

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET  
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLAB – BLIDA 1-



FACULTE DE MEDECINE  
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

Thèse d'exercice de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en  
Pharmacie

**Evaluation préclinique de l'activité antidiabétique des  
médicaments : mise au point du diabète expérimental**

Session : juillet 2019

Présentée par :

- BENALIA Mohammed Islam
- MEBARKI Ahmed
- BOUDIA Brahim

Encadrée par :

Dr : S. DJELLOULI, Maitre-Assistant en Pharmacologie

Devant le jury :

Président : Dr. S. BENHAMIDA, Maitre-Assistante en Pharmacologie

Examineur : Dr. N. HERROUG, Assistante en Pharmacologie

Examineur : Dr. N. AYACHI, Maitre-Assistante en Pharmacie Galénique

**2018-2019**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

# Remerciements

*Avant tout, nous tenons à remercier le Bon Dieu tout puissant, pour la volonté, la santé, et la Patience qu'il nous a donnée durant toutes ces années d'études.*

*Que sa bénédiction et sa protection accompagnent tous nos actes dans ce monde.*

*Le travail présenté dans ce mémoire est le fruit de recherche, d'applications pratiques et d'observations personnelles. Sa réalisation a été possible grâce au concours de plusieurs personnes, à qui nous voulons témoigner toute notre reconnaissance.*

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

*Nous tenons à remercier **Dr. NABI**, doctorante en agroalimentaire.*

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

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

# Dédicace

*Je dédie ce travail*

*A ma très chère mère*

*Quoi que je fasse ou quoi dise, je ne saurais point de te remercier, comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a été toujours ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

*A la mémoire de mon père.*

*Que Dieu ait son âme dans sa sainte miséricorde.*

*A mon seul frère et mes grandes sœurs, Omar, Wafa et Manel qui m'ont toujours entouré et motivé, pour leur soutien moral.*

*A ma très chère et adorable petite nièce Malak.*

*A mes deux chers trinômes, Ahmed et Ibrahim, pour leur aide, leur compréhension et leur appui permanent.*

*A mes amis, en particulier : Samed, Tarek, Toufik, Elhadj, Aziz, Mohammed et Riad, en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.*

*Une spéciale dédicace à cette personne qui compte énormément pour moi et pour qui je porte beaucoup de tendresse et de respect.*

*A toi Fairouz.*

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

*B Med islam*





# Dédicace

*Du profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers,*

*À ma chère mère et mon cher père,*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.*

*À mes chers et adorables frères et sœurs*

*En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

*À mes deux chers trinômes, Islam et Ibrahim*

*Pour leur aide, leur compréhension et leur appui permanent.*

*Une spéciale dédicace à cette personne qui compte énormément pour moi et pour qui je porte beaucoup de tendresse et de respect.*

*À toi Khadidja*

*À mes amis*

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.*

*M. Ahmed*



# Dédicace

*Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant  
de m'avoir donnée la santé le courage la patience de  
terminer ce travail*

*Je dédie le fruit de mes années d'études à mes chers  
parents Abdelkader et Fatima, à mon frère Youcef, et mes  
sœurs Hiba et Hora pour leur aide et encouragement tout  
au long de la réalisation de ce mémoire.*

*A mes deux chers trinômes, Ahmed et islam, pour leur  
aide, leur compréhension et leur appui permanent.*

*A tous mes chères amis, particulièrement : Ahmed,  
Seddik, Mohammed, Djilali, Youcef, Ben hachem,  
Adel, Zakaria et Mustapha.*

*B. Ibrahim*

# Table des matières

Liste des figures .....	i
Liste des tableaux .....	iii
Abréviations .....	iv
Introduction générale.....	1

