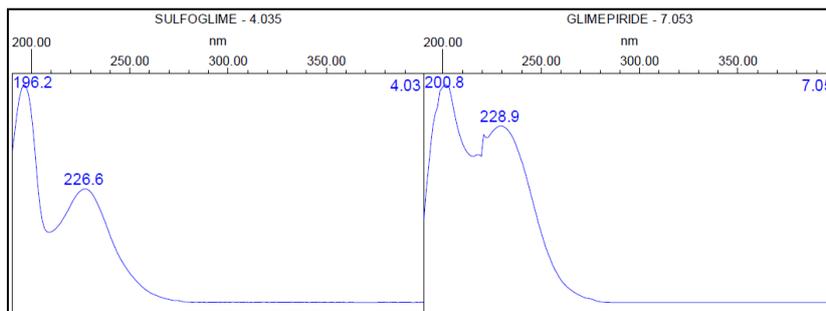
Pour les résultats des analyses du Blanc (méthanol/Acétonitrile 50:50) et des analyses effectuées à To Cf. les résultats des analyses des échantillons non dégradés (2.2.2.2).



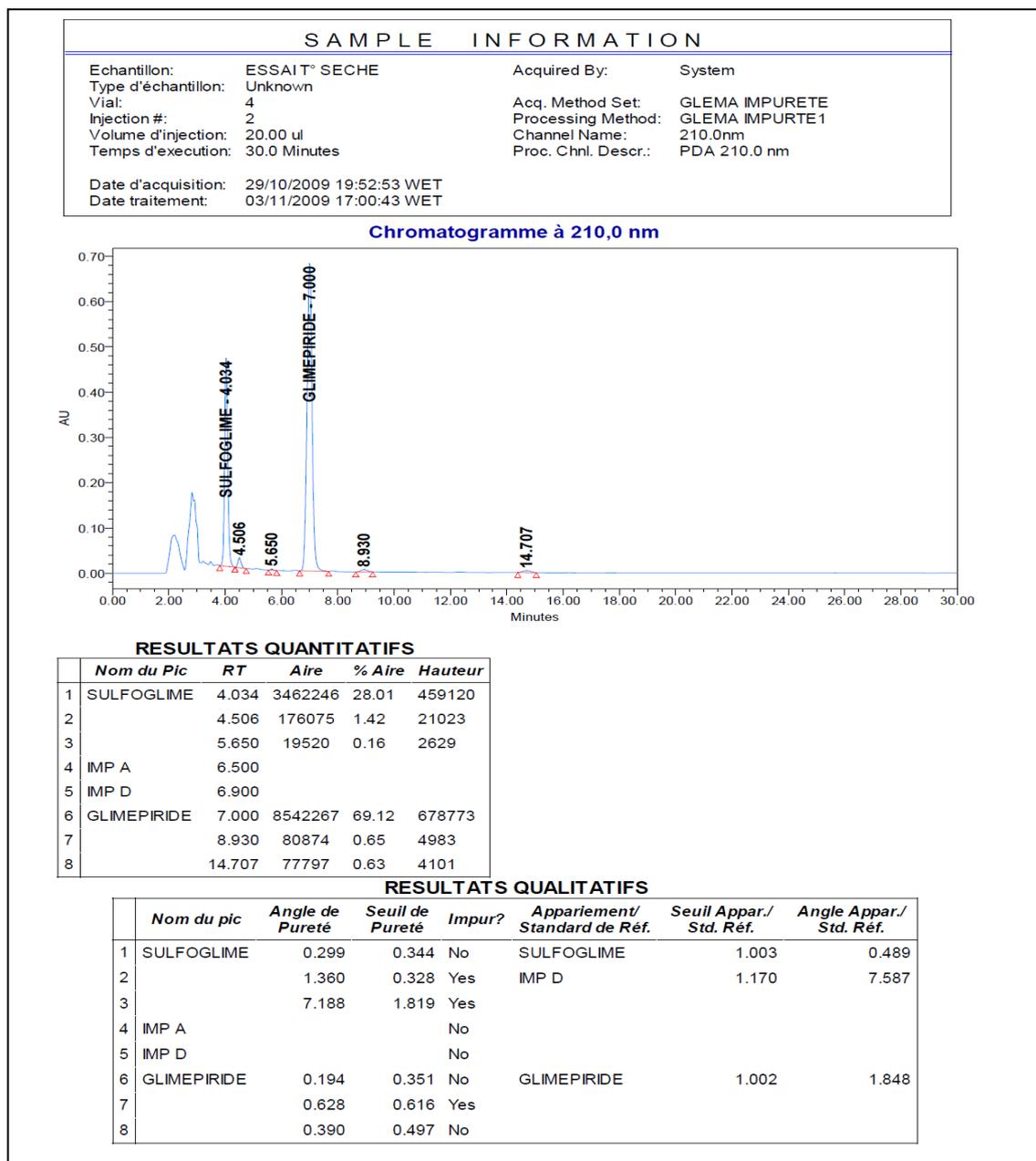
Chromatogramme 31. Résultat de l'analyse du placebo dégradé à la chaleur sèche à T=15 jours.



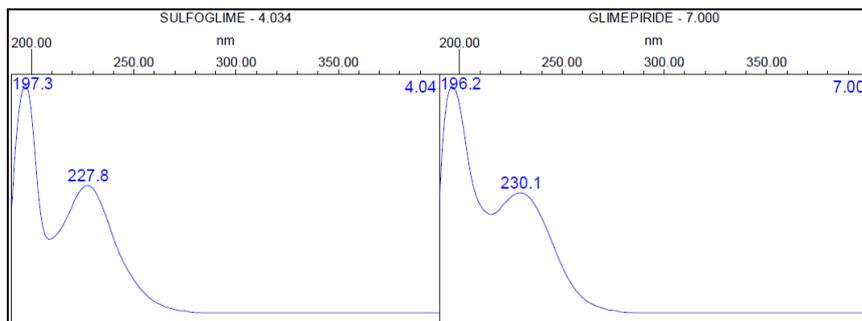
Chromatogramme 32. Résultat de l'analyse du témoin (MP) dégradé à la chaleur sèche à T=15 jours.



Spectre 19. Absorption UV des éléments de l'analyse de la MP dégradée à la chaleur sèche à T=15 jours.



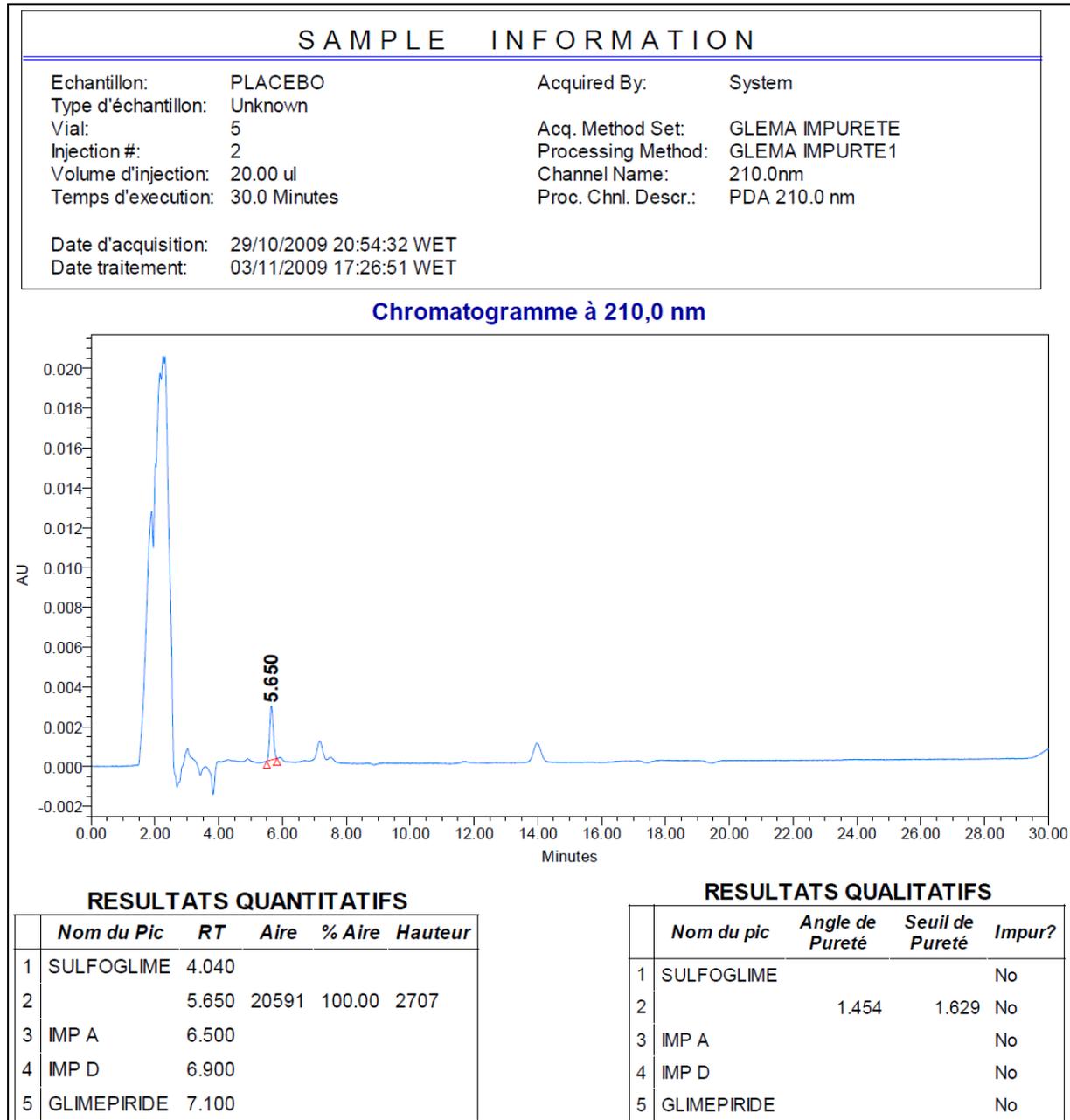
Chromatogramme 33. Résultats de l'analyse du PF dégradé à la chaleur sèche à T=15jours.



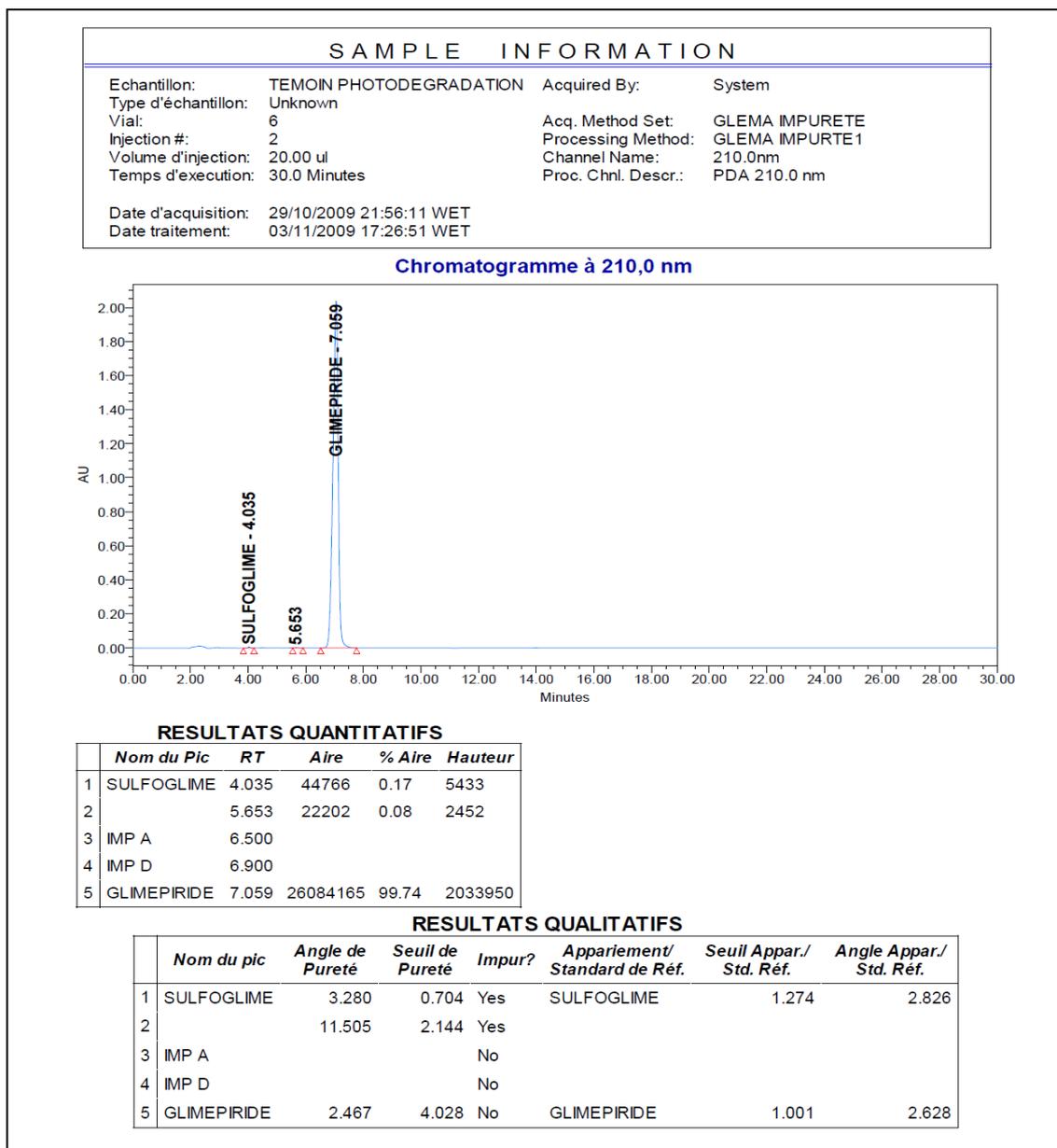
Spectre 20. Absorption UV des éléments de l'analyse du PF dégradé à la chaleur sèche à T=15jours.

2.2.2.7. Photodégradation:

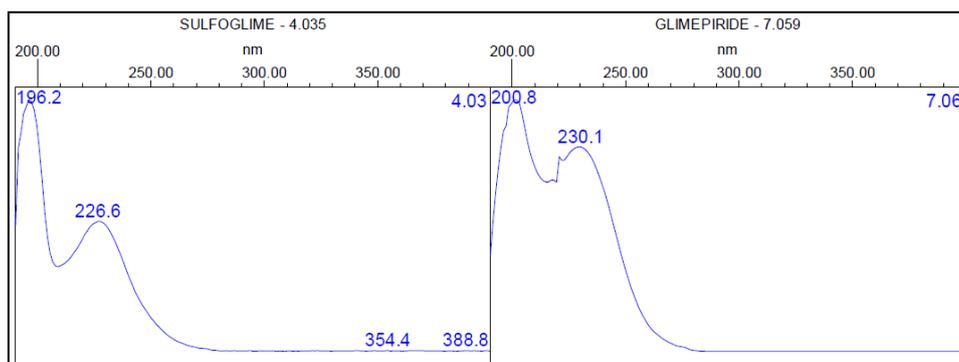
Pour les résultats des analyses du Blanc (méthanol/acétonitrile 50:50 V:V) et des analyses effectuées à To Cf. les résultats des analyses des échantillons non dégradés (2.2.2.2).



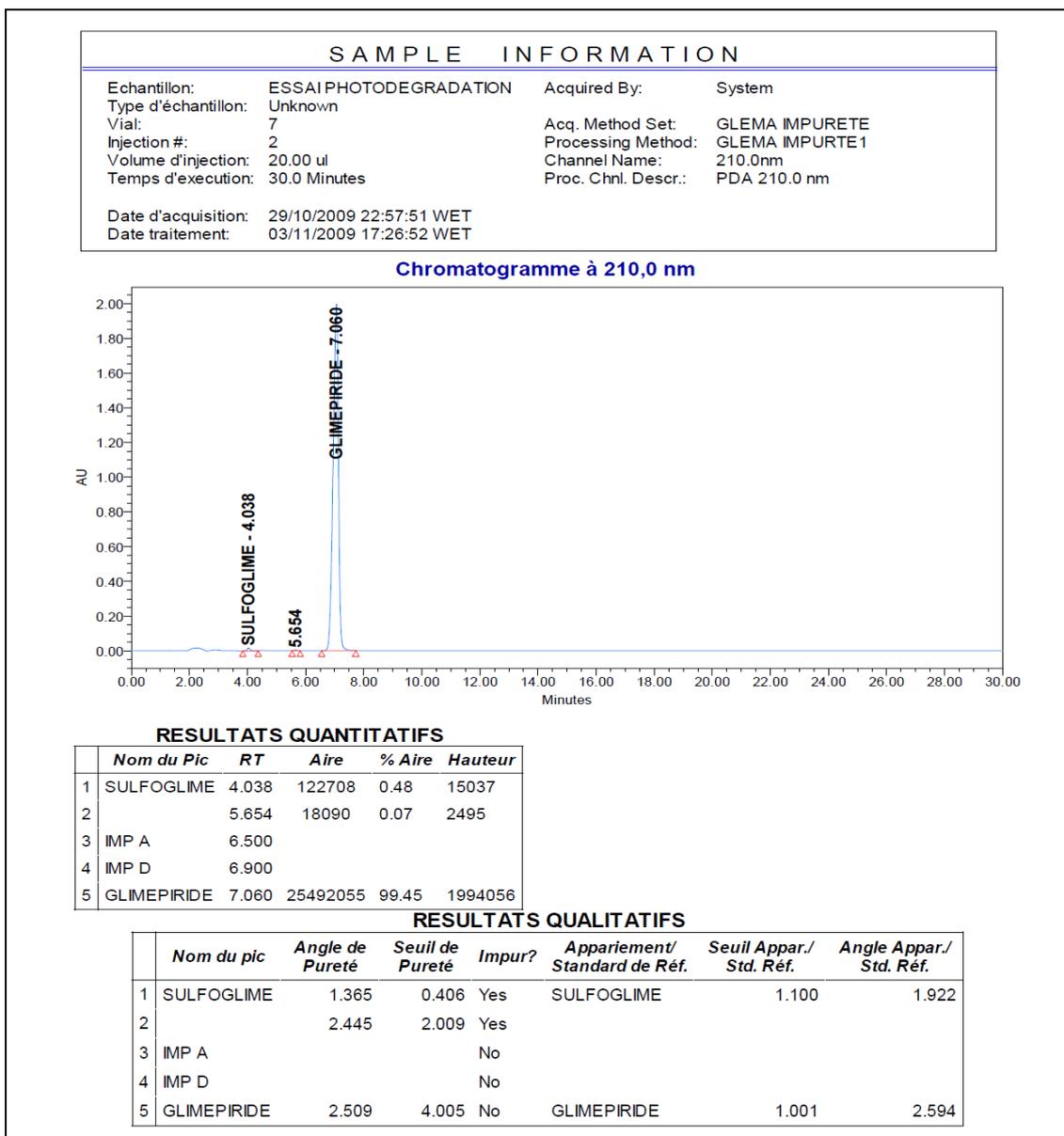
Chromatogramme 34. Résultats de l'analyse du placebo dégradé à la lumière du soleil à T=15 jours.



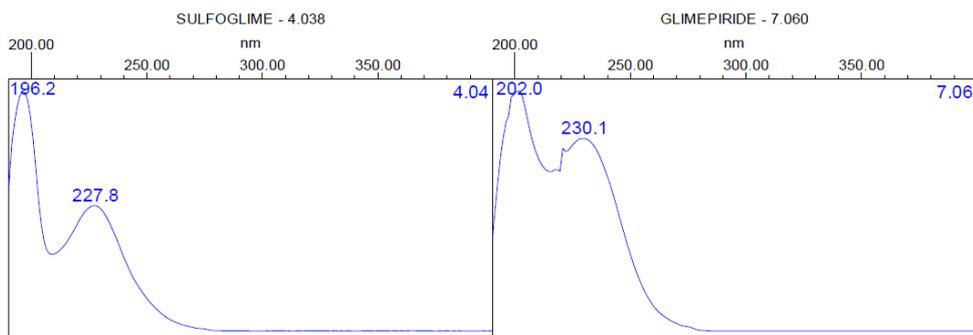
Chromatogramme 35. Résultats de l'analyse de la MP dégradée à la lumière du soleil à T=15 jours.



Spectre 21. Absorption UV des éléments de l'analyse de la MP dégradée à la lumière du soleil à T=15jour.