## Etude bibliographique

Chapitre I Généralités sur le diabète.....	3
I.1 Définition et prévalence .....	5
I.2 Classification étiologique et physiopathologie des diabètes sucrés .....	6
I.2.1 Diabète de type 1 .....	6
I.2.1.1 Diabète de type 1 auto-immun.....	6
I.2.1.2 Diabète de type 1 idiopathique .....	6
I.2.2 Diabète de type 2 .....	7
I.2.3 Diabète gestationnel .....	8
I.2.4 Diabète de type MODY (Maturity Onset Diabetes of Young).....	8
I.2.5 Autres types de diabètes .....	9
I.3 Médicaments antidiabétiques .....	9
I.3.1 Insulinothérapie .....	9
I.3.1.1 Divers types d'insulines.....	10
I.3.2 Sulfamides hypoglycémiants .....	10
I.3.3 Glinides.....	11
I.3.4 Biguanides .....	11
I.3.5 Glitazones .....	11
I.3.6 Inhibiteurs des $\alpha$ -glucosidases digestives .....	12
I.3.7 Médicaments à effet « incrétine ».....	12
I.3.7.1 Les analogues du GLP-1 .....	13

I.3.7.2 Inhibiteurs de la DPP-IV (gliptines) : .....	13
I.3.8 Inhibiteurs de la SGLT-2 .....	14
<b>Chapitre II Développement des médicaments .....</b>	<b>15</b>
II.1. Définitions des médicaments .....	16
II.1.1. Selon la réglementation Algérienne .....	16
II.1.2. Selon l’OMS.....	16
II.1.3. Selon la réglementation Américaine et la réglementation européenne .....	16
II.2. Développement d’un médicament .....	17
II.2.1. Découverte des molécules .....	17
II.2.1.1. Observations dues au hasard : .....	18
II.2.1.2. Crible de bibliothèques des composés : .....	18
II.2.1.3. Conception rationnellement à partir d’informations sur la structure tridimensionnelle des cibles .....	20
II.2.2. Essais précliniques .....	21
II.2.2.1. Etudes pharmacocinétiques Et pharmacodynamiques.....	21
II.2.2.2. Etudes de sécurité .....	22
II.2.2.3. Bonnes pratiques de laboratoire.....	25
II.2.3. Essais cliniques .....	26
II.2.3.1. Différentes phases des essais cliniques .....	26
II.2.3.2. Méthodologie Des Essais Cliniques .....	27
II.2.4. Période Administrative.....	28
II.2.4.1. Autorisation de mise sur le marché (AMM).....	28
II.2.4.2. Dossier d’AMM ou décision d’enregistrement (DE) .....	28
II.2.4.3 Format CTD.....	29
II.2.4.4. Procédure d’enregistrement en Algérie .....	29
II.2.5. Production industrielle .....	30
II.3. Réglementation de développement des médicaments en Algérie : .....	31
II.3.1. Règlements des essais précliniques .....	31

II.3.2. Règlementation des essais cliniques.....	32
II.3.3. Règlementation administrative des médicaments : .....	32
II.3.4. Règlementation de la production industrielle des médicaments .....	33
<b>ChapitreIII Méthode d'étude de l'activité antidiabétique.....</b>	<b>34</b>
III.1 Définition du diabète expérimental .....	35
III.1.1 Principaux modèles expérimentaux de diabète .....	35
III.2 Modèles in vivo .....	37
III.2.1 Modèles animaux de diabète induit par le régime alimentaire .....	37
III.2.1.1 Rat des sables (Psammomys obesus) .....	37
III.2.1.2 Souris Spiny (Acomys cahirinus).....	38
III.2.2 Modèles animaux induits chirurgicalement .....	39
III.2.2.1 Définition .....	39
III.2.2.2 Pancréatectomie .....	39
III.2.2.3 Modèle de DNID induit par chirurgie (ligature du canal pancréatique) chez le lapin (Cuniculus oryctolagus) .....	40
III.2.3 Modèles Spontanés .....	41
III.2.3.1 Modèles de diabète chez les rongeurs .....	41
III.2.3.2 Modèles de diabète chez les carnivores domestiques .....	43
III.2.4 Modèles transgéniques et Knock-out.....	44
III.2.5 Modèles animaux induits par des substances chimiques .....	44
III.2.5.1 Diabète induit par l'alloxane .....	45
III.2.5.2 Diabète induit par la streptozotocine.....	47
III.3 Les modèles in vitro .....	49
III.3.1 Définition : .....	49
III.3.2 Modèle cellulaire du DNID : la cellule B .....	50