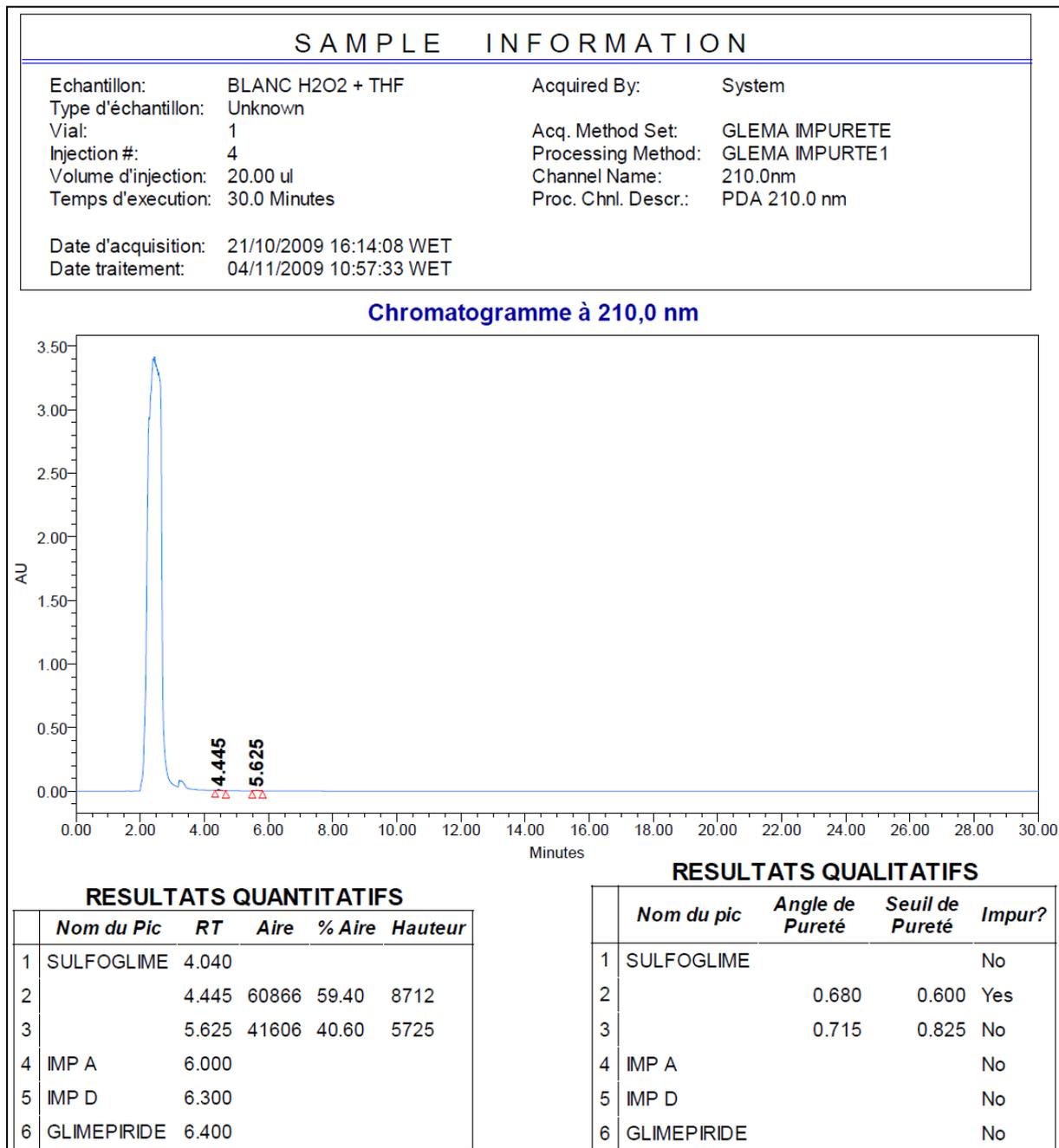


Chromatogramme 36. Résultats de l'analyse du PF dégradé à la lumière du soleil à T=15 jours.



Spectre 22. Absorption UV des éléments de l'analyse du PF dégradé à la lumière du soleil à T=15jour.

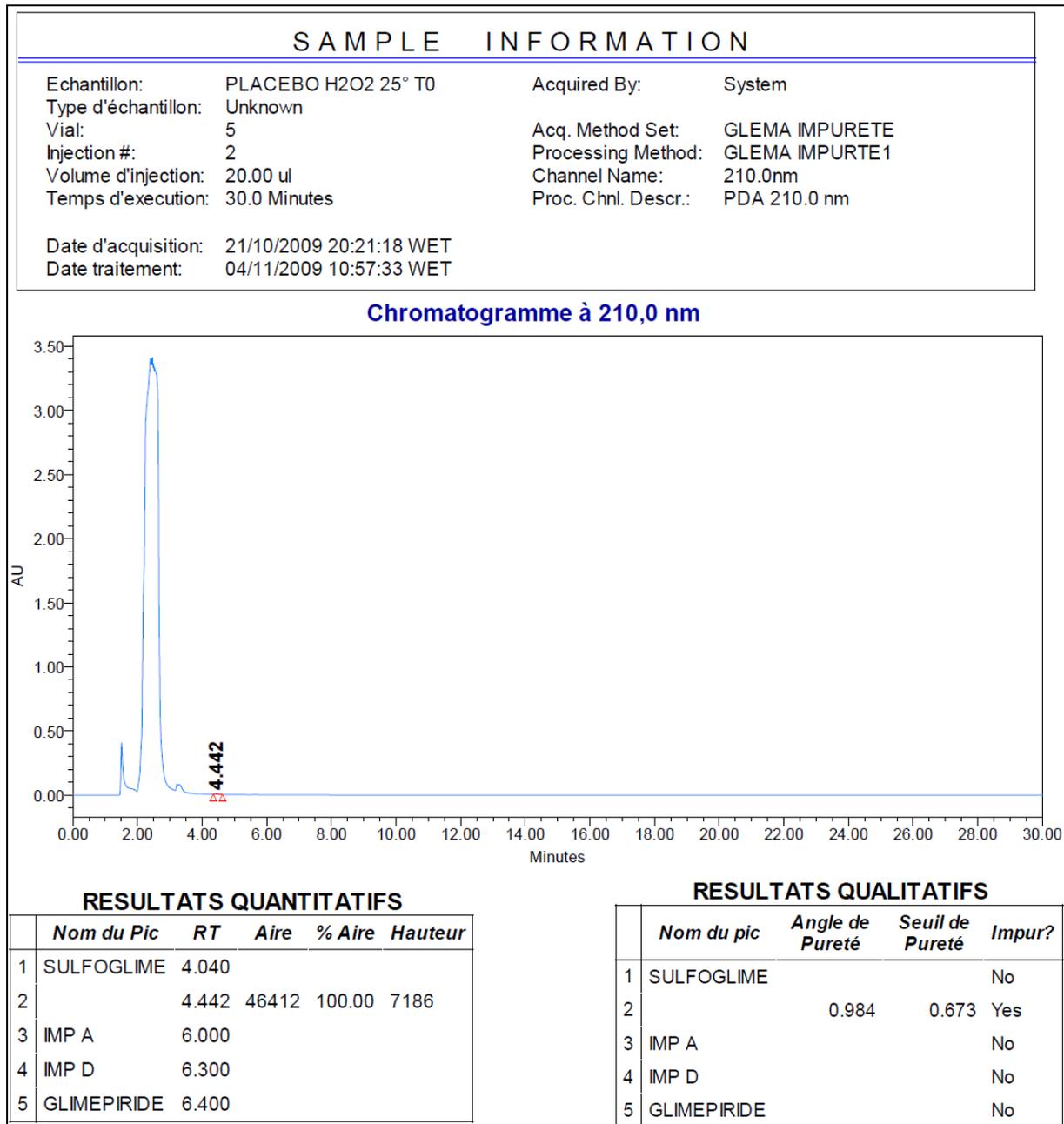
2.2.2.8. Dégradation oxydative:



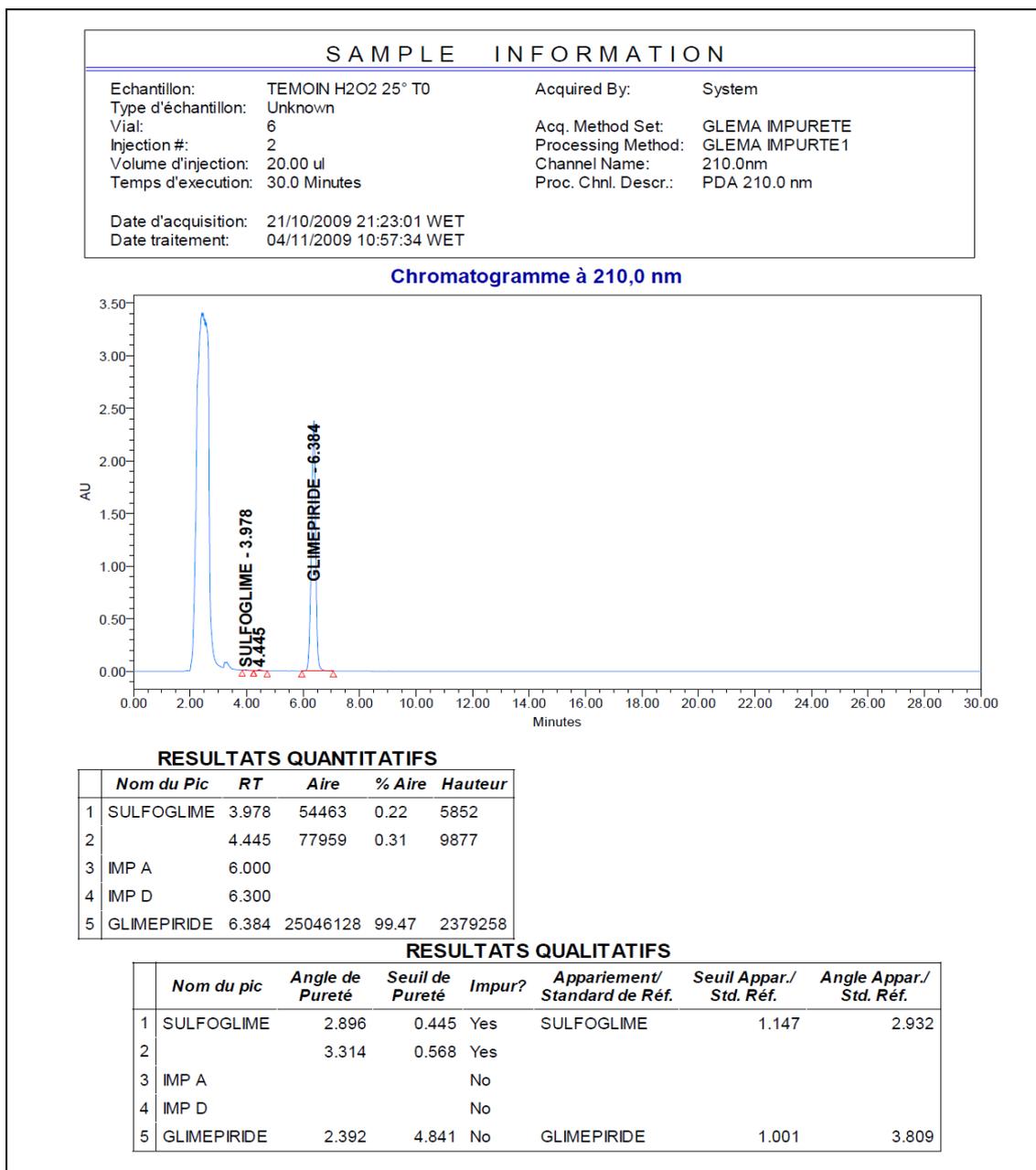
Chromatogramme 37. Résultat de l'analyse du mélange du solvant (H2O2 30%/THF 50:50 V :V).

2.2.2.8.1. A température ambiante :

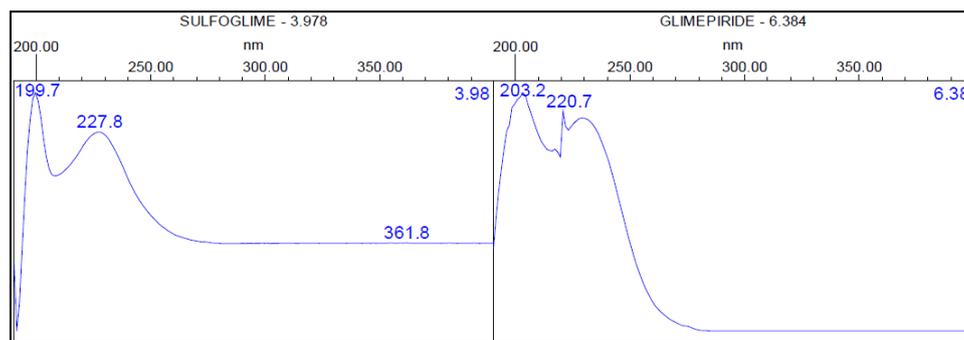
2.2.2.8.1.1. A T₀



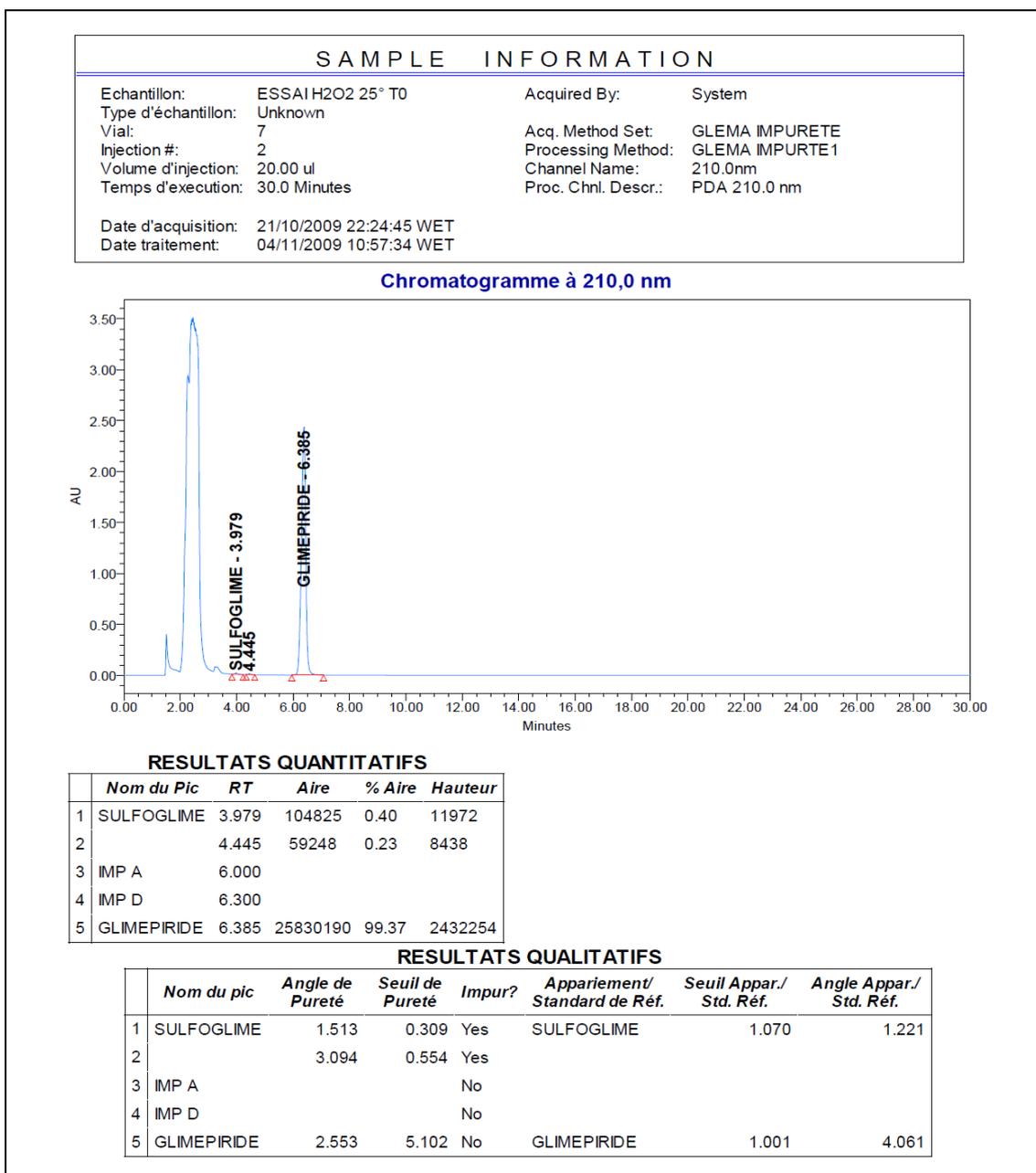
Chromatogramme 38. Résultat de l'analyse du placebo dégradé à 25° par oxydation à T₀.



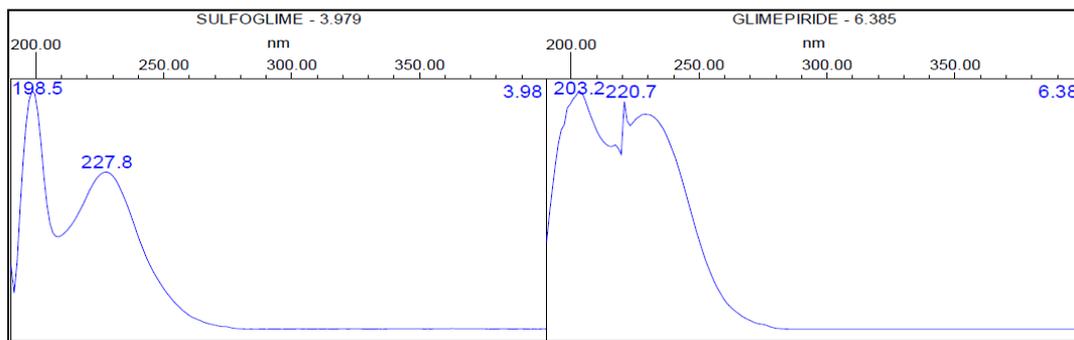
Chromatogramme 39. Résultat de l'analyse de la MP dégradée à 25° par oxydation à To.



Spectre 23. Absorption UV des éléments de l'analyse de la MP dégradée à 25° par oxydation à To.



Chromatogramme 40. Résultats de l'analyse du PF dégradé à 25° par oxydation à To.

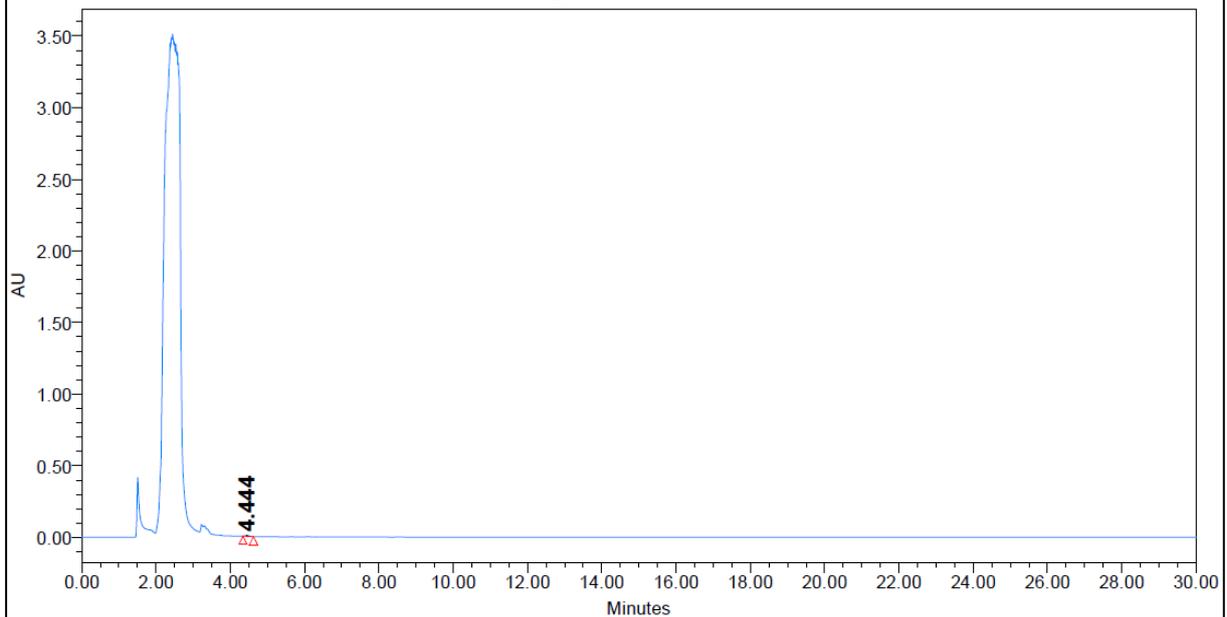


Spectre 24. Absorption UV des éléments de l'analyse du PF dégradé à 25° par oxydation à To.

2.2.2.8.1.2. A T_{3h}

SAMPLE INFORMATION			
Echantillon:	PLACEBO H2O2 25° T=3H	Acquired By:	System
Type d'échantillon:	Unknown		
Vial:	11	Acq. Method Set:	GLEMA IMPURETE
Injection #:	2	Processing Method:	GLEMA IMPURTE1
Volume d'injection:	20.00 ul	Channel Name:	210.0nm
Temps d'exécution:	30.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 210.0 nm
Date d'acquisition:	22/10/2009 02:31:43 WET		
Date traitement:	04/11/2009 10:57:35 WET		

Chromatogramme à 210,0 nm



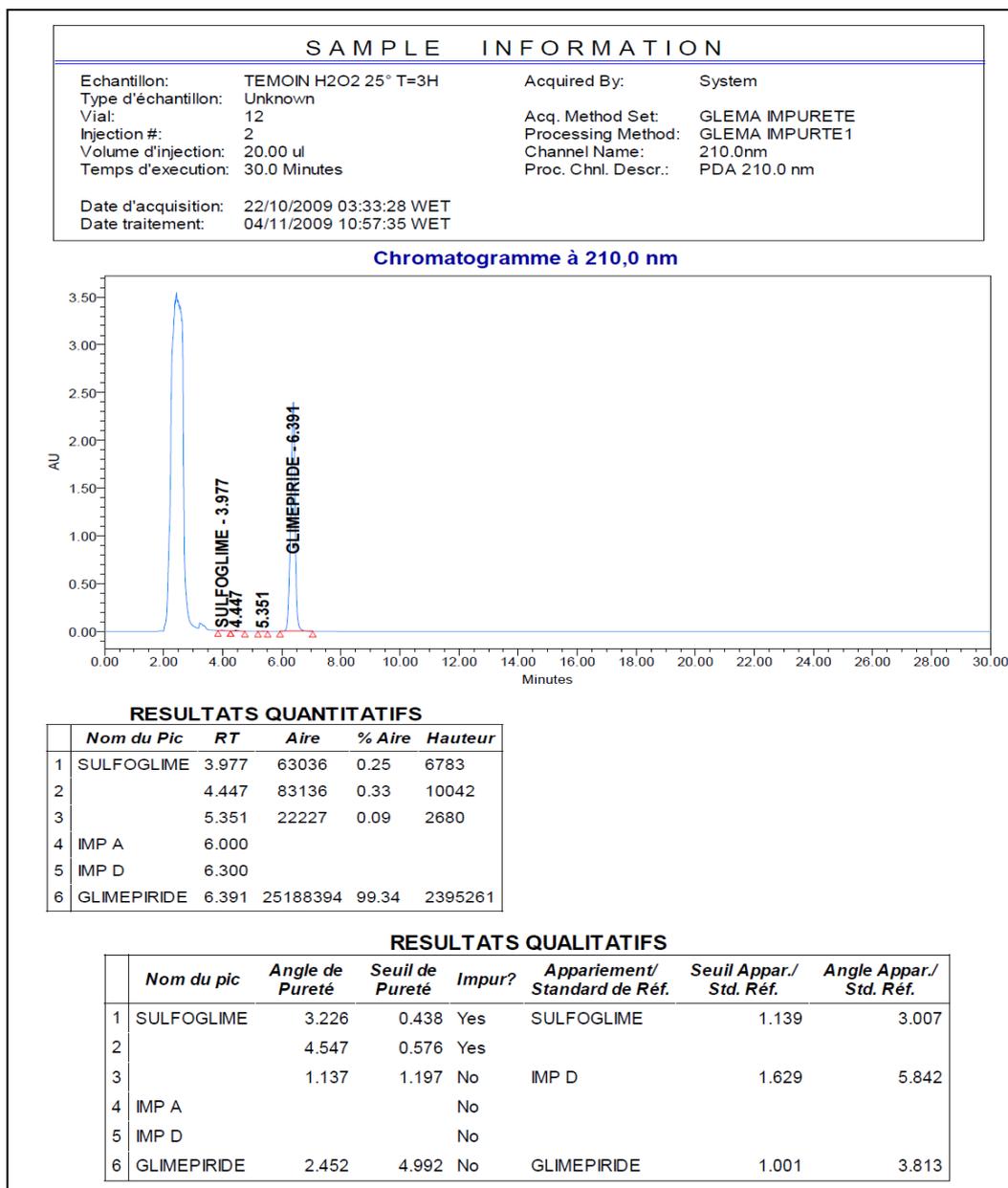
RESULTATS QUANTITATIFS

	Nom du Pic	RT	Aire	% Aire	Hauteur
1	SULFOGLIME	4.040			
2		4.444	46370	100.00	7012
3	IMP A	6.000			
4	IMP D	6.300			
5	GLIMEPIRIDE	6.400			

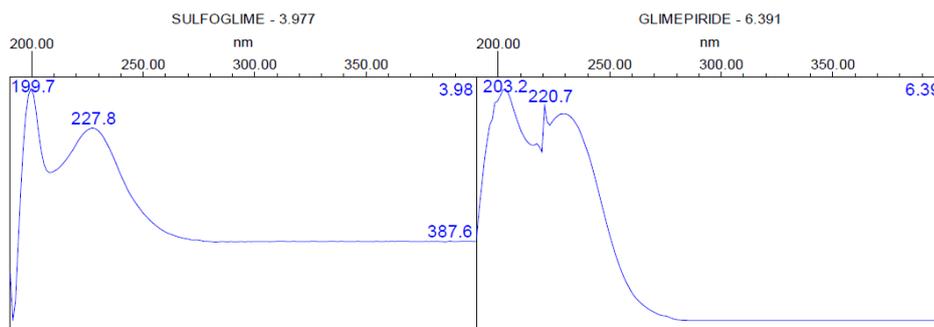
RESULTATS QUALITATIFS

	Nom du pic	Angle de Pureté	Seuil de Pureté	Impur?
1	SULFOGLIME			No
2		0.835	0.765	Yes
3	IMP A			No
4	IMP D			No
5	GLIMEPIRIDE			No

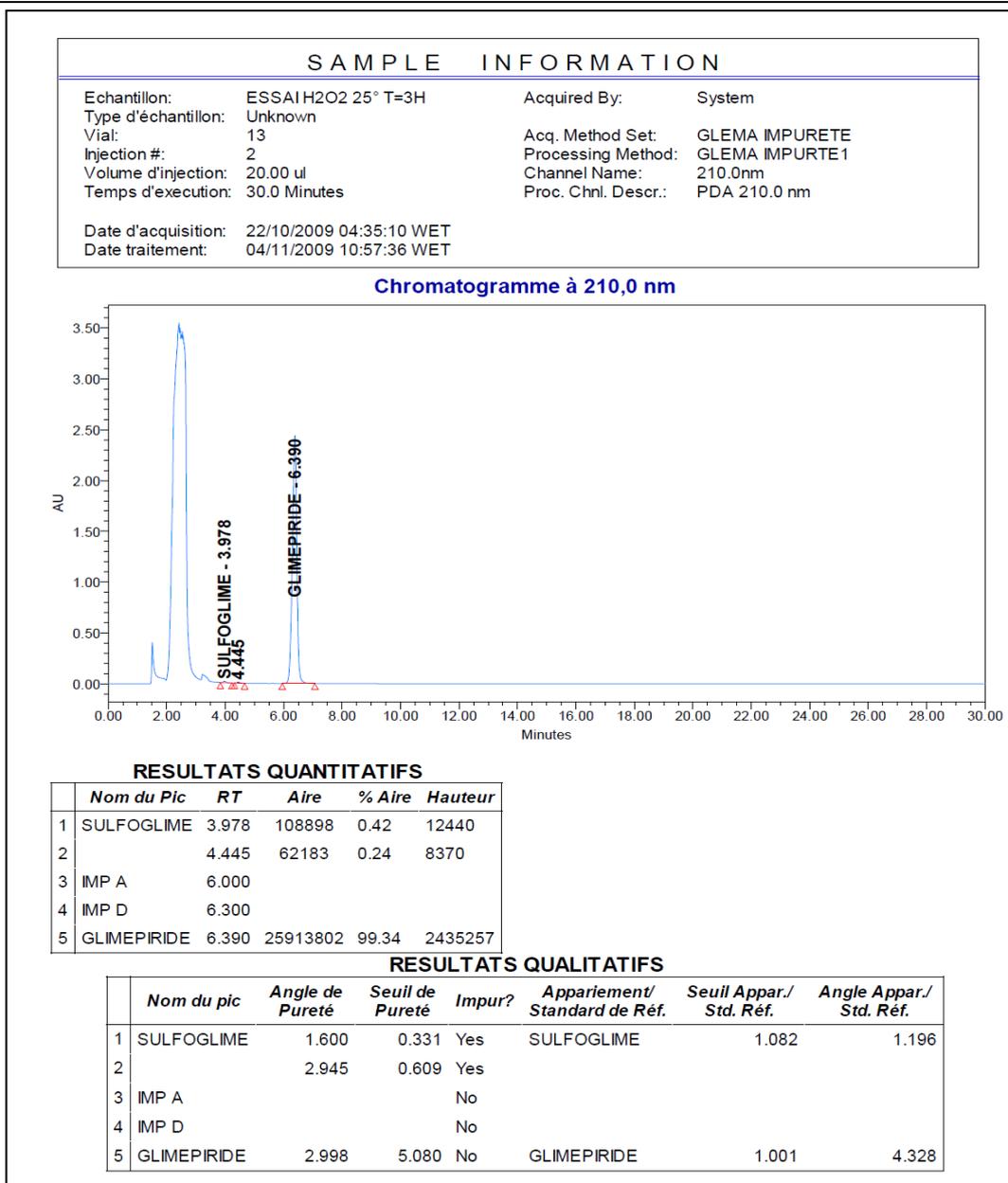
Chromatogramme 41. Résultat de l'analyse du placebo dégradé à 25° par oxydation à T=3h.



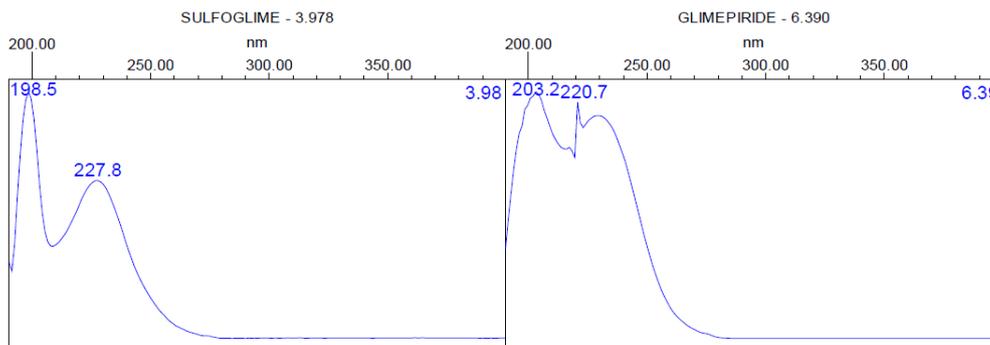
Chromatogramme 42. Résultat de l'analyse de la MP dégradée à 25° par oxydation à T=3h.



Spectre 25. Absorption UV des éléments de l'analyse de la MP dégradée à 25° par oxydation à T=3h.

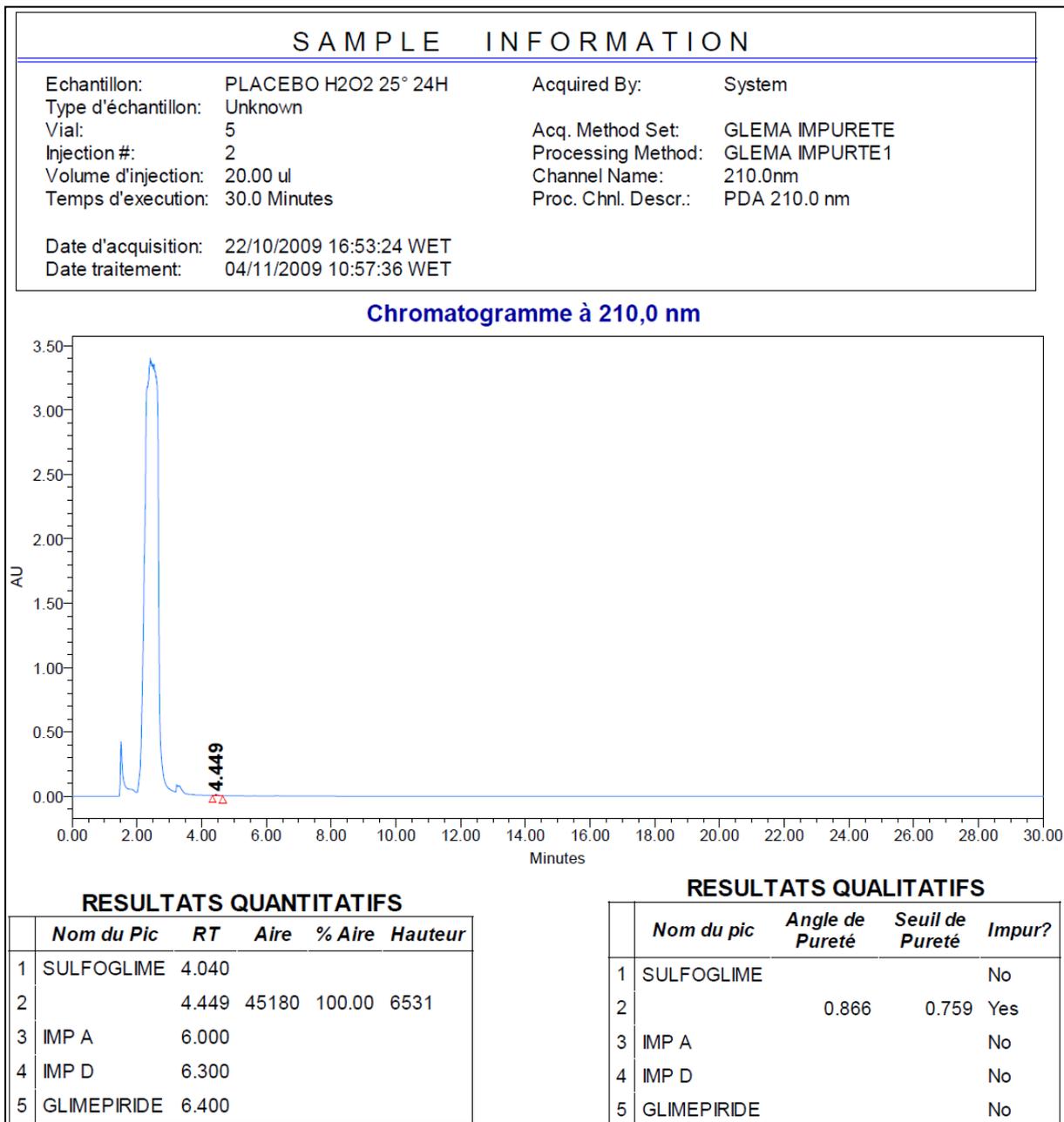


Chromatogramme 43. Résultats de l'analyse du PF dégradée à 25° par oxydation à T=3h.

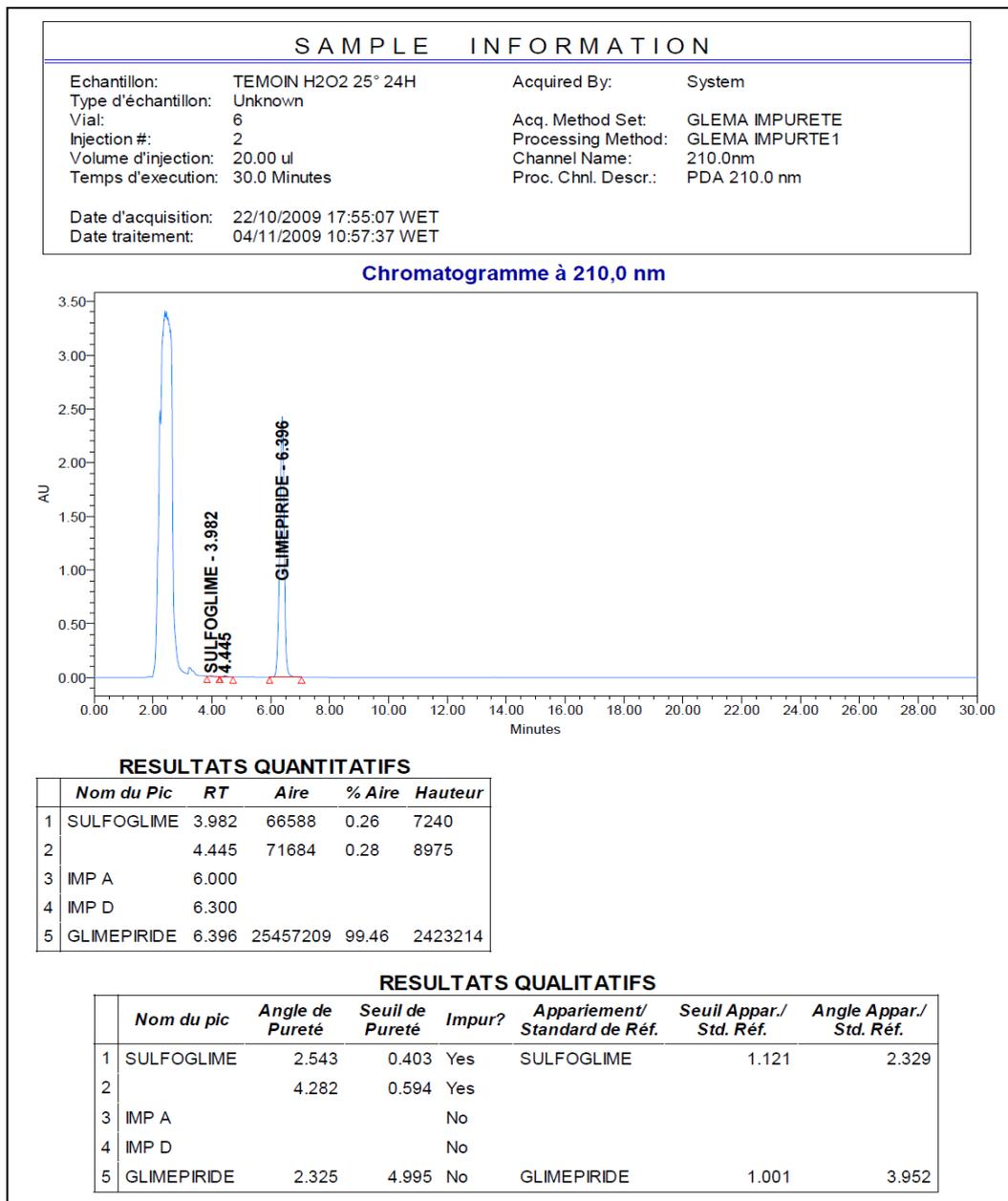


Spectre 26. Absorption UV des éléments de l'analyse du PF dégradée à 25° par oxydation à T=3h.