# Etude expérimentale

<b>I. Objectifs</b> .....	<b>53</b>
<b>II. Terrain d'étude</b> .....	<b>53</b>
<b>III. Matériels et méthode</b> .....	<b>54</b>
III.1 Réactif animal.....	54
III.1.1 Présentation.....	54
III.1.2 Conditions d'élevage .....	54
III.2 Réactifs chimiques et appareils .....	55
III.2.1. Consommables .....	55
III.2.2 Réactifs chimiques .....	55
III.2.3 Equipements.....	55
III.3 Choix de la méthode .....	56
III.4 Protocole expérimental.....	56
III.4.1 Pesée des animaux .....	56
III.4.2 Constitution des lots.....	56
III.4.3 Administration de l'alloxane.....	57
III.4.4 Mesure de la glycémie.....	58
<b>IV. Résultats et interprétation</b> .....	<b>59</b>
IV.1 Suivi Pondéral .....	59
IV.2 Suivi global de la glycémie .....	63
IV.2.1 Suivi de la glycémie des rats femelles .....	63
IV.2.2 Suivi de la glycémie des rats mâles .....	64
<b>V. Discussion</b> .....	<b>66</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>68</b>
<b>Référence bibliographique</b> .....	<b>70</b>
<b>Résumé</b> .....	<b>77</b>



# Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Nombre de personnes atteintes de diabète par région de la FID, 2013 .....	5
<b>Figure 2:</b> Cycle de vie des médicaments.....	17
<b>Figure 3 :</b> Cheminements dans la découverte des médicaments .....	18
<b>Figure 4 :</b> Synthèse en pools partagés.....	20
<b>Figure 5 :</b> L'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion.....	22
<b>Figure 6 :</b> Triangle CTD organisé en cinq modules .....	29
<b>Figure 7 :</b> Procédure d'enregistrement des médicaments.....	30
<b>Figure 8 :</b> Le médicament de l'élaboration à la réalisation.....	30
<b>Figure 9 :</b> Des rongeurs utilisés dans des laboratoires de recherches .....	35
<b>Figure 10 :</b> <i>Psammomys obesus</i> .....	38
<b>Figure 11:</b> Le milieu de vie du <i>Psammomys</i> .....	38
<b>Figure 12 :</b> Souris Spiny ( <i>Acomys cahirinus</i> ).....	39
<b>Figure 13 :</b> Lapin ( <i>Cuniculus oryctolagus</i> ) ( <a href="http://www.wikipedia.org">www.wikipedia.org</a> ) .....	40
<b>Figure 14 :</b> Coupes histologiques d'un lapin diabétique et un autre sain.....	40
<b>Figure 15 :</b> Propriétés chimiques d'alloxane .....	45
<b>Figure 16 :</b> Structure chimique de streptozotocine.....	47
<b>Figure 17 :</b> Mécanisme d'action de la streptozotocine dans la cellule beta pancréatique .....	48
<b>Figure 18 :</b> Représentation schématique des effets toxiques d'alloxane et de streptozotocine	49
<b>Figure 19 :</b> Cellules Bêta immunoréactives dans ilots de Langerhans d'un individu sain .....	50
<b>Figure 20 :</b> Laboratoire de pharmacologie (Université Saad Dahlab -Blida 1).....	53

<b>Figure 21 :</b> Rats de type Wistar Albino.....	54
<b>Figure 22 :</b> Elevage des rats au niveau de laboratoire.....	55
<b>Figure 23 :</b> Pesée des rats.....	56
<b>Figure 24 :</b> Schéma récapitulatif de la constitution des lots.....	57
<b>Figure 25 :</b> Mesure de la glycémie à l'aide d'un glucomètre Bionime®.....	58
<b>Figure 26:</b> Variation des poids en gramme des rats femelles du lot 1 et 2 en fonction du temps (dose = 150 mg/kg) .....	61
<b>Figure 27 :</b> Variation des poids en gramme des rats femelles du lot 1 et 2 en fonction du temps (dose=175mg/kg).....	61
<b>Figure 28 :</b> Variation des poids en gramme des rats males du lot 3 et 4 en fonction du temps (dose = 150 mg/kg) .....	62
<b>Figure 29 :</b> Variation des poids en gramme des rats males du lot 3 et 4 en fonction du temps (dose=165mg/kg) .....	62
<b>Figure 30 :</b> Variation des poids en gramme des rats males du lot3 et 4 en fonction du temps (dose=165mg/kg) .....	62
<b>Figure 31 :</b> Variation de la glycémie en g/l des rats femelles du lot 3 et 4 en fonction du temps (dose = 150 mg/kg).....	64
<b>Figure 32:</b> Variation de la glycémie en g/l des rats femelles du lot 3 et 4 en fonction du temps (dose=175mg/kg) .....	64
<b>Figure 33 :</b> Variation de la glycémie en g/l des rats males du lot 3 et 4 en fonction du temps (dose = 150 mg/kg) .....	65
<b>Figure 34 :</b> Variation de la glycémie en g/l des rats males du lot 3 et 4 en fonction du temps (dose=165mg/kg) .....	65
<b>Figure 35 :</b> Variation de la glycémie en g/l des rats males du lot3 et 4 en fonction du temps (dose=175mg/kg) .....	66

# Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Prévalence du diabète et des facteurs de risque y relatifs en Algérie. ....	6
<b>Tableau 2</b> : Les activités de développement préclinique. ....	21
<b>Tableau 3</b> : Principaux modèles expérimentaux de diabète.....	36
<b>Tableau 4</b> : Représentation des lots et des doses d'alloxane administrées.....	58
<b>Tableau 5</b> : Evolution du poids en gramme des rats femelles (lot 1 et 2).....	59
<b>Tableau 6</b> : Les moyennes d'évolution du poids en gramme des rats femelles (lot 1 et 2)(±Erreur standard). ....	59
<b>Tableau 7</b> : Evolution des poids en gramme des rats males (lot 3 et 4).....	60
<b>Tableau 8</b> : Les moyennes d'évolution des poids (g) des rats males (lot 3 et 4) (± erreur standard). ....	60
<b>Tableau 9</b> : Evolution de la glycémie en g/l des rats femelles (lot1 et 2). ....	63
<b>Tableau 10</b> : Les moyennes d'évolution de la glycémie en g/l des rats femelles (Lot 1 et 2) (±Erreur standard) .....	63
<b>Tableau 11</b> : évolution de la glycémie en g/l des rats males (lot 3 et 4).....	64
<b>Tableau 12</b> : les moyennes d'évolution de la glycémie en g/l des rats males (lot 3 et 4) (±Erreur standard) .....	65

# Abréviations

## A

**AASEA** : Association Algérienne des Sciences en Expérimentation Animale

**ADA** : American Diabetes Association

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

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ADP** : Adénosine diphosphate