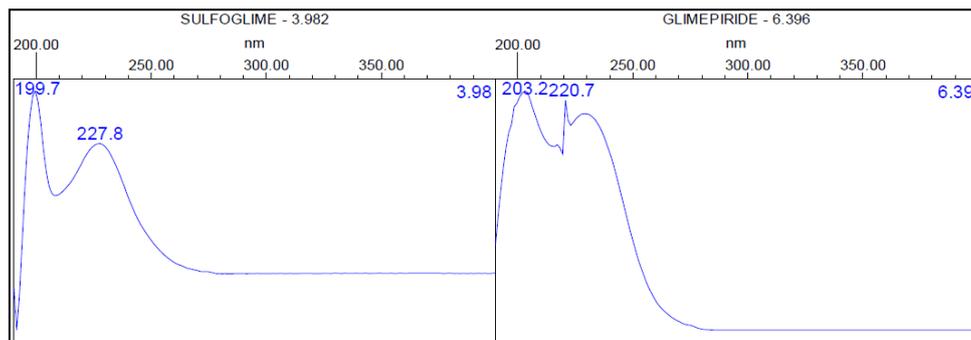
2.2.2.8.1.3. A T_{24h}



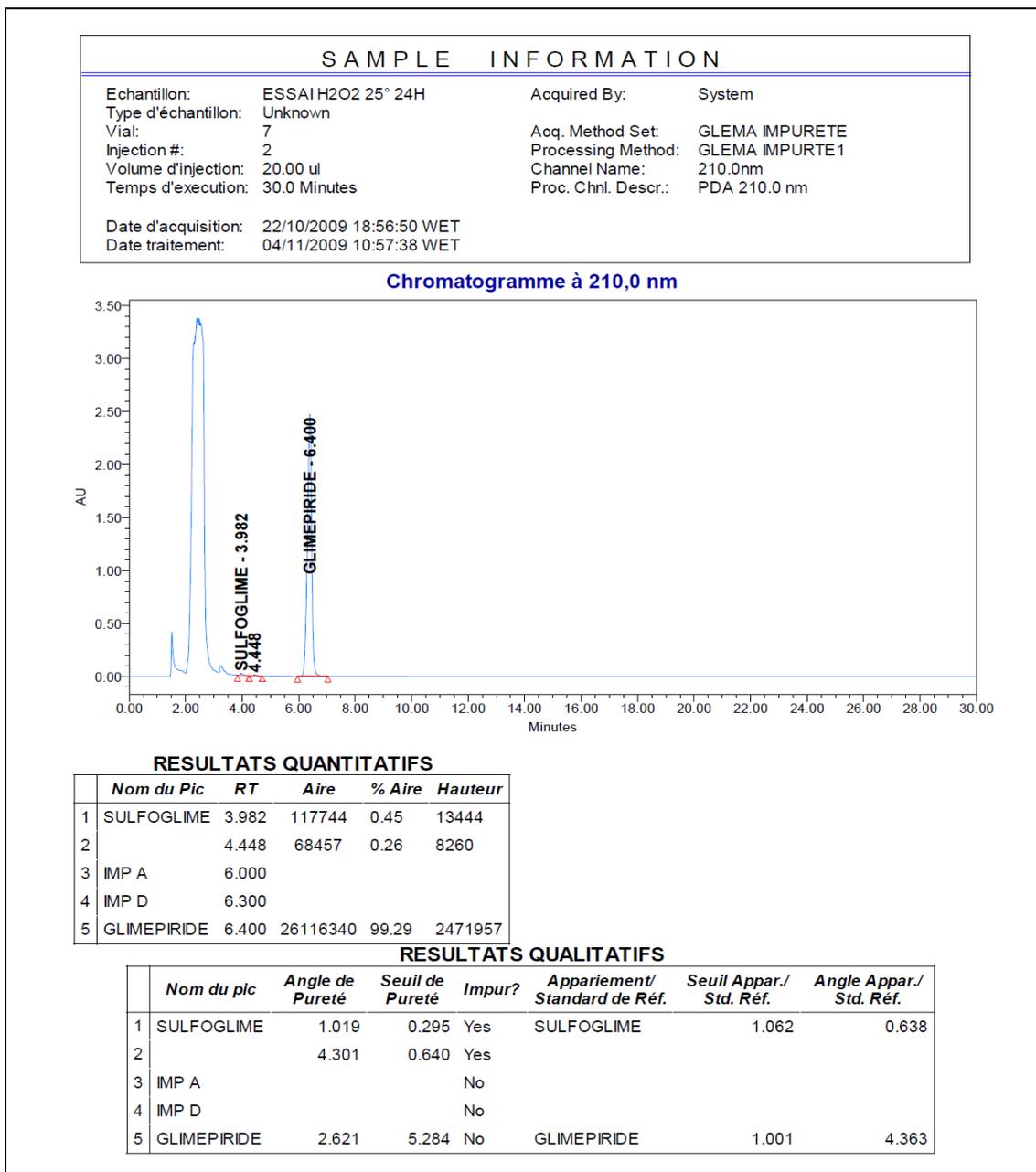
Chromatogramme 44. Résultat de l'analyse du placebo dégradé à 25° par oxydation à T=24h.



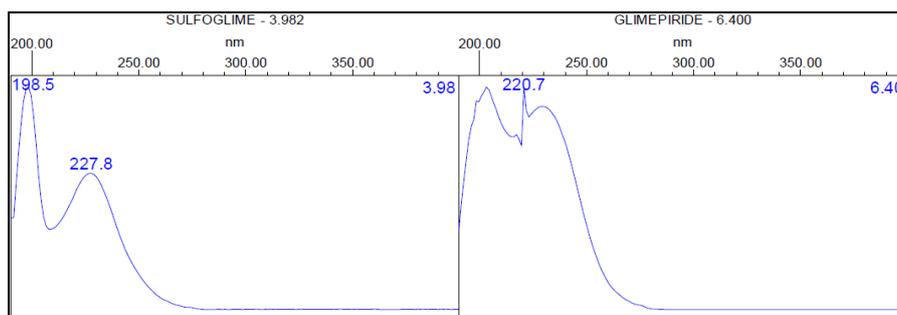
Chromatogramme 45. Résultat de l'analyse de la MP dégradée à 25° par oxydation à T=24h.



Spectre 27. Absorption UV des éléments de l'analyse de la MP dégradée à 25° par oxydation à T=24h.



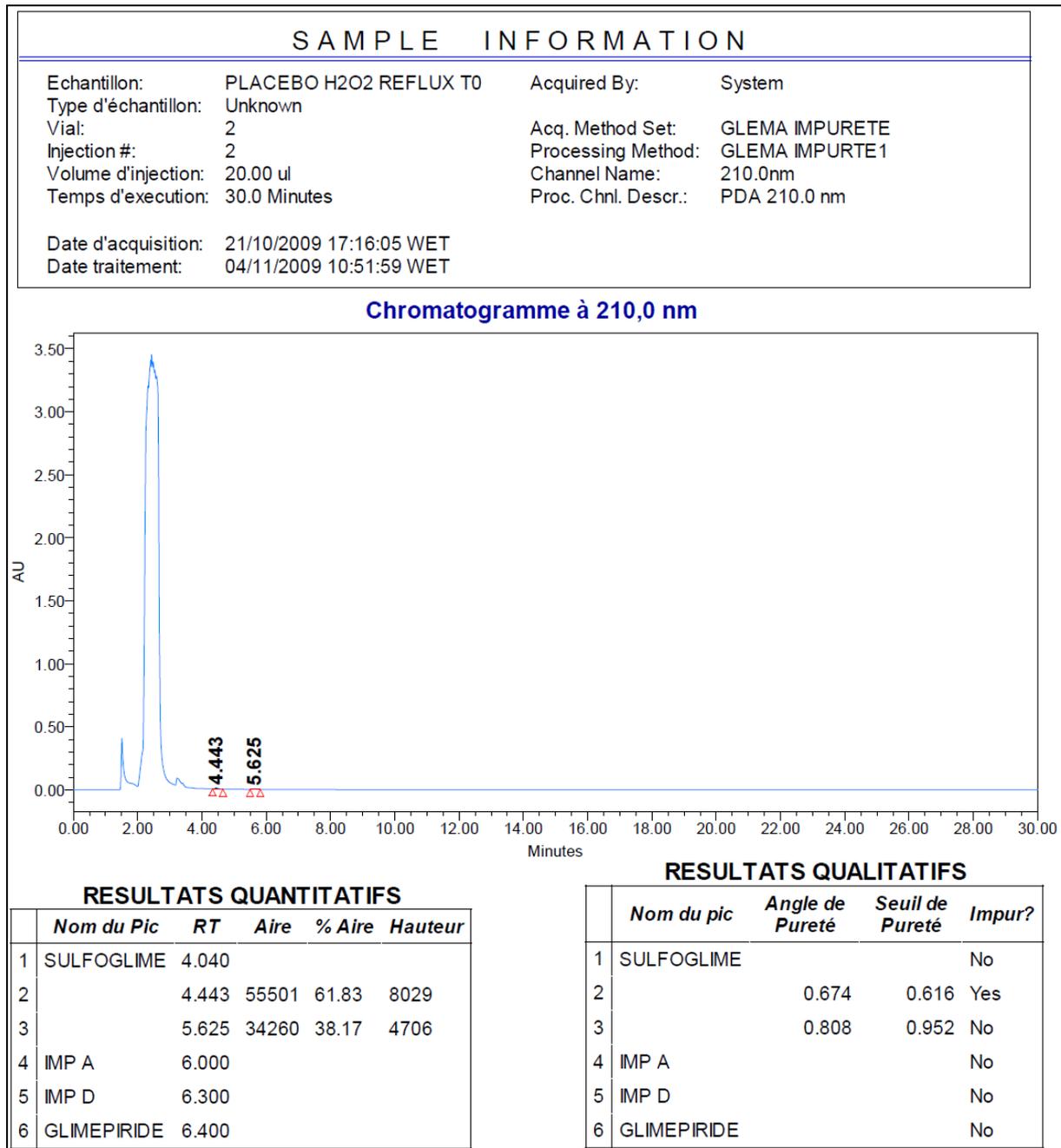
Chromatogramme 46. Résultat de l'analyse du PF dégradé à 25° par oxydation à T=24h.



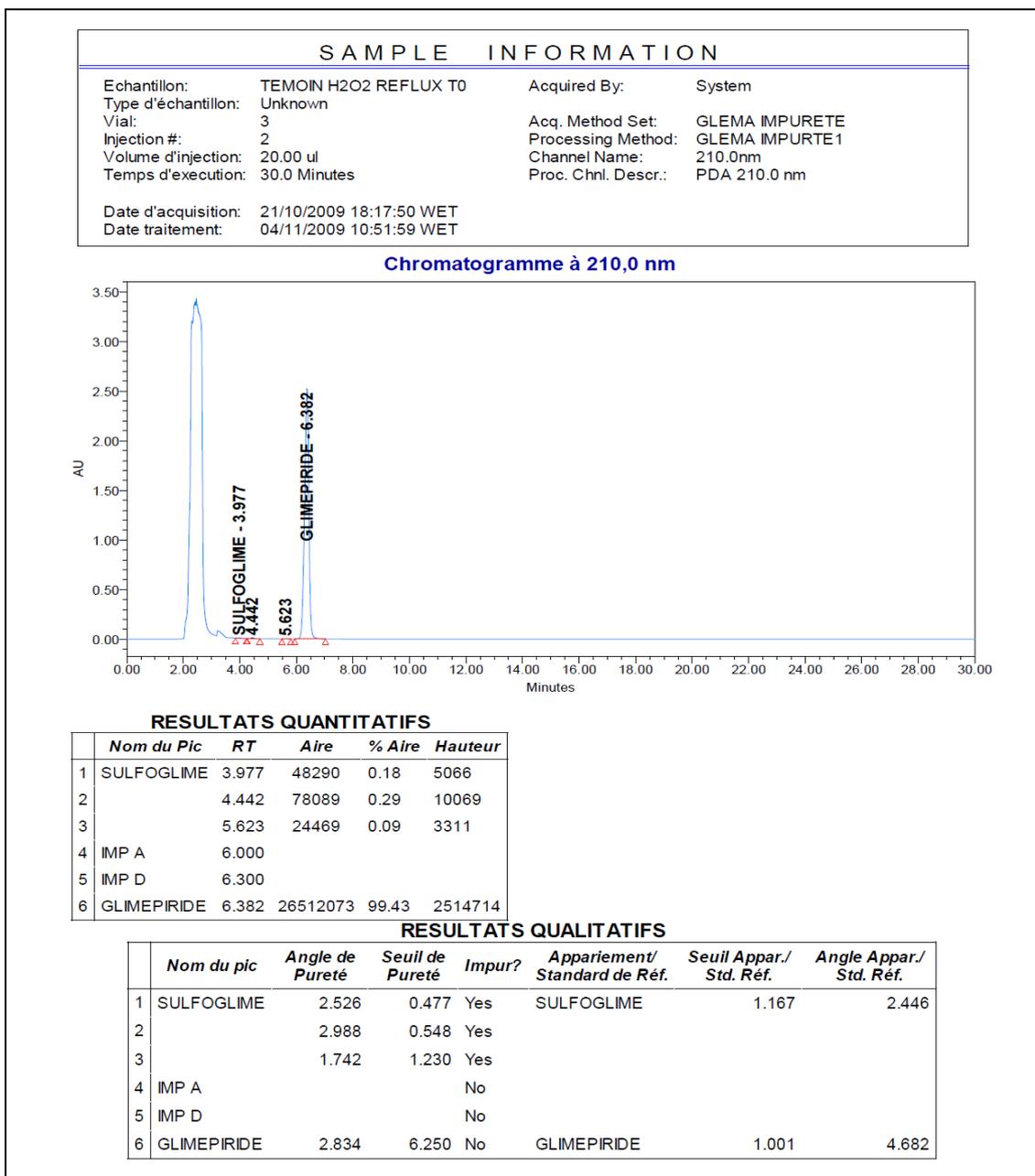
Spectre 28. Absorption UV des éléments de l'analyse du PF dégradé à 25° par oxydation à T=24h.

2.2.2.8.2. Sous chauffage à reflux (SR) :

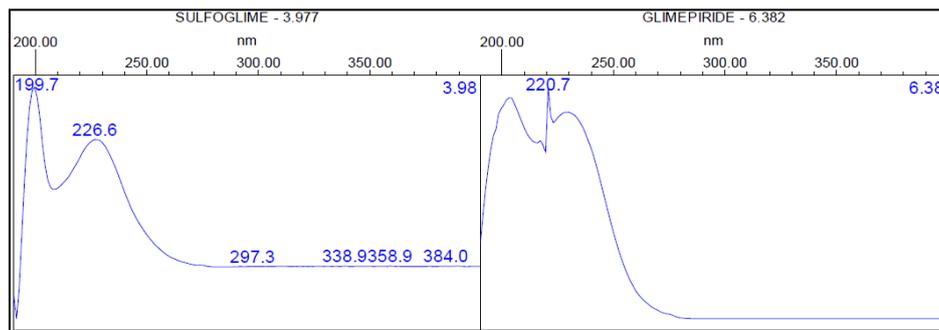
2.2.2.8.2.1. A T₀



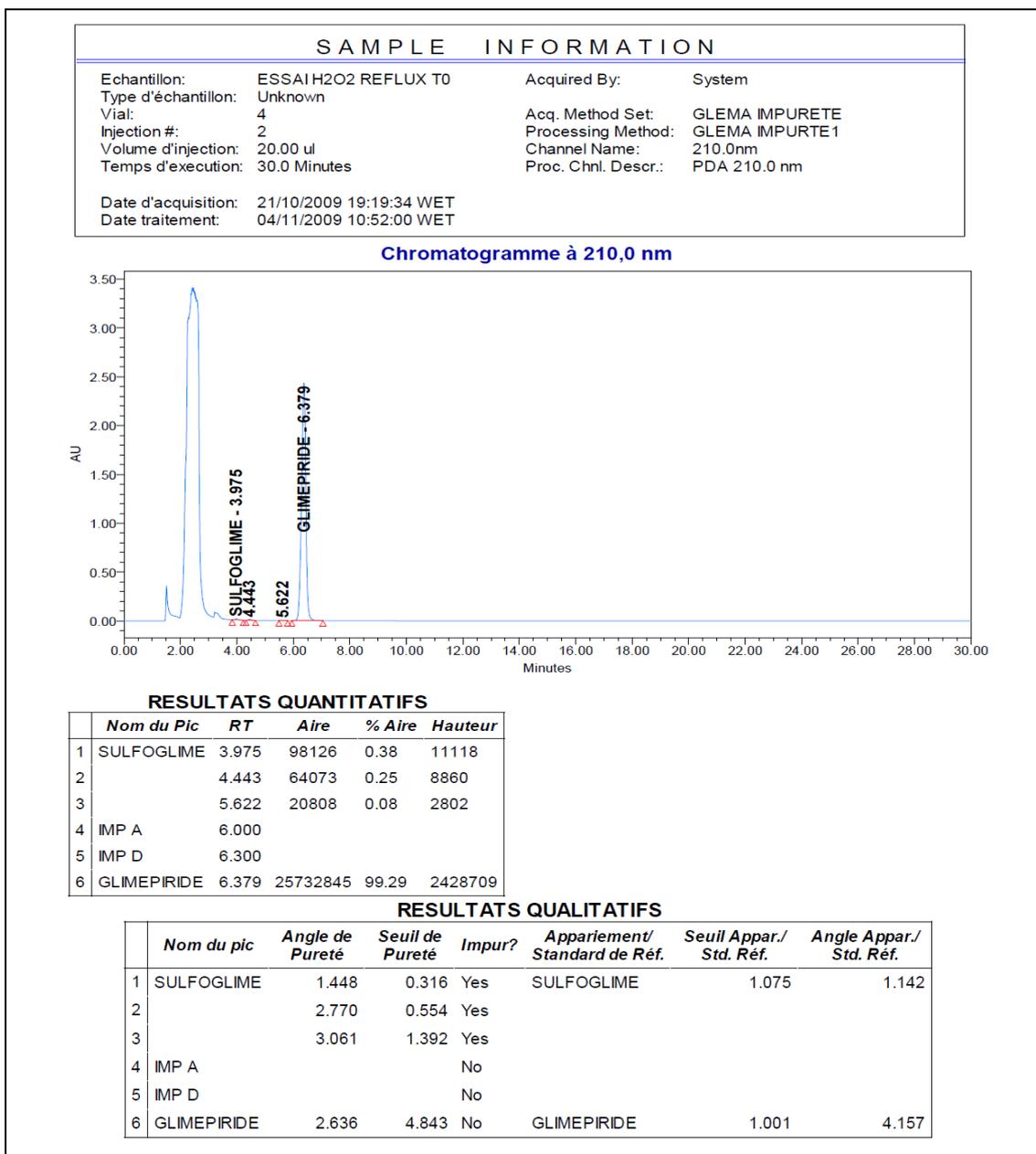
Chromatogramme 47. Résultat de l'analyse du placebo dégradé par oxydation SR à T₀.



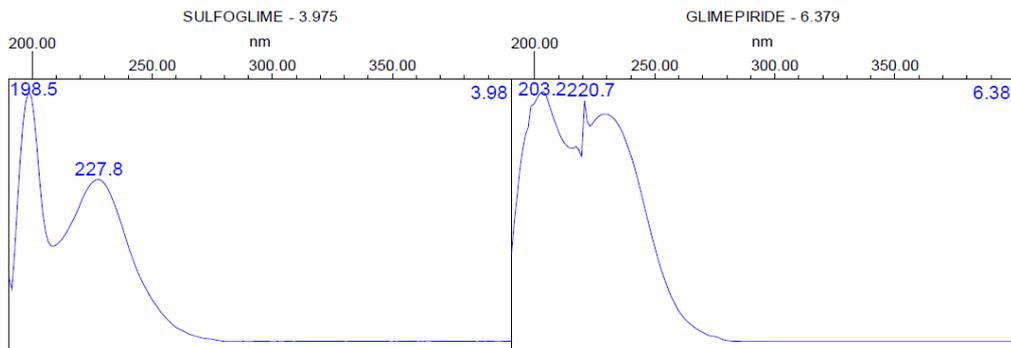
Chromatogramme 48. Résultat de l'analyse de la MP dégradée par oxydation SR à To.



Spectre 29. Absorption UV des éléments de l'analyse de la MP dégradée par oxydation SR à To.

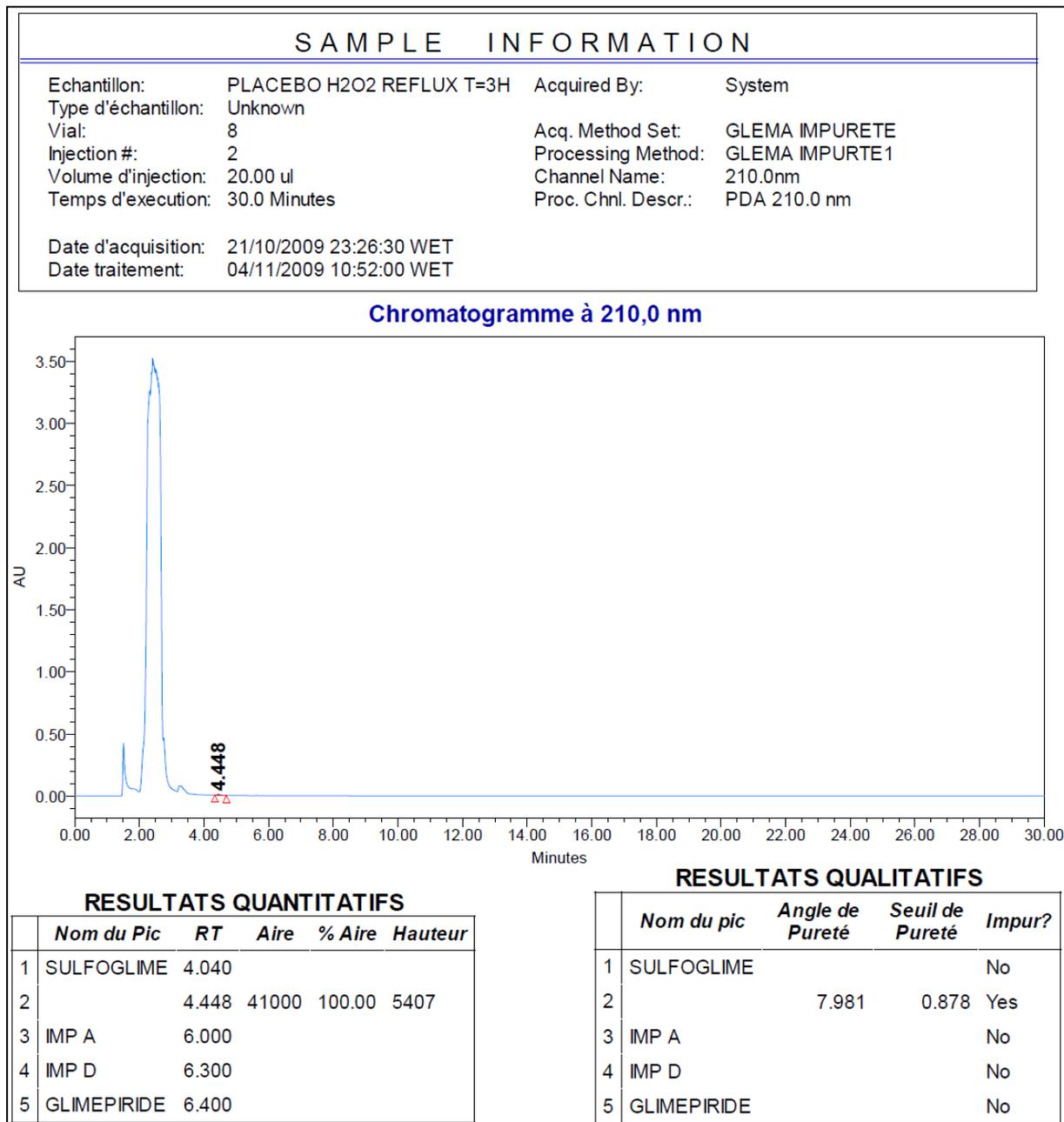


Chromatogramme 49. Résultats de l'analyse du PF dégradé par oxydation SR à To.

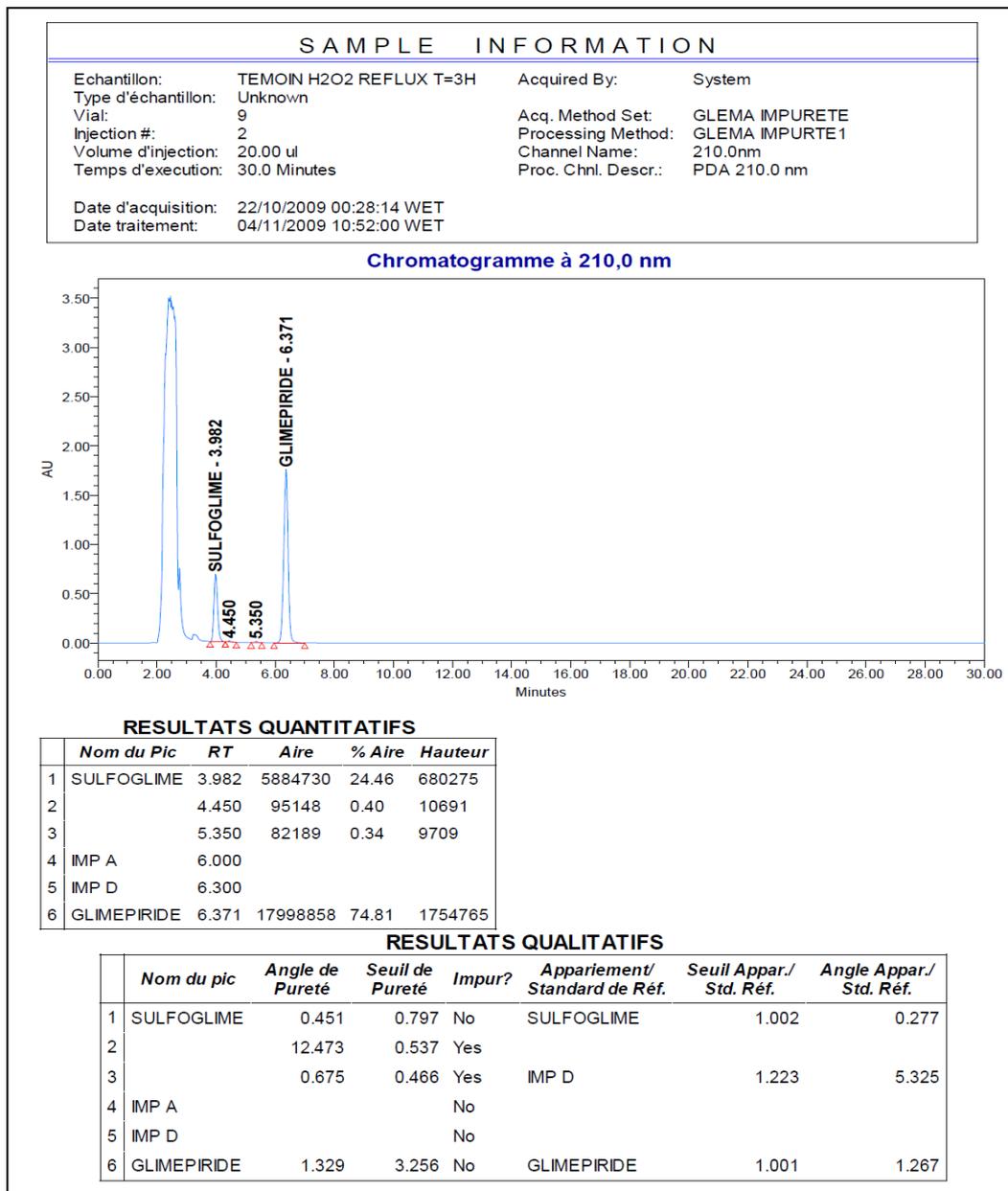


Spectre 30. Absorption UV des éléments de l'analyse du PF dégradé par oxydation SR à To.

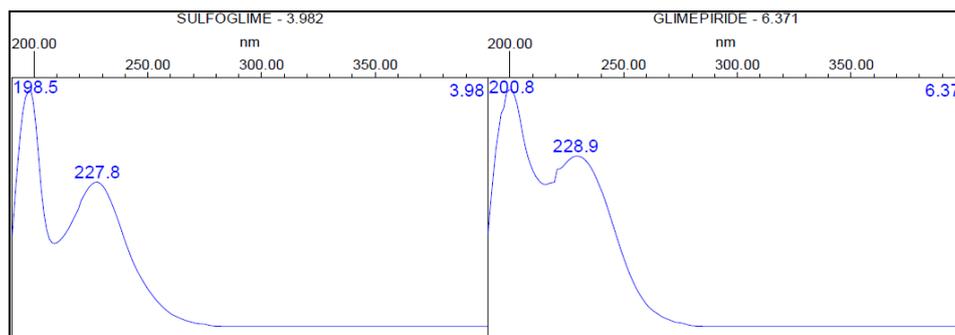
2.2.2.8.2.2. A T_{3h}



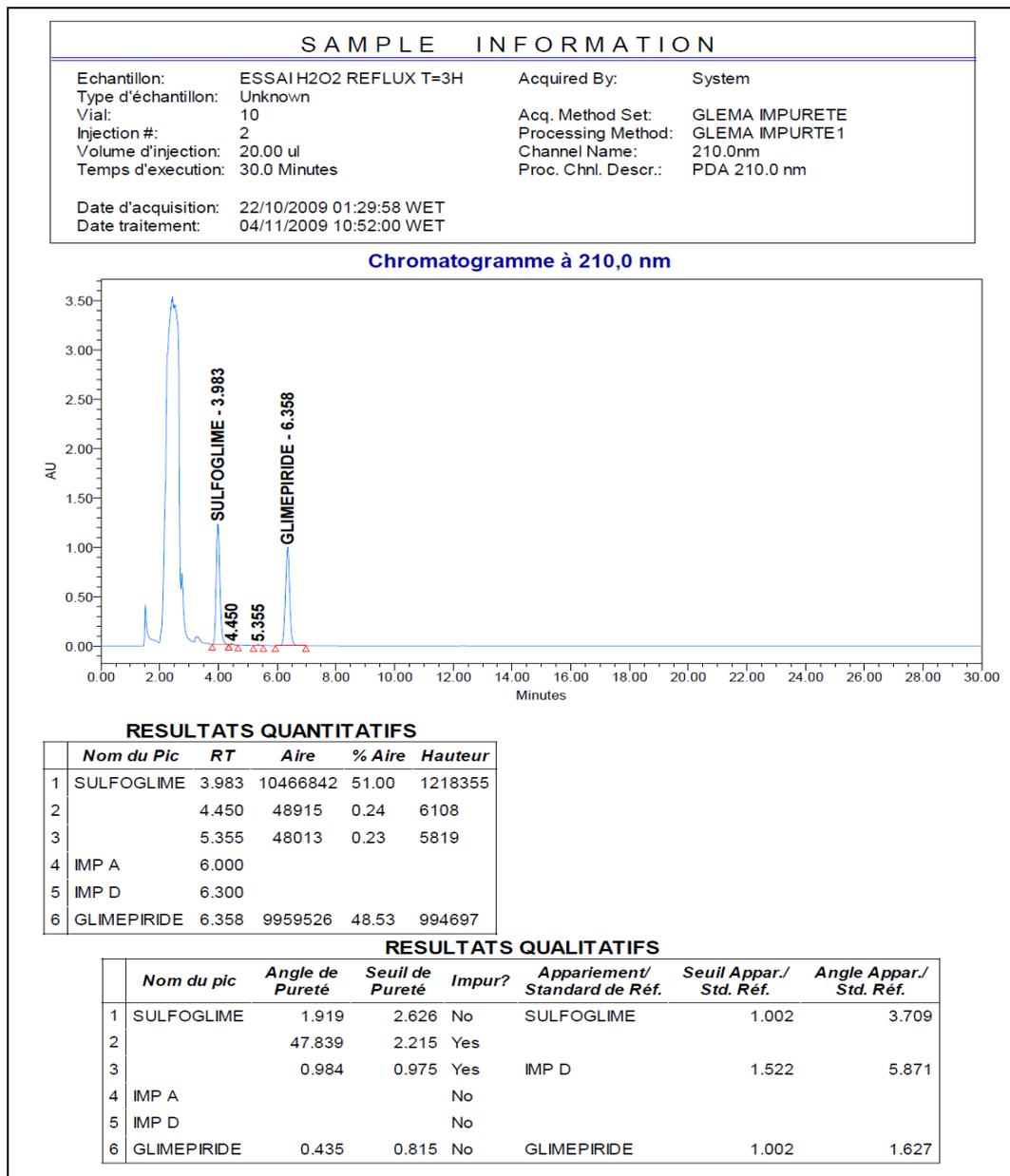
Chromatogramme 50. Résultat de l'analyse du placebo dégradé par oxydation SR à T=3h.



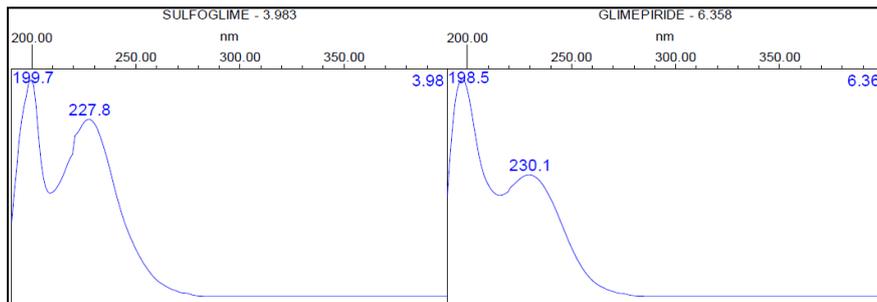
Chromatogramme 51. Résultat de l'analyse de la MP dégradée par oxydation SR à T=3h.



Spectre 31. Absorption UV des éléments de l'analyse de la MP dégradée par oxydation SR à T=3h.



Chromatogramme 52. Résultats de l'analyse du PF dégradé par oxydation SR à T=3h.



Spectre 32. Absorption UV des éléments de l'analyse du PF dégradé par oxydation SR à T=3h.

2.2.3. Résultats quantitatifs : prises d'essais et pourcentages de dégradation

Tableau VI. Récapitulatif des résultats quantitatifs des analyses de dégradation forcée de la Glimépiride et calcul des pourcentages de dégradation.

Condition de dégradation	Température	Temps de l'analyse	Echantillon	Pesée en mg	Aire du pic de Glimépiride	Aire du pic de Sulfoglime	Σ des aires des autres impuretés détectées	% de Glimépiride	% de Sulfoglime	Σ% des autres impuretés	% de dégradation non détectée	N° du Chromatogramme
Non dégradé	Ambiante	T0	Témoin MP	25,3	26563307	55110	0	99,79%	0,21%	0,00%	0,00%	4
			Essai PF	1062,0	25785709	106300	0	99,59%	0,41%	0,00%	0,00%	6
Hydrolyse Neutre	Chauffage à Reflux	T0	Témoin MP	26,8	28103832	75876	0	99,88%	0,27%	0,00%	0,00%	9
			Essai PF	1081,6	26403844	125630	0	100,54%	0,48%	0,00%	0,00%	10
		T=3h	Témoin MP	26,8	13839893	10121847	0	49,19%	35,97%	0,00%	14,84%	12
			Essai PF	1081,6	18235431	5826586	0	69,44%	22,19%	0,00%	8,38%	13
Hydrolyse Acide	Chauffage à Reflux	T0	Témoin MP	26,4	27706174	123359	0	99,96%	0,45%	0,00%	0,00%	16
			Essai PF	1061,7	25562255	155200	0	99,16%	0,60%	0,00%	0,24%	17
		T=3h	Témoin MP	26,4	12623259	10972953	0	45,54%	39,59%	0,00%	14,87%	19
			Essai PF	1061,7	15856275	7175645	0	61,51%	27,84%	0,00%	10,65%	20
Hydrolyse Basique	Ambiante	T0	Témoin MP	24,9	24137019	0	53644	92,33%	0,00%	0,21%	7,47%	23
			Essai PF	1062,6	25723400	0	44617	99,70%	0,00%	0,17%	0,13%	24
		T=3h	Témoin MP	24,9	22783935	0	69921	87,15%	0,00%	0,27%	12,58%	26
			Essai PF	1062,6	25237193	0	55164	97,82%	0,00%	0,21%	1,97%	27
		T=24h	Témoin MP	24,9	18724780	0	118179	71,62%	0,00%	0,45%	27,92%	29
			Essai PF	1062,6	22266041	0	291924	86,30%	0,00%	1,13%	12,57%	30
Dégradation Oxidative	Ambiante	T0	Témoin MP	24,4	25046128	54463	0	97,77%	0,21%	0,00%	2,02%	39
			Essai PF	1062,7	25830190	104825	0	100,11%	0,41%	0,00%	0,00%	40
		T=3h	Témoin MP	24,4	25188394	63036	22227	98,32%	0,25%	0,09%	1,35%	42
			Essai PF	1062,7	25913802	108898	0	100,43%	0,42%	0,00%	0,00%	43
	T=24h	Témoin MP	24,4	25457209	66588	0	99,37%	0,26%	0,00%	0,37%	45	
		Essai PF	1062,7	26116340	117744	0	101,22%	0,46%	0,00%	0,00%	46	
	Chauffage à Reflux	T0	Témoin MP	25,6	26512073	48290	0	98,64%	0,18%	0,00%	1,18%	48
			Essai PF	1063,0	25732845	98126	0	99,70%	0,38%	0,00%	0,00%	49
T=3h		Témoin MP	25,6	17998858	5884730	82189	66,96%	21,89%	0,31%	10,84%	51	
		Essai PF	1063,0	9959526	10466842	48013	38,59%	40,55%	0,19%	20,67%	52	
Chaleur sèche	~ 105°C	T0	Témoin MP	25,1	25864098	73355	0	98,14%	0,28%	0,00%	1,58%	32
			Essai PF	1062,6	8542267	3462246	334746	33,11%	13,42%	1,30%	52,17%	33
Photodégradation	Ambiante	T0	Témoin MP	25,1	26084165	44766	0	98,98%	0,17%	0,00%	0,85%	35
			Essai PF	1062,6	25492055	122708	0	98,81%	0,48%	0,00%	0,72%	36

2.3. Validation analytique :**2.3.1. Dosage du glimépiride par HPLC:***2.3.1.1. Spécificité :*

Voir les Chromatogrammes 4, 5, 6, 53.

2.3.1.2. Linéarité :

Tableau VII. Résultats de la linéarité de la méthode du dosage de Glimépiride par HPLC.

Solution	% Théorique de Glimépiride	Quantité pesée (théorique) de Glimépiride en mg (x)	Quantité mesurée (expérimentale) de Glimépiride en mg (y)
Témoin 1	70%	17,7	17,825
		17,7	17,764
		17,7	17,785
Témoin 2	85%	22,3	22,301
		22,3	22,319
		22,3	22,445
Témoin 3	100%	26,9	26,855
		26,9	26,936
		26,9	27,086
Témoin 4	115%	29,4	29,554
		29,4	29,330
		29,4	29,337
Témoin 5	130%	34,1	34,102
		34,1	34,074
		34,1	34,099

On établit la régression linéaire et l'analyse des résidus avec le logiciel Microsoft® Excel® version 2007. Les résultats obtenus sont les suivants :

Tableau VIII. Résultats de l'analyse de la régression linéaire pour l'étude la linéarité du dosage de Glimépiride.

RAPPORT DÉTAILLÉ

<i>Statistiques de la régression</i>	
Coefficient de détermination multiple	0,999919134
Coefficient de détermination R ² (**)	0,999838274
Coefficient de détermination R ²	0,999825833
Erreur-type	0,076941917
Observations	15

ANALYSE DE VARIANCE

	<i>Degré de liberté</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Valeur critique de F</i>
Régression	1	475,7935512	475,7935512	80369,7363	4,94002E-26
Résidus	13	0,076960762	0,005920059		
Total	14	475,8705119			

	<i>Coefficients</i>	<i>Erreur-type</i>	<i>Statistique t</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Limite inférieure pour seuil de confiance = 95%</i>	<i>Limite supérieure pour seuil de confiance = 95%</i>
Constante <i>b</i> (*)	0,197830609	0,093572862	2,11418785	0,05439248	-0,00432127	0,399982488
Pente <i>a</i> (*)	0,993969941	0,003506122	283,4955667	4,94E-26	0,986395426	1,001544456

(*) Pour une droite désignée par l'équation : $y=ax+b$

(**): Cette valeur est celle du coefficient de corrélation linéaire r_p^2 , avec:

$$r_p = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2}}$$

x_i : est dans notre cas la valeur individuelle de la quantité de Glimépiride pesée.

y_i : est la valeur individuelle de la quantité de Glimépiride mesurée (expérimentale).

N : nombre d'observations (15).

Tableau IX. Résultats de l'analyse des résidus de la régression linéaire pour l'étude la linéarité du dosage de Glimépiride.

ANALYSE DES RÉSIDUS		
Observation	Prévisions pour Y	Résidus
1	17,79109856	0,033901438
2	17,79109856	-0,027598562
3	17,79109856	-0,006098562
4	22,36336029	-0,06286029
5	22,36336029	-0,04436029
6	22,36336029	0,08113971
7	26,93562202	-0,080622018
8	26,93562202	-0,000122018
9	26,93562202	0,149877982
10	29,42054687	0,13345313
11	29,42054687	-0,09104687
12	29,42054687	-0,08354687
13	34,09220559	0,009794408
14	34,09220559	-0,018205592
15	34,09220559	0,006294408

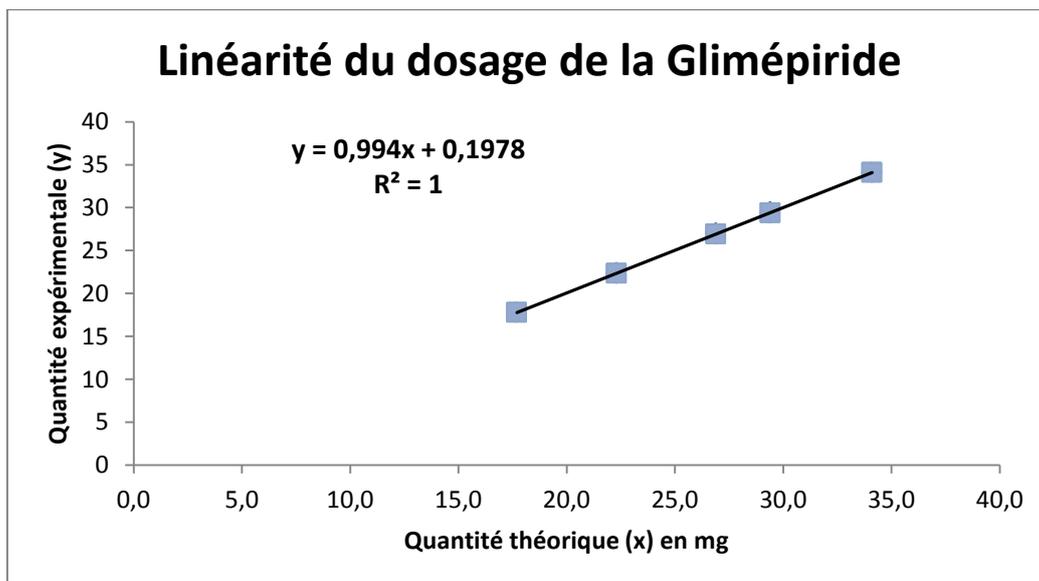


Figure 12. Courbe de tendance montrant la variation de la quantité de Glimépiride mesurée par notre méthode analytique en fonction de des quantités théoriques pesées.