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

**ANPP** : Agence nationale des produits pharmaceutiques

**ANSMPS** : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé

**ATP** : Adénosine Triphosphate

## B

**BB** : BioBreeding

**BPC** : Bonnes Pratiques Cliniques

**BPF** : Bonnes Pratiques de Fabrication

**BPL** : Bonnes Pratiques de Laboratoire

## C

**CCEPEC** : Coordination des Comités d’Ethique Pour les Essais Cliniques

**CIOMS** : Council for International Organizations of Medical Sciences

**CMH** : Complexe majeur d’histocompatibilité

**CPP** : Comités de Protection Des Personnes

**CRP** : C-Reactive Protein

**CTD** : Common Technical Document

## D

**DE** : Décision d’Enregistrement

**DID** : Diabète insulino-dépendant

**DL-50** : Dose létale médiane

**DMT** : Dose maximale tolérée

**DNID** : Diabète non insulino-dépendant

**DPP** : Direction des Produits Pharmaceutiques

**DPP-4** : Di-Peptidyl Peptidase-4

**DSENO** : Dose Sans Effet Nocif Observé

## **F**

**FDA** : Food and Drug Administration

**FID** : Fédération Internationale du Diabète

## **G**

**GAD**: Glutamic Acid Decarboxylase

**GIP**: Gastric Inhibitory Polypeptide

**GLP-1**: Glucagon Like peptide 1

**GLUT** : Glucose Transporter

## **H**

**HbA1c** : L'hémoglobine glyquée

**HLA** : Human Leucocyte Antigen

## **I**

**ICA** : Anti-cellules d'îlots

**ICH** : Conférences Internationales d'Harmonisation

**ICLAS** : International Council for Laboratory Animal

**IRACEM** : Institut de Recherche Anti-Contrefaçon de Médicaments

**ISR** : récepteur d'insuline (Insulin receptor)

## **L**

**LNCPP** : Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques

## **M**

**MLD** : Minimal Lethal Dose (Dose létale minimale)

**MNU** : Nitrosamidemethylnitrosourea

**MODY** : Maturity Onset Diabetes of Young

**MSPRH** : Ministère de la Santé de la Population et de la Réforme Hospitalière

## **N**

**NAD** : Nicotinamide adénine dinucléotide

**NID** : Non insulino-dépendant

**NOAEL** : No Observed Adverse Effect Level

**NOD** : Non Obese Diabetic

**NOEL** : No Observed Effect Level

**NPH**: Neutral Protamin Hagedorn

## **O**

**OIE** : World Organisation for Animal Health

**OMS** : Organisation mondiale de la Santé

## **P**

**PA** : Principe Actif

**PD** : Pharmacodynamie

**PhRMA** : Pharmaceutical Research and Manufacturers of America

**PK** : Pharmaco Kinetics = Pharmacocinétique

**PPAR $\gamma$**  : Peroxisome proliferator-activated receptor

## **R**

**RCP** : Résumé des Caractéristiques du Produit

**ROS** : Reactive Oxygen Species

## **S**

**SFD** : Société Francophone du Diabète

**SGTL-2** : Sodium–Glucose co-Transporter de type 2

**STZ** : Streptozotocine

**SUR** : Sulfonylurea Receptor

## **T**

**TNF** : Tumor Necrosis Factor

## **U**

**US** : United States

**USA** : United States of America

## **W**

**WHO** : World Health Organization



# Introduction générale

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées. En général, le diabète sucré se développe en réponse à une altération des cellules  $\beta$  des îlots du pancréas sécrétant de l'insuline. Cette altération peut provenir d'un diabète sucré essentiel pour lequel les cellules  $\beta$  des îlots sont détruites par le système auto-immunitaire ou en tant que réponse diabétique secondaire à d'autres maladies essentielles telles qu'une maladie pancréatique ou à des états provoqués par des médicaments.

Le diabète constitue un problème de santé publique majeur et il est une des quatre maladies non transmissibles prioritaires ciblées pour une intervention par les dirigeants du monde. On a assisté au cours des dernières décennies à une augmentation constante du nombre de cas de diabète et de la prévalence de la maladie et c'est ce qui nous oblige de rechercher des nouveaux médicaments pour le lutter.

La mise sur le marché des nouveaux médicaments se fait par le biais d'activités complexes de découverte et de développement, et surtout le développement préclinique qui consiste à évaluer *in vivo* dans des systèmes vivants non humains et *in vitro*, l'activité d'un candidat médicament issu des phases de la recherche expérimentale.

L'induction d'un diabète expérimental afin d'évaluer une activité antidiabétique d'une substance est une étape indispensable dans le développement préclinique.

Le diabète expérimental sucré est induit chez les animaux de laboratoire par plusieurs méthodes : chirurgicale, génétique ou bien chimique qui consiste à effectuer le diabète par des substances diabétogènes chez les rongeurs.

Ce travail comprend deux grandes parties : une partie bibliographique dans laquelle nous aborderons une notion générale sur le diabète et le développement et ses principaux processus et enfin le diabète expérimental et ces différents modèles, et une partie pratique dans laquelle nous étudions la mise au point d'un diabète expérimental *in vivo* chez des rats de type Wistar Strain Albino, en choisissant une méthode chimique qui consiste à injecter l'alloxane à des rats.

# **Etude bibliographique**

# Chapitre I

## Généralités sur le diabète

Le terme diabète sucré dérive étymologiquement des deux racines grecques "diabetes" (passer à travers) et " mellitus " (miel).

Le diabète est une maladie chronique grave qui se déclare lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline (hormone qui régule la concentration de sucre dans le sang, ou glycémie), ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser correctement l'insuline qu'il produit. Le diabète est un important problème de santé publique, et il est l'une des quatre maladies non transmissibles prioritaires ciblées par les dirigeants mondiaux. Une hausse régulière du nombre des cas de diabète et de la prévalence de la maladie a été enregistrée ces dernières décennies (**OMS, 2016**).

À l'échelle mondiale, on estime 422 millions le nombre des adultes qui vivaient avec le diabète en 2014, contre 108 millions en 1980. La prévalence mondiale du diabète (normalisée selon l'âge) a presque doublé depuis 1980, passant de 4,7 à 8,5 % de la population adulte. Ces chiffres reflètent l'augmentation des facteurs de risque associés comme le surpoids et l'obésité. Cette dernière décennie, la prévalence du diabète a progressé plus rapidement dans les pays à revenu faible ou intermédiaire que dans les pays à revenu élevé (**OMS, 2016**).