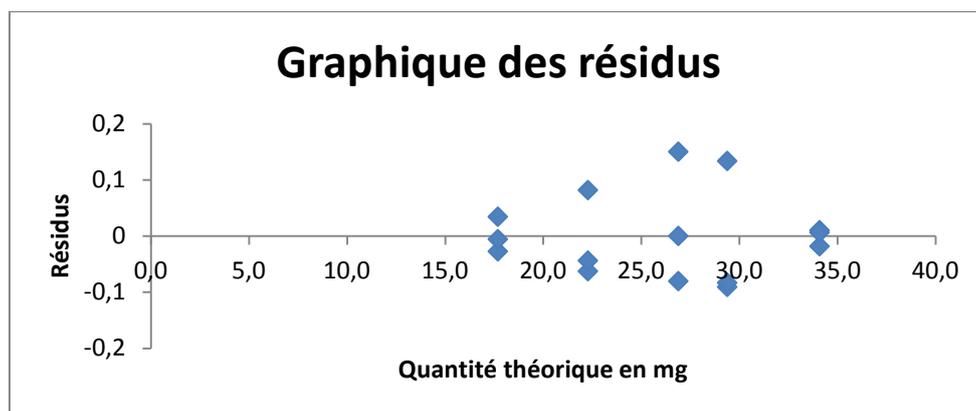


Figure 13. Graphique montrant la répartition des résidus (différences) par rapport à la quantité de Glimépiride pesée.

2.3.1.3. Exactitude :

Tableau X. Résultats de l'étude de l'exactitude du dosage de glimépiride.

Nombre d'essais	Nombre de séries	% Théorique de Glimépiride	Pourcentages de recouvrements obtenus
1	1	70%	100,0%
2			101,0%
3			101,8%
4	2	100%	101,2%
5			99,6%
6			98,3%
7	3	130%	99,7%
8			100,2%
9			99,2%
		Moyenne	100,1%
		CV%	1,08%

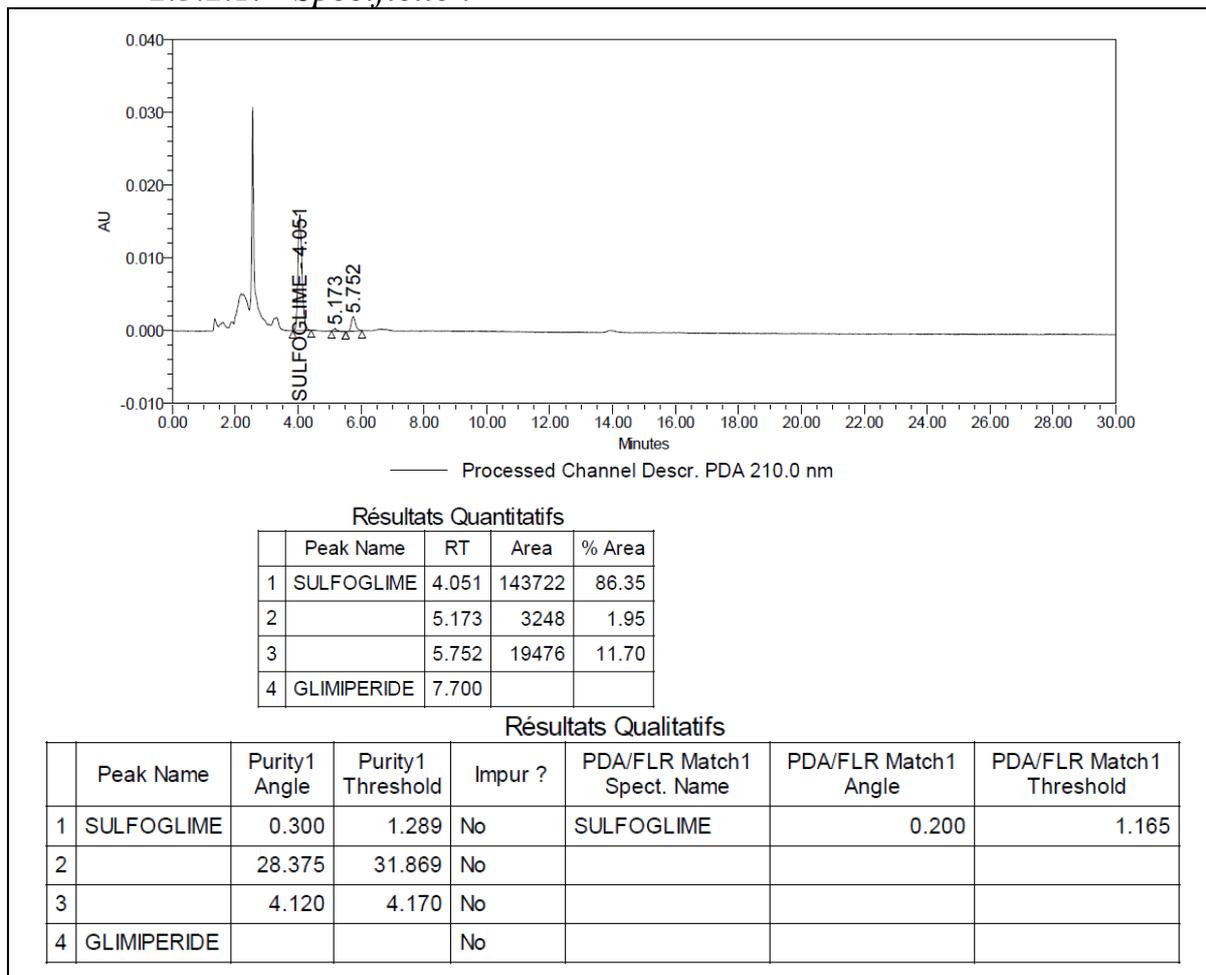
2.3.1.4. Fidélité :

Le coefficient de variation (CV) de fidélité intermédiaire est égal à 1.95%.

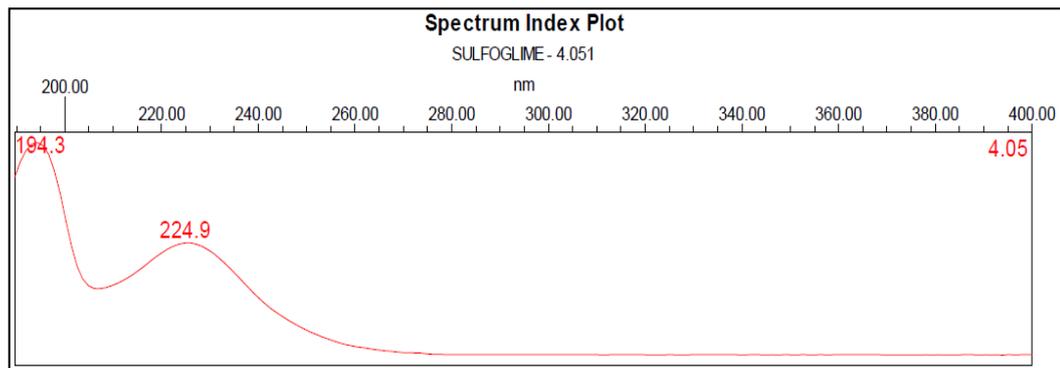
Le CV de répétabilité est de 1.12%.

2.3.2. Dosage de la Sulfo-glime par HPLC:

2.3.2.1. Spécificité :



Chromatogramme 53. Résultat de l'analyse du témoin de Sulfo-glime.



Spectre 33. Absorption UV de l'élément de l'analyse du témoin de Sulfo-glime.

2.3.2.2. Limite de détection

La limite de détection des impuretés inconnues déterminée lors de la validation analytique est de 0.02%.

La limite de détection du Sulfoglime déterminée lors de la validation analytique est de 0.01%.

2.3.2.3. Limite de Quantification

La limite de quantification correspond à 3,33 fois la limite de détection. Elle est estimée, donc, à environs :

- 0.08% pour les impuretés inconnues.
- 0.04% pour la sulfoglime.

2.3.2.4. Linéarité du dosage de Sulfoglime :

Cinq concentrations réparties sur l'intervalle d'étude [0,05% à 2,0% de la teneur théorique de sulfoglime] ont été préparées selon la méthode de validation citée auparavant. Chaque concentration a été injectée trois fois :

Tableau XI. Résultats de la linéarité de la méthode du dosage de Sulfoglime par HPLC.

Solution	% Théorique de Glimépiride	Quantité théorique de Sulfoglime en mg (x)	Quantité mesurée (expérimentale) de Sulfoglime en mg (y)
Témoin 1	0,05%	0,0001	0,000088
		0,0001	0,0000895
		0,0001	0,0000871
Témoin 2	0,50%	0,0013	0,00119654
		0,0013	0,0012018
		0,0013	0,0012092
Témoin 3	1,00%	0,0026	0,0024928
		0,0026	0,0025039
		0,0026	0,002519
Témoin 4	1,50%	0,0036	0,0035828
		0,0036	0,0035954
		0,0036	0,0036087
Témoin 5	2,00%	0,0049	0,00486993
		0,0049	0,0048177
		0,0049	0,0048388

On établit la régression linéaire et l'analyse des résidus avec le logiciel Microsoft® Excel® version 2007. Les résultats obtenus sont les suivants :

Tableau XII.Résultats de l'analyse de la régression linéaire pour l'étude la linéarité du dosage de Sulfoglime.

RAPPORT DÉTAILLÉ*Statistiques de la régression*

Coefficient de détermination multiple	0,99969947
Coefficient de détermination R^2	0,99939903
Coefficient de détermination R^2	0,9993528
Erreur-type	4,4335E-05
Observations	15

ANALYSE DE VARIANCE

	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Valeur critique de F
Régression	1	4,2493E-05	4,2493E-05	21618,5841	2,50782E-22
Résidus	13	2,5553E-08	1,9656E-09		
Total	14	4,2519E-05			

	Coefficients	Erreur-type	Statistique t	Probabilité	Limite inférieure pour seuil de confiance = 95%	Limite supérieure pour seuil de confiance = 95%
Constante b	-5,1895E-05	2,049E-05	-2,53272545	0,02499586	-9,616E-05	-7,62947E-06
Pente a	0,9994532	0,00679749	147,032595	2,5078E-22	0,984768109	1,014138295

Tableau XIII. Résultats de l'analyse des résidus de la régression linéaire pour l'étude la linéarité du dosage de Sulfoglime.

ANALYSE DES RÉSIDUS			
<i>Observation</i>		<i>Prévisions pour Y</i>	<i>Résidus</i>
	1	4,80506E-05	3,99494E-05
	2	4,80506E-05	4,13994E-05
	3	4,80506E-05	3,89994E-05
	4	0,001247394	-5,08504E-05
	5	0,001247394	-4,55944E-05
	6	0,001247394	-3,81944E-05
	7	0,002546684	-5,38836E-05
	8	0,002546684	-4,27836E-05
	9	0,002546684	-2,76836E-05
	10	0,003546137	3,66632E-05
	11	0,003546137	4,92632E-05
	12	0,003546137	6,25632E-05
	13	0,004845426	2,4504E-05
	14	0,004845426	-2,7726E-05
	15	0,004845426	-6,62595E-06

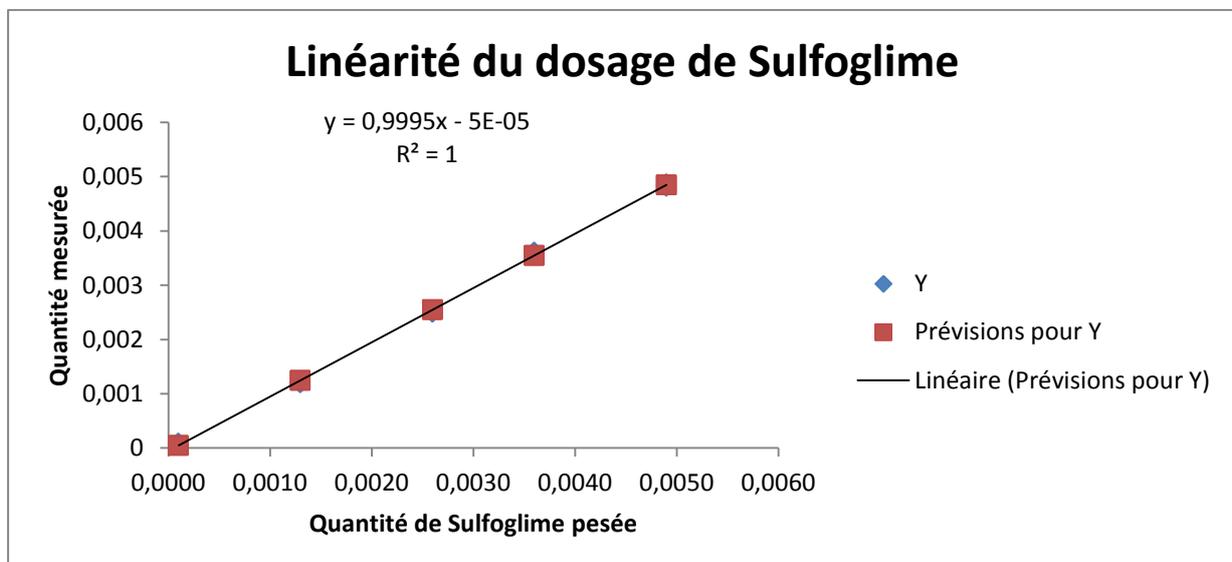


Figure 14. Courbe de tendance montrant la variation de la quantité de Sulfoglime mesurée par notre méthode analytique en fonction de des quantités théoriques pesées.

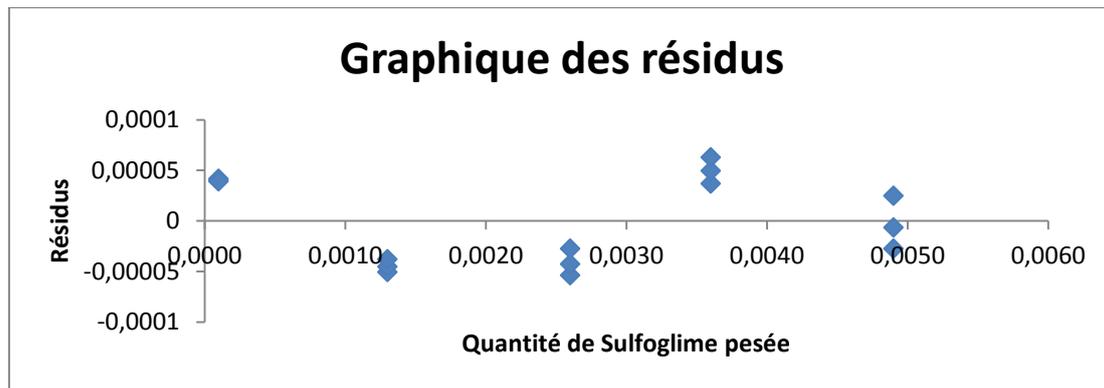


Figure 15. Graphique montrant la répartition des résidus (différences) par rapport à la quantité de Sulfoglime pesée.

2.3.2.5. Exactitude du dosage de Sulfoglime :

Tableau XIV. Résultats de l'étude de l'exactitude du dosage de Sulfoglime

Nombre d'essais	Nombre de séries	% Théorique de Sulfoglime	Pourcentages de recouvrement obtenus
1	1	0.05%	88,0
2			89,5
3			87,1
4	2	1.00%	95,9
5			96,3
6			96,9
7	3	2.00%	99,4
8			98,3
9			98,8
		Moyenne	94,45
		CV%	5,17%

3. Discussion

Les résultats des études de dégradation forcée montrent que le glimépiride est une molécule instable dans les conditions hydrolytiques. Cette instabilité devient accrue dans le milieu acide et sous l'effet de la chaleur, spécialement pour la matière première. Le PF confère, relativement, plus de stabilité à la molécule vis à vis des conditions hydrolytiques dans les différents pH selon les résultats obtenus dans les tests d'hydrolyse neutre, acide et basique. Concernant la dégradation oxydative, les tests indiquent une certaine stabilité de la molécule vis-à-vis de l'effet du peroxyde d'hydrogène quand la réaction n'est pas induite par la chaleur. Mais d'après les résultats du test de dégradation oxydative sous chauffage à reflux, la molécule devient beaucoup plus sensible à l'effet de dégradation autant dans l'état de matière première que dans l'état du produit fini. Nous constatons aussi que le glimépiride est pratiquement stable sous l'effet de la photodégradation à la lumière du soleil. Le glimépiride à l'état MP est aussi stable sous l'effet de la chaleur sèche. Cependant, le PF est très instable sous cet effet et le test engendre une dégradation qui dépasse largement les 30%.

Le produit de dégradation majeur est le sulfoglime (Glimépiride sulphonamide) qui est aussi une impureté de synthèse du glimépiride. Les proportions des autres impuretés de dégradation détectées ne sont pratiquement pas significatives à l'exception du cas de l'hydrolyse basique, mais les taux des dégradations non détectés par notre méthode deviennent importants dans les tests d'hydrolyse neutre, acide et basique, mais aussi dans le test de la dégradation oxydative et le test de la chaleur sèche pour le PF. Cependant, en établissant le bilan massique, nous avons pu calculer mathématiquement certains de ces taux. (Cf. Tableau VI)

Comme il a été précis dans son introduction, cette étude pratique a atteint ce qu'elle avait fixé comme objectif, à savoir, de quérir des informations à

propos du comportement du Glimépiride, aussi bien à l'état de MP qu'à l'état de PF, en exposant les échantillons à différents types de stress : photodégradation, dégradation oxydative, haute température et hydrolyse neutre, acide et basique. Ces informations viennent dans le cadre de la validation du processus industriel, pour former l'assise sur laquelle nous allons déterminer les points d'intervention au niveau de la ligne du développement pour garantir une durée de vie maximale pour le produit.

La méthodologie générale du travail pratique est appliquée selon la technique contrôle qualité du Glimépiride 4mg extraite du DMF de la MP, rédigée et vérifiée par les analystes de validation et approuvée par le Directeur Contrôle Qualité du laboratoire hôte. Cette technique est une amélioration de la méthodologie proposée par la pharmacopée européenne pour le dosage de glimépiride.

Seule l'impureté B (Sulfoglime ou Glimépiride sulphonamide) est prise en considération au niveau du DMF pour la validation du dosage des substances apparentées et pour les tests de stress. Néanmoins, nous avons préparé des échantillons de l'impureté A et de l'impureté D (les impuretés mentionnées au niveau de la monographie du glimépiride dans la technique du dosage des substances apparentées). Ceci dans le seul but d'alimenter la bibliothèque du système informatique de traitement des données chromatographiques par les spectres UV de ces substances. Les spectres UV du glimépiride et du sulfoglime ont été répertoriés lors de la validation analytique réalisée au préalable par les analystes du laboratoire.

3.1. Ajustement de la méthode

La méthode de dégradation forcée proposée sur le DMF a été ajustée en fonction des exigences expérimentales rencontrées. Pour les tests d'hydrolyse

neutre, acide et oxydative, il a été impossible de dissoudre 100mg de glimépiride dans 50mL du mélange (eau, HCl 0.5N ou H₂O₂)/THF 50:50 V:V. La diminution au ¼ de la quantité de glimépiride proposé s'est avéré efficace. Les résultats obtenus en appliquant la méthode ajustée ont été significatifs. Concernant l'hydrolyse basique, à part l'impossibilité de dissoudre 100mg de glimépiride dans 50 mL du mélange KOH 0.25/THF 50 :50 V :V. Le solvant de dissolution composé par ce mélange a présenté un aspect non homogène ce qui a imposé l'ajustement de cette méthode.

A premier abord, nous avons procédé à la diminution de la quantité de glimépiride au ¼, ce qui nous a permis d'obtenir une bonne dissolution de l'échantillon dans le solvant basique. Cependant, le résultat (Chromatogramme 1) obtenu a montré un pic de glimépiride pur mais asymétrique (facteur de symétrie égal à 1.518 > 1.5). Nous savons d'après la pharmacopée et d'après la structure chimique du glimépiride que cette molécule présente le phénomène de polymorphisme. Ce résultat obtenu est peut être dû à l'existence de deux formes de glimépiride en équilibre dans la solution dont les temps de rétention sont très approché, ce qui cause une fusion de deux pics croisés ou peut être aussi à l'aspect non homogène du solvant (miscibilité partielle entre les deux composants).

Nous avons, ensuite, augmenté la concentration de KOH à 0.5N et modifié les proportions des composants du solvant jusqu'à obtention d'une miscibilité parfaite et ainsi d'un aspect clair et homogène du solvant. La quantité de glimépiride a été bien dissoute dans le solvant, les résultats (Cf. paragraphe 2.2.2.5) ont montré que le pic redevient symétrique, et les proportions de dégradation ont été significatives.

Le changement de la masse de glimépiride à peser à 25mg a été appliqué dans le reste des conditions de stress.

3.2. Phase mobile et échantillons non dégradés

Le Chromatogramme 2 montre que le bruit causé par les composantes de la phase mobile lors de l'analyse est négligeable, et que la ligne de base est droite et ne présente aucun pic.

Sur le Chromatogramme 3, on constate la présence d'un pic dont le temps de rétention est de 5.6 min, ce pic est présent sur tous les chromatogramme ou le solvant de dissolution est composé de Méthanol/Acétonitrile 50 :50 V :V. La ligne de base n'apparaît pas droite à cause de l'échelle très agrandie au niveau de l'axe des absorbances (AU) sur le chromatogramme. Dans l'échelle normale (comme le montrent les chromatogrammes suivants) la ligne de base est droite et parfaitement horizontale, et le bruit engendré par le solvant et la phase mobile est négligeable à partir de la 4^{ème} minute du Temps de rétention (Tr) à l'exception du pic du solvant à $Tr_{\text{solvant}} = 5.6 \text{ min}$.

L'analyse du témoin non dégradé (Chromatogramme 4) montre un pic pur de glimépiride à $Tr = 7.5 \text{ min}$ (% de l'aire du pic = 99.79%) et d'un petit pic impur de sulfoglime ($Tr = 4.1 \text{ min}$; % de l'aire du pic = 0.21%). Ce dernier étant une impureté de synthèse, on le trouve aussi sur les standards de référence fraîchement préparés. La matière première est conforme à la pharmacopée lorsque la proportion de sulfoglime est inférieure à 0.40% par rapport à la quantité totale de glimépiride.

L'analyse du placebo (Chromatogramme 5) ne présente aucun pic à partir de $Tr = 4 \text{ min}$.

L'analyse de l'essai dégradé (Chromatogramme 6) présente un aspect semblable à celui du témoin à partir de la 4^{ème} min de Tr. Le pourcentage de sulfoglime est de 0.4% ce qui est à la limite du critère de conformité.

3.3. Tests de stress

3.3.1.1. Hydrolyse neutre

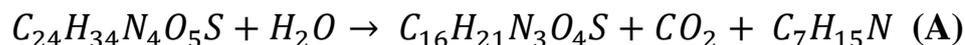
Le blanc eau/THF présente un pic à $T_r=4.49\text{min}$. (Chromatogramme 7)

Le placebo dégradé en milieu neutre à T_0 montre un pic à $T_r=8.8\text{min}$ en plus du pic de son solvant de dissolution (Chromatogramme 8). Ces deux pics ne seront pas tenus en compte lors du calcul du pourcentage de dégradation.

La dégradation neutre (pages 61, 65) montre, une dégradation accrue du témoin et donne deux pic purs de glimépiride et de sulfoglime à $T=3\text{h}$. Le taux de glimépiride diminue de moitié (jusqu'à atteindre 49,19%) avec une nette augmentation du taux de sulfoglime (35.97%) avec 14.84% de dégradation non détectée. Aucune autre impureté n'est au dessus de 0.10%. Le même phénomène s'est déroulé pour l'essai dégradé mais de façon moins drastique. D'ailleurs le pourcentage de dégradation a été de 30,1% qui est la limite optimale pour l'étude du stress testing. D'après ces résultats, on peut déduire que **l'hydrolyse aqueuse favorise la transformation du glimépiride en sulfoglime par clivage**. Le sulfoglime étant le dernier précurseur de la synthèse réagissant avec le trans-méthylcyclohexyl isocyanate pour former le glimépiride.³⁸

La réaction de clivage est donc (comme indiquée sur le DMF) :⁵

Glimépiride + eau → sulfoglime + dioxyde de carbone + trans – méthylcyclohexylamine



Le trans-méthylcyclohexylamine (t-MCA) ne peut être détecté à cause de l'absence de structure qui absorbe dans les longueurs d'ondes UV dans la molécule. Cependant en se basant sur de la formation équimolaire du sulfoglime, CO_2 et le t-MCA, et la relation de proportionnalité linéaire entre la quantité de matière formée et son taux en pourcentage, les taux du CO_2 et du t-MCA seront calculés à partir du taux de sulfoglime formé en fonction de leurs masses moléculaires :

$$\frac{\%sulfoglime}{M(sulfoglime)} = \frac{\%CO_2}{M(CO_2)} = \frac{\%t - MCA}{M(t - MCA)}$$

Ainsi on calcule la fraction qui manque pour établir le bilan massique.(Tableau XV)

Tableau XV. Tableau de test du bilan massique pour le témoin dégradé par hydrolyse neutre à T=3h

Elément	TD 3h/110 °C
Σ des % des autres impuretés détectées	0%
%sulfoglime (expérimental)	35,97%
%CO ₂ (calculé)	4,50%
%t-MCA (calculé)	11,59%
%Glimépiride théorique = 100%-somme des % des impuretés	47,94%
%glimépiride (expérimental)	49.19%
% de dégradation non détectée = AMBD (Tableau VI)	14,84%

Nous remarquons qu'il n'y a pas de différence significative entre la quantité de glimépiride calculée théoriquement à partir de la somme des taux de sulfoglime, CO₂ et t-MCA et le taux de glimépiride obtenu expérimentalement (Tableau VI). Mais aussi : **%Dégradation non détectée ~ %CO₂+%t-MCA**

On déduit donc que la sommation mathématique basé sur le schéma de dégradation mentionné dans l'équation (A) correspond à la fraction manquante du bilan massique (dégradation non détectée).

En suivant le même algorithme, on arrive aux mêmes déductions pour l'essai dégradé par hydrolyse neutre à T=3h :

Tableau XVI. Tableau de test du bilan massique pour l'essai dégradé par hydrolyse neutre à T=3h.

Elément	TD 3h/110 °C
Σ des % des autres impuretés détectées	0%
% sulfoglime (expérimental)	22,19%
% CO ₂ (calculé)	2,78%
% t-MCA (calculé)	7,15%
% Glimépiride théorique = 100%-somme des % des impuretés	67,88%
% glimépiride (expérimental)	69,44%
% de dégradation non détectée=AMBD (Tableau VI)	8,38%

De même %glimépiride théorique ~ %glimépiride (expérimental)

Et $AMBD \sim \%CO_2 + \%t-MCA$

On peut enfin déduire que la formulation du PF protège relativement la molécule de glimépiride une certaine stabilité vis-à-vis de l'hydrolyse aqueuse.

3.3.1.2. Hydrolyse acide

Le produit de dégradation majeur obtenu par le test de stress par hydrolyse acide est le sulfoglime qui dépasse le taux de 40% pour le témoin dégradé à T=3h, 25% pour l'essai dégradé (pages 66-72).

Le schéma réactionnel explicité par l'équation (A) (Cf. paragraphe 3.3.1.1) se reproduit dans l'hydrolyse acide. L'acidité induit la réaction de façon à plus orienter la dégradation vers la formation du sulfoglime :

Tableau XVII. Tableau de test du bilan massique pour le témoin dégradé par hydrolyse acide à T=3h.

Elément	TD 3h/110 °C
Σ des % des autres impuretés détectées	0%
% sulfoglime (expérimental)	39,59%
% CO ₂ (calculé)	4,96%
% t-MCA (calculé)	12,75%
% Glimépiride théorique = 100%-somme des % des impuretés	42,70%
% glimépiride (expérimental)	45,54%
% de dégradation non détectée=AMBD (Tableau VI)	14,87%

%glimépiride théorique ~ %glimépiride (expérimental)

Et **AMBD~ %CO₂ + %t-MCA**

De même pour l'essai dégradé :

Tableau XVIII. Tableau de test du bilan massique pour l'essai dégradé par hydrolyse acide à T=3h.

Elément	TD 3h/110 °C
Σ des % des autres impuretés détectées	0%
% sulfoglime (expérimental)	27,84%
% CO ₂ (calculé)	3,49%
% t-MCA (calculé)	8,97%
% Glimépiride théorique = 100%-somme des % des impuretés	59,70%
% glimépiride (expérimental)	61,51%
% de dégradation non détectée=AMBD (Tableau VI)	10,65%

On déduit donc que la sommation mathématique basé sur le schéma de dégradation mentionné dans l'équation (A) correspond à la fraction manquante du bilan massique (dégradation non détectée).

On peut aussi déduire que la formulation du PF protège relativement la molécule de glimépiride vis-à-vis de l'hydrolyse acide.

3.3.1.3. Hydrolyse basique

Le produit de dégradation majeur détecté au cours de l'hydrolyse basique est une impureté inconnue située à $T \sim 4.5$ min (pages 73-81). Nous remarquons que la dégradation du témoin commence immédiatement à T_0 avec un taux de glimépiride de 92,33%.

Pour les témoins (à $T_{0,3h}$ et $24h$), le pic de l'impureté n'est pas reconnu. Pour les essais, le pic de l'impureté **inconnue** est étiqueté en tant que sulfoglime à cause de son T_r très proche de celui du sulfoglime dans les autres essais. Néanmoins, le pic est impur et son spectre UV est différent de celui du sulfoglime obtenu dans les différents autres essais. Ce qui pousse à déduire qu'il s'agit d'un problème d'intégration de la surface du pic. D'autant plus si l'on sait que le milieu basique inhibe la formation du sulfoglime à partir du glimépiride, car c'est une réaction qui nécessite la présence de H^+ pour se dérouler.⁵

Tableau XIX. Tableau de test du bilan massique pour le témoin dégradé par hydrolyse basique à $T=3h$ et à $T=24h$.

Elément	3h	24h
% sulfoglime (expérimental)	0%	0%
Σ des % des autres impuretés détectées ($T_r=4.5$)	0,27%	0,45%
% Glimépiride théorique = 100% - somme des % des impuretés	99,73%	99,55%
% glimépiride (expérimental)	87,15%	71,62%
% Glimépiride théorique - % glimépiride (expérimental)	12,58%	27,93%
% de dégradation non détectée = AMBD (Tableau VI)	12,58%	27,92%

%Glimépiride théorique - %glimépiride (expérimental) = % de dégradation non détectée

Nous constatons qu'il y a une quantité de la matière formée lors du test qui n'est pas détecté correspondant à une perte de plus de 10% à 3h de réaction, et qui augmente à environs 30% après 24h. Nous constatons aussi que cette quantité de matière non détectée correspond à la différence entre le taux de glimépiride théorique et le taux de glimépiride expérimental. On déduit, donc, que cette perte est composée d'une ou de plusieurs impuretés de dégradation du glimépiride sous l'effet de l'hydrolyse basique et que ces impuretés ne peuvent être détectée par notre méthode pour les éventuelle raisons suivantes :

- Dans le cas où ces nouvelles structures contiennent des groupements chromophore, deux hypothèses se posent:
 - Soit la méthodologie générale de notre travail ne permet pas de détecter ces nouvelles impuretés de manière spécifique : le couple phase mobile/solvant ne permet pas son élution, ou la colonne n'est pas convenable pour ce faire (Temps de rétention supérieur à 30 min ou inférieur à 4min).
 - Soit la longueur d'onde d'extraction du chromatogramme n'est pas adéquate au spectre d'absorption de ces structures.
 - Soit on devrait soupçonner un problème technique dans le détecteur UV/Visible.
- Dans le cas où ces nouvelles structures n'absorbent pas en UV : il se peut que la condition de stress appliquée dégrade les impuretés de dégradation obtenues avant qu'elles ne soient analysées vers des composants indétectables par spectroscopie UV.

Dans tous les cas, un couplage HPLC-PDA-MS s'avère d'une utilité pour élucider cette perte.

Tableau XX. Tableau de test du bilan massique pour l'essai dégradé par hydrolyse basique à T=3h et à T=24h.

Elément	3h	24h
% sulfoglime (expérimental)	0%	0%
Σ des % des autres impuretés détectées (Tr=4.5min)	0.21%	1.13%
% Glimépiride théorique = 100%-somme des % des impuretés	99,79%	98,87%
% glimépiride (expérimental)	97.82%	86.30%
% Glimépiride théorique - % glimépiride (expérimental)	1,97%	12,57%
% de dégradation non détectée=AMBD (Tableau VI)	1.97%	12.57%

$$\% \text{Glimépiride théorique} - \% \text{glimépiride (expérimental)} = \text{AMBD}$$

Les mêmes constatations et déduction faite pour le témoin dégradé en milieu basique peuvent être conclues dans le cas de l'essai dégradé. A signaler que ces résultats prouvent aussi que la formulation du produit fini protège la molécule de glimépiride de la dégradation par hydrolyse basique.

3.3.1.4. Dégradation oxydative

Les résultats obtenus (pages 90-105) montrent que le glimépiride est relativement stable dans les conditions d'oxydation avec une très petite augmentation des impuretés après 24h en solution avec le peroxyde d'hydrogène. Cependant, quand la solution est chauffée à 110°C sous reflux pendant 3 heures, nous obtenons une dégradation importante, ayant comme produit de dégradation essentiel le sulfoglime.

Puisque la Mass Balance n'est visiblement pas équilibrée dans le deuxième cas (chauffage à reflux) (voir Tableau VI), on procède à la méthode de calcul appliquée dans le schéma réactionnel de formation du sulfoglime à partir du glimépiride (équation (A)).

$$\frac{\%sulfo\text{glime}}{M(\text{sulfo\text{glime}})} = \frac{\%CO_2}{M(CO_2)} = \frac{\%t - MCA}{M(t - MCA)}$$

Tableau XXI. Tableau de test du bilan massique pour le témoin dégradé par oxydation à T=3h.

Elément	TD 3h/110 °C
Σ des % des autres impuretés détectées (Tr=5.3min)	0,31%
%sulfo\text{glime} (expérimental)	21,89%
%CO ₂ (calculé)	2,74%
%t-MCA (calculé)	7,05%
%Glimépiride théorique = 100%-somme des % des impuretés	68,01%
%glimépiride (expérimental)	66,96%
% de dégradation non détectée=AMBD(Tableau VI)	10,84%

%glimépiride théorique ~ %glimépiride (expérimental)

Et **AMBD ~ %CO₂ + %t-MCA**

De même pour l'essai dégradé :

Tableau XXII. Tableau de test du bilan massique pour l'essai dégradé par oxydation à T=3h.

Elément	TD 3h/110 °C
Σ des % des autres impuretés détectées (Tr=5.3min)	0,19%
%sulfo\text{glime} (expérimental)	40,55%
%CO ₂ (calculé)	5,08%
%t-MCA (calculé)	13,06%
%Glimépiride théorique = 100%-somme des % des impuretés	41,12%
%glimépiride (expérimental)	38,59
% de dégradation non détectée=AMBD(Tableau VI)	20,67%

%glimépiride théorique ~ %glimépiride (expérimental)

Et **AMBD~ %CO₂ + %t-MCA**

On déduit donc que la sommation mathématique basé sur le schéma de dégradation mentionné dans l'équation (A) correspond à la fraction manquante du bilan massique (dégradation non détectée).

On déduit aussi que la formulation du PF fragilise relativement la molécule de glimépiride en induisant ou facilitant son oxydation.

3.3.1.5. Chaleur sèche

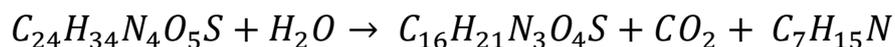
Les résultats obtenus (pages 85-87) montrent que le glimépiride est stable à l'état de matière première quand il est exposé à une haute température pendant 15 jours. A T=15 jours nous remarquons une augmentation minime et non significative du sulfoglime.

Contrairement à la MP, les résultats de l'analyse du PF dégradé à la chaleur sèche montre une dégradation considérable du glimépiride à T=15jours, et une formation de plusieurs impuretés inconnues en plus du sulfoglime comme impureté majeure de dégradation dans ces conditions et un pourcentage intéressant de dégradation non détectée (fraction manquante dans la Mass Balance). Les impuretés inconnues formées sont situées à :

Tr1= 4.5min (0.68%) ; Tr2= 8.9 min (0.31%); Tr3= 14.7min (0.30%)

Nous remarquons que les impuretés formées sont celles trouvée dans les conditions basiques et acides en plus de nouvelles fractions inconnues.

La réaction de la formation du sulfoglime à partir du glimépiride est (l'équation (A)):



Nous tenterons ainsi de définir la fraction de CO₂ et du t-MCA selon le principe de la formation équimolaire du sulfoglime, du CO₂ et du t-MCA :

Tableau XXIII. Tableau de test du bilan massique pour l'essai dégradé par chaleur sèche à T=15 jours.

Elément	TD 3h/110 °C
Σ des % des autres impuretés détectées	1,30%
% sulfoglime (expérimental)	13,42%
% CO ₂ (calculé)	1,68%
% t-MCA (calculé)	4,32%
% Glimépiride théorique = 100%-somme des % des impuretés	79,28%
% glimépiride (expérimental)	33,11%
% de dégradation non détectée (Tableau VI)	52,17%

%Glimépiride théorique - %glimépiride (expérimental) = AMBD =% de dégradation non détectée – (%CO₂+%t-MCA) = 46,17% (de perte)

Comme lors de l'analyse des résultats de dégradation en milieu basique, nous remarquons que la Mass Balance reste déséquilibrée à cause d'une perte de matière non détectée par notre méthode.

Un couplage HPLC-PDA/HPLC-MS s'avère d'une utilité pour élucider cette perte. (Voir le raisonnement et les hypothèses proposées en page 127)

Nous concluons aussi que la formulation du PF fragilise la molécule de Glimépiride vis-à-vis de la haute température, un ou plusieurs excipients induiraient peut être des réactions de dégradation par hydrolyse ou oxydation avec le principe actif.

3.3.1.6. Photodégradation

Il n'y a pas de changement significatif dans le profile des impuretés du glimépiride dégradé (MP ou PF) à T=15jours par rapport au profiles des échantillons non dégradés. La lumière n'affecte pas, donc, la stabilité du

glimépiride. Il n'est donc pas nécessaire d'inclure des notes à propos des conditions du stockage à ce propos.

3.4. Validation Analytique :

3.4.1. Dosage du glimépiride par HPLC

3.4.1.1. Spécificité :

Le témoin de glimépiride et l'essai présentent le même profil du chromatogramme.

Pas d'interférence entre le pic de glimépiride et le pic de sulfoglime.

Le placebo ne présente aucun pic dans le temps de rétention du glimépiride.

On conclut, donc, que la spécificité de la méthode est satisfaisante.

3.4.1.2. Linéarité

La méthode du dosage de glimépiride est linéaire, elle est validée par un coefficient de corrélation de **0.9998** et un histogramme de résidus petits et aléatoires. La droite $y = 0,994x + 0,1978$ passe par l'origine.

3.4.1.3. Exactitude

La méthode de dosage de glimépiride par HPLC est exacte, elle est validée par un pourcentage de **recouvrement moyen de 100,1%** et un **CV% de 1.09%** (inférieur à 2%).

3.4.1.4. Fidélité

La méthode de dosage de glimépiride par HPLC est fidèle, elle est validée par un CV de fidélité intermédiaire de 1.95% (inférieur à 2%) et un CV de répétabilité de 1,12%.

3.4.2. Dosage du sulfoglime par HPLC

3.4.2.1. Spécificité

Le témoin de glimépiride et l'essai présentent le même profil de chromatogramme.

Les temps de rétention du sulfoglime et du glimépiride montrent une bonne sélectivité.

Le placebo ne présente aucun pic ni dans le temps de rétention de glimépiride ni dans celui du sulfoglime.

La spécificité de la méthode est donc satisfaisante.

3.4.2.2. Linéarité

La méthode du dosage de sulfoglime est linéaire, elle est validée par un coefficient de corrélation de **0.9994** et un histogramme de résidus petits et aléatoires. La droite $y = 0,9995x - 5e^{-05}$ passe par l'origine.

3.4.2.3. Exactitude

La méthode de dosage de sulfoglime par HPLC est exacte, elle est validée par un pourcentage de **recouvrement moyen de 94,45%** et un **CV% de 5.17%**.

Conclusion

Ces différentes études nous ont permis d'avoir une idée claire sur le comportement chimique du glimépiride dans les conditions de stress.

Il s'agit d'une molécule stable vis-à-vis de l'effet de la lumière. Il n'est donc pas nécessaire d'utiliser un conditionnement spécial pour la protection contre l'effet de la lumière ni de préciser, à ce propos, des conditions spéciales de stockage. Cette conclusion devra être confirmée par une étude de photostabilité selon les spécifications de l'ICH-Q1B.¹¹

Le glimépiride est très sensible à l'hydrolyse sous l'effet de la chaleur à l'état de MP et la formulation du PF garantie plus de résistance à ce niveau.

Cette molécule présente aussi une résistance vis-à-vis de l'exposition à de hautes températures pendant de longues durées quand elle est à l'état de matière première. Cette propriété est, par contre, perdue au passage au PF.

La même chose est constatée concernant le comportement de la molécule au PF vis-à-vis de la dégradation oxydative induite par une haute température. Ceci est peut être dû à l'effet catalytique de l'oxydation que présente certains excipients utilisés dans la formulation de ce produit comme le stéarate de Magnésium qui, comme d'autres ions métalliques présents dans les formulations en état de traces, est connu par l'accélération de l'oxydation des substances actives,⁴³ surtout en la présence du PVP (polyvinyl pyrrolidone) dans la formule, substance contenant des taux considérables de peroxydes résiduels.⁴⁴ L'introduction d'antioxydant dans la formulation peut s'avérer être une bonne stratégie pour la stabilisation de la molécule.⁴³

Le glimépiride présente, quand même, une certaine résistance à l'oxydation à la température ambiante. On peut donc postuler que les conditions de stockage du PF devraient prendre en considération ces données. Une limitation de la température des entrepôts devrait être instaurée pour minimiser les risques de

catalyse des réactions d'oxydation entre les peroxydes résiduels et le principe actif en la présence des ions de Mg.

Le produit de dégradation majeur décelé par cette méthode est le sulfoglime. Mais d'autres schémas de dégradation existent dans les conditions d'hydrolyse basique. 5

Notre méthode n'a pas été capable de mettre en évidence de manière analytique certains des produits de dégradation, comme les impuretés inconnues engendrées par les conditions de stress en milieu basique, ou de la t-MCA. D'où l'intérêt d'instaurer de nouvelles méthodes de détection, comme le couplage avec la spectroscopie de masse (MS) ou la résonance magnétique nucléaire (NMR) pour la détermination de ces composés.

Cependant, grâce aux principes du bilan massique et de la formation équimolaire des produits de dégradation, nous avons pu calculer les proportions du t-MCA, produit de dégradation relié à la formation du sulfoglime à partir du glimépiride et qui ne peut être détecté par les méthodes d'HPLC conventionnelles.

Les tests de stress interviennent à toutes les phases du développement d'un produit et permettent un gain de temps et de ressources pour garantir plus d'innocuité et de stabilité aux produits pharmaceutiques. Les améliorations proposées fournissent une idée claire sur la stabilité et la fragilité de la molécule étudiée et indiquent les modifications à porter au niveau de la formulation, des méthodes d'analyse et des conditions de stockage optimales garantissant plus de qualité et de sécurité pour le patient.

Annexes

Annexe I. Protocole générale pour la réalisation des tests de stress pour la matière première et le produit fini.

Table 1 General Protocol for Forced Degradation Studies (Stress Testing) of Drug Substance and Drug Products

Condition	Drug substance		Drug product	
	Solid	Solution/ suspension	Solid (tablets, capsules, blends)	Solution (IV, oral suspension)
Acid/base		✓		X
Oxidative	X	✓	✓	✓
Photostability	✓	X	✓	✓
Thermal	✓		✓	✓
Thermal/humidity	✓		✓	

✓—recommended; X—optional, suggested for some compounds.

Annexe II. Rapport du suivi de la Température lors de l'étude du test de stress à la chaleur sèche.

Rapport du Suivi de Température												
Document : Saif04112009_162250						04/11/2009 16:47:10			1/1			
Société BOTTU Mme/M.LABO_MICROBIOLOGIE Rue ALLE DES CASUARINAS Code postal 20250 CASA Tél. 0522355350 Fax 0522356419						Ligne d'information 1 Ligne d'information 2 Indentification interne Numéro de série 10280934						
Enregistrement T°				Suivie de T°				1/1		Du		
Enregistreur N°		Valeurs enregistrées		Fréquence de mesure (Intervalle)		Du		Au		Fenêtre d'enregistrement		
10280934		2705		1 Secondes		04/11/2009 14:14:55		04/11/2009 14:59:59		00 Jours, 00:45:04		
Voie		Consigne mini.	Consigne maxi.	Min.	Max.	Moyenne	Variance	Ecart Std.	Diff. Max.	Période (Diff. Max.)	Durée supérieure au Max.	Durée sous Min.
■ 1 (Température)		80	120	102.1	106.7	104.8	1.5	1.2	4.6	0 00:39:40	0 00:00:00	0 00:00:00
Créé avec EBI Winlog 2000 Release 1.21 (c) 1998-2002 Ebro Electronic GmbH & Co. KG												

Résumé

Les tests de stress sont l'outil majeur à utiliser dans les buts de prévenir les problèmes de stabilité et d'identifier les produits et les schémas de dégradation au sein des produits pharmaceutiques. Ainsi, fournir des informations importantes pour le développement de formulations plus stable et qui garantissent plus d'innocuité, de qualité et d'efficacité pour le patient.

Le glimépiride est une molécule hypoglycémiante moderne qui appartient au groupe des dérivés de la sulfonylurée et qui est très utilisée dans le traitement du diabète non insulino dépendant.

Aucune étude de tests de stress effectuée sur le produit fini de glimépiride (Glimépiride 4mg) n'a été publiée. Le but de ce travail est d'étudier le comportement de cette molécule, à l'état de matière première et à l'état de produit fini, sous l'effet de différents types de stress (hydrolyse acide, neutre et basique, dégradation oxydative, thermolyse et photodégradation).

Cette étude nous a permis de définir les profils de dégradation de la matière première de glimépiride et de noter les avantages et les inconvénients qu'apporte la formulation du produit fini à la stabilité de cette molécule. Aussi, de souligner les marges des éventuelles améliorations à apporter dans le développement pharmaceutique du produit fini.

Abstract

Stress testing is the main tool used to prevent stability problems and identify degradation products and pathways in pharmaceutical products. Thus, it provides important information for the development of stable formulations ensuring more safety, quality and efficiency to the patient.

Glimepiride is a modern hypoglycemic molecule that belongs to sulfonylurea derivatives group and it's widely used in the treatment of Type 2 Diabetes Mellitus.

No studies of stress testing performed on the drug product of glimepiride (Glimepiride 4mg) were published yet. The aim of this work is, then, to study the behavior of this molecule in both its drug substance and drug product forms, under the effect of different types of stress (acid, neutral and basic hydrolysis, oxidative degradation, thermolysis and photodegradation).

This study allowed us to define the degradation profiles of the drug substance of glimepiride and note the molecule stability related advantages and disadvantages brought by the formulation of the drug product. Also highlight the margins of possible improvements in the pharmaceutical development line of the finished product.

ملخص

تعتبر اختبارات التحلل القسري الأداة الفعالة والرئيسية للوقاية من مشاكل استقرار تركيب المستحضرات الصيدلانية، وكذا التعرف على منتجات تحلل مكونات هذه المستحضرات وكيفية تكون هذه المنتجات. هذه الاختبارات تمنحنا بذلك معلومات مهمة لأجل تطوير تركيبات أكثر استقرارا وتضمن معايير أمان وجودة وفاعلية أفضل للمريض.

الغليمبيرايد هي جزيئة حديثة تخفض مستويات السكر في الدم وتنتمي للمجموعة الكيميائية لمشتقات السلفونيليوريا. وهي جزيئة مستعملة على نطاق واسع في علاج مرض السكري اللاوراثي (النوع الثاني).

لم يسبق أن تم نشر أي دراسة عن اختبارات تحلل قسري أجريت على المستحضر الصيدلاني للغليمبيريد (غليمبيريد 4 مغ). لذا فهدف هذا العمل هو دراسة سلوك هذه الجزيئة تحت تأثير ظروف التحلل القسري القاسية (التحلل في محاليل حامضية ومحايدة وقاعدية والتحلل عبر الأوكسدة والحرارة المرتفعة وتأثير الضوء) وذلك في حالتها المادة الخام والمستحضر الصيدلاني على حد سواء.

مكنتنا هذه الدراسة من التعرف على كيفية تحلل المادة الخام في الظروف الصعبة وكذا تحديد الميزات والمساوئ التي يساهم بها تركيب المستحضر الصيدلاني في استقرار هذه الجزيئة. وبذلك حددنا هوامش التحسين التي يمكن أن تطال تطوير تركيب المستحضر الصيدلاني.

Bibliographie

1. Baertschi SW. *Pharmaceutical Stress Testing*. 1st ed. Dekker M, ed.: Taylor & Francis Group, LLC; 2005.
2. Davis SN. The role of glimepiride in the effective management of Type 2 diabetes. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2004; 18(6): p. 367-376.
3. Massi-Benedetti M. Glimerpiride in type 2 diabetes mellitus: A review of the worldwide therapeutic experience. *Clinical Therapeutics*. 2003; 25(3): p. 799-816.
4. Kovariková P, Klimeš J, Dohnal J, Tisovská L. HPLC study of glimepiride under hydrolytic stress conditions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2004(36): p. 205-209.
5. Bansal G, Singh M, Jindal KC, Singh S. LC–UV–PDA and LC–MS studies to characterize degradation products of glimepiride. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2008; 48: p. 788–795.
6. International Conference on Harmonisation. *Stability testing of new drug substances and products*. Q1A(R2); 2003.
7. International Conference on Harmonisation. *Impurities in New Drug Products*. Q3B(R2); 2003.
8. International Conference on Harmonisation. *Impurities in New Drug Substances*. Q3A(R2); 2002.
9. Kats M. Biopharm International. [Online].; 2005. Available from: <http://biopharminternational.findpharma.com/biopharm/article/articleDetail.jsp?id=170505>.
10. Breton D, Brezillon C, Buret D, Camarade M, Castel F, Cosledan S, et al. Etudes de dégradation forcée au cours du développement pharmaceutique. *STP Pharma Pratiques*. 2007; 17(2): p. 89-99.
11. International Conference on Harmonisation. *Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products*. Q1B; 1996.
12. Kennon L. *Pharm Sci*. 1964; 7(53): p. 815-818.
13. Yang WH, Roy S. Projection of tentative expiry date from one-point accelerated stability testing. *Drug Dev Ind Pharm*. 1980; 6(6): p. 591-604.
14. Witthaus GB, Speiser P, eds. *Accelerated Storage Tests: Predictive Value*. In Elsevier, ed. *Topics in Pharmaceutical Sciences*.: North-Holland Biomedical; 1981. p. 275-290.

15. Davis JS. Criteria for Accelerated Stability Testing. In FDA/ASQC Seminar
16. Carstensen JT, Rhodes CT. Drug Stability: Principles and Practices. Third Edition, Revised and Expanded ed. Dekker M, ed.: Swarbrick JT New York; 1999.
17. Singh S, Bakshi M. Guidance on conduct of stress tests to determine inherent stability of drugs. *Pharma Technol Online*. 2000: p. 1-14.
18. Alsante KM, Friedmann RC, Hatajik TD, Lohr LL, Sharp TR, Snyder KD, Szczesny EJ. Degradation and impurity analysis for pharmaceutical drug candidates. In *Handbook of Modern Pharmaceutical Analysis. Separation Science and Technology* ed.: Ahuja S, Scypinski S, eds.; 2001. p. 85–172.
19. Reynolds DW, Facchine KL, Mullaney JF, M. Alsante K, D. Hatajik T, Motto MG. Available Guidance and Best Practices for Conducting Forced Degradation Studies. *Pharmaceutical technology*. 2002; 26(2): p. 48-56.
20. Alsante KM, Martin L, Baertschi SW. A Stress Testing Benchmarking Study. *Pharmaceutical technology*. 2003; 27(2): p. 60-72.
21. Klick S, Muijselaar PG, Waterval J, Eichinger T, Korn C, K. Gerding T, et al. Toward a Generic Approach for Stress Testing of Drug Substances and Drug Products. *Pharmaceutical Technology*. 2005; 29(2): p. 48-66.
22. Alsante KM, Ando A, Brown R, Ensing J, Hatajik TD. The role of degradant profiling in active pharmaceutical ingredients. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2007(59): p. 29–37.
23. International Conference on Harmonisation. Stability testing for new dosage forms. Q1C; 1998.
24. International Conference on Harmonisation. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. Q2(R1); 1999.
25. International Conference on Harmonisation. Guidance on Q6A Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances. Q6A; 2000.
26. Olsen BA, Baertschi SW. Strategies for investigation and control of process-related and degradation-related impurities in Pharmaceuticals Ahuja S, Alsante KM, eds. San Diego: Academic Press; 2003.
27. Kirschbaum JJ. Synergistic use of multiple assays and achievement of mass balance to validate analytical methods. *Trends Anal Chem*. 1988; 7: p. 16-20.
28. Riley CM, Rosanske TW, eds. Development and validation of analytical methods. In *Prog Pharm Biomed Anal.*: Pergamon Press; 1996.

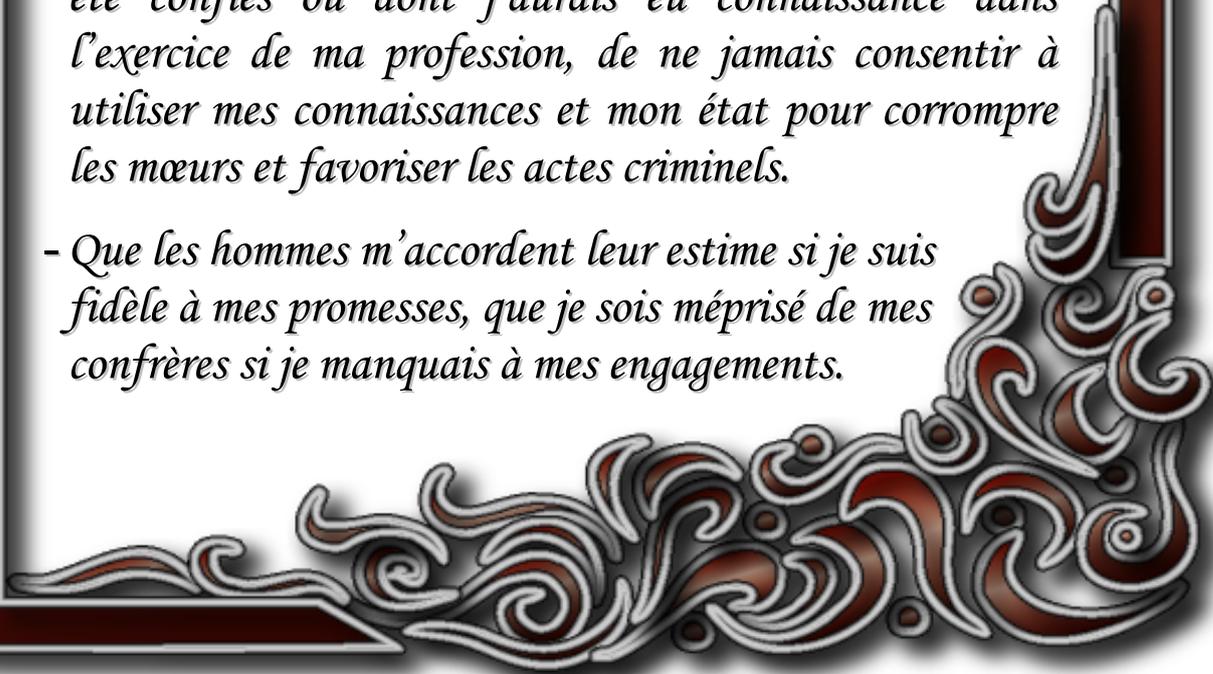
29. Conner KA, Amidon GL, Stella VJ. In *Chemical Stability of Pharmaceuticals—A Handbook for Pharmacists*. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons; 1986.
30. Baertschi SW. The role of stress testing in pharmaceutical product development. In *AAPS Midwest Regional Meeting*
31. Kappel C, Dills DG. Type 2 diabetes: update on therapy. *Comprehensive Therapy*. 1998(24): p. 319-326.
32. Rosenstock J, Samols E, Muchmore DB, Schneider J. Management of Type 2 diabetes mellitus in the elderly: special considerations. *Diabetes Care*. 1996(19): p. 1194-1199.
33. Kitabchi AE, Kaminska E, Fisher JN, Sherman A, Pitts K, Bush A, et al. Comparative efficacy and potency of long-term therapy with glipizide or glyburide in patients with Type 2 diabetes mellitus. *American Journal of the Medical Sciences*. 2000(319): p. 143-148.
34. The EDQM (Council of Europe). *European Pharmacopoeia v6,4*. 2008. CD-ROM.
35. US-National Library of Medicine (NLM). ChemIDplus Advanced. [Online]. Available from: <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/>.
36. Holstein A, Plaschke A, Egberts EH. Lower incidence of severe hypoglycaemia in patients with Type 2 diabetes treated with glimepiride versus glibenclamide. *Diabetes and Metabolism Research and Reviews*. 2001(17): p. 467-473.
37. BIAM. Glimépiride. [Online].; 2001. Available from: <http://www.biam2.org/www/Sub5151.html>.
38. Mubeen Ahmad Khan & al. LC determination of glimepiride and its related impurities. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2005; 39(Issue 5): p. 928-943.
39. Bansal G, Singh M, Jindal KC, Singh S. LC and LC-MS study on establishment of degradation pathway of glipizide under forced decomposition conditions. *Journal of Chromatographic Science*. 2008; 46(6): p. 510-517.
40. Bansal G, Singh M, Jindal KC, Singh S. Characterization of mass ionizable degradation products of gliclazide by LC/ESI-MS. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. 2008; 31(14): p. 2174-2193.
41. Laboratoire Hôte. *Technique PF Glimépiride 4 mg. TPF*. Casablanca:, CQ; 2009.

42. Laboratoire Hôte. Protocole de validation analytique du Glimépiride 4 mg comprimé. PVA. Casablanca:, Contrôle Qualité; 2009.
43. Yihong Q, Yisheng C, Lirong L, Geoff GZZ. Developing solid oral dosage forms: pharmaceutical theory and practice. 1st ed.: Elsevier; 2009.
44. Kawaguchi-Murakamia Y, Fukutsua N, Kajiroa T, Arakia T, Murakamia T. A prediction system of oxidation reaction as a solid-state stress condition: Applied to a pyrrole-containing pharmaceutical compound. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2009(50): p. 328–335.
45. Kovaleski J, Kraut B, Mattiuz A, Giangiulio M, Brobst G, Cagno W. Impurities in generic pharmaceutical development. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2007(59): p. 56–63.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

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



جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

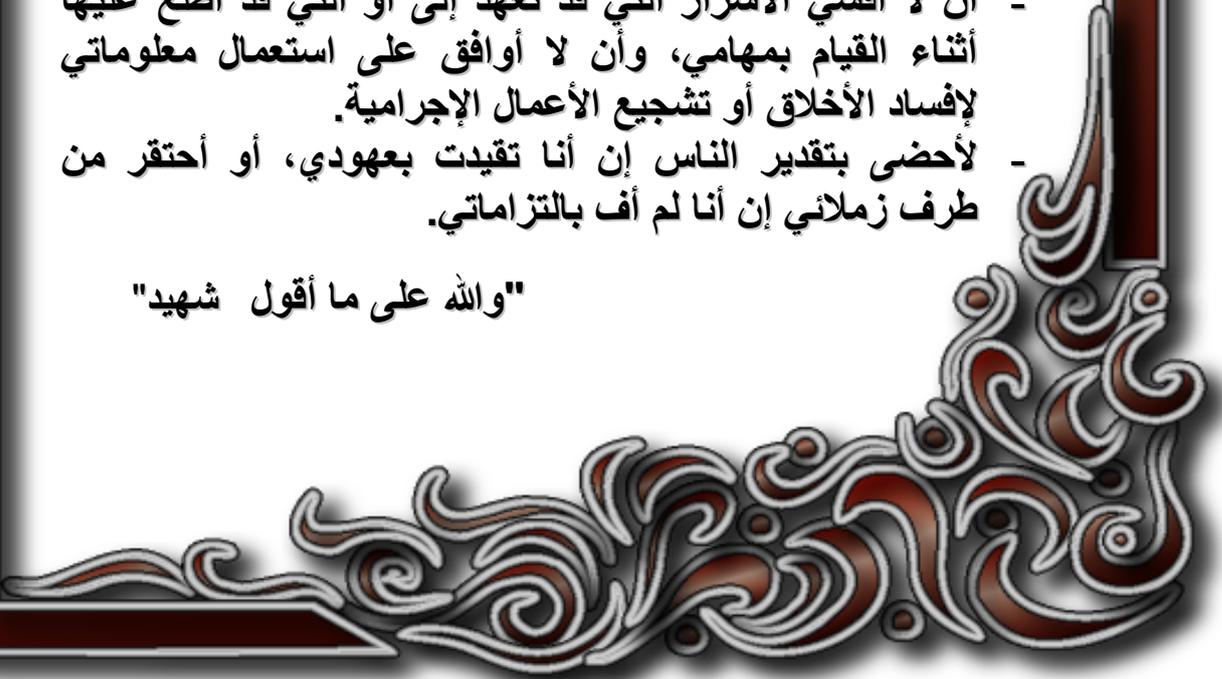
قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

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

"والله على ما أقول شهيد"



جامعة محمد الخامس

كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 16

سنة : 2011

اختبارات التحلل القسري ومعايرة منتجات التحلل: المساهمة في تطوير المستحضرات الدوائية

قدمت ونوقشت علانية يوم: 4 فبراير 2001

من طرف

السيد: سيف الدين حسني

المزاداد في: 11 نونبر 1985 بتاوريرت

لنيل شهادة الدكتوراة في الصيدلة

الكلمات الأساسية: التحلل القسري – غليمبيريد – تطوير المستحضرات الصيدلانية – HPLC/PDA.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

مشرف

أعضاء

السيد: جمال توفيق

أستاذ في الكيمياء العلاجية

السيد: يحيى الشراح

أستاذ في علم الصيدلة

السيدة: مصطفى الدراوي

أستاذ في التحليل الكيميائي

السيد: عبد العزيز بوكروز

أستاذ في التطبيقات الصيدلانية