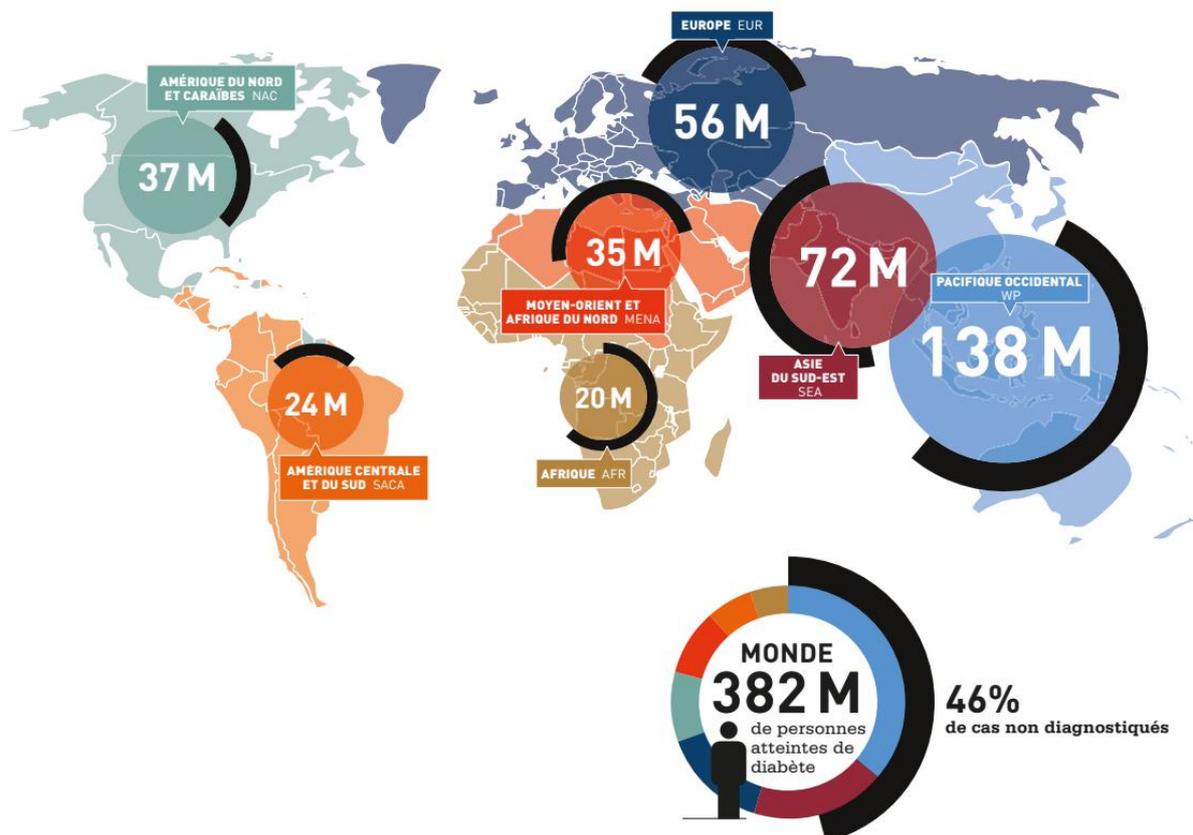
Le diabète est une cause majeure de cécité, d'insuffisance rénale, d'accidents cardiaques, d'accidents vasculaires cérébraux et d'amputation des membres inférieurs.

L'OMS prévoit qu'en 2030, le diabète sera la septième cause de décès dans le monde.

Les différents types de diabète se manifestent tous cliniquement par une hyperglycémie, mais vont différer dans leurs manifestations aiguës ou chroniques, par leur sévérité et leur âge d'apparition. Ils ont été classés récemment en quatre grands groupes, dont les deux principaux sont les diabètes de type 1 et de type 2 (**OMS, 2006**).

## I.1 Définition et prévalence

Le Diabète est défini par « American Diabetes Association » (ADA) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme un : « Groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées »



**Figure 1:** Nombre de personnes atteintes de diabète par région de la FID, 2013

(ATLAS du DIABÈTE de la FID 6<sup>ème</sup> édition)

Pour les praticiens algériens, le diabète est un véritable fléau, et il est considéré comme un sérieux problème de santé publique. Les diabétologues naviguent à vue car aucune étude épidémiologique n'a été lancée pour recenser les malades ; aussi se réfèrent-ils au système de comptage de l'Organisation mondiale de la santé (OMS). Les experts de cette organisation ont estimé par le passé que 10% des habitants du Maghreb étaient atteints du diabète de type 2 (non insulino-dépendant). Toujours selon la même source, 10% des patients sont atteints du diabète de type 1 (soigné par insuline). Les dernières corrections de l'OMS évaluent désormais l'incidence du diabète à 12% parmi les populations du Maghreb. Cette correction remet en

cause les anciens chiffres avancés par les diabétologues qui estimaient le nombre de patients à 3 millions, dont 300 000 insulino-dépendants en Algérie.

**Tableau 1** : Prévalence du diabète et des facteurs de risque y relatifs en Algérie.

(OMS, 2016)

	Homme	Femmes	Totale
<b>Diabète</b>	10,2%	10,7%	10,5%
<b>Surpoids</b>	53,9%	60,3%	57,1%
<b>Obésité</b>	18,0%	29,3%	23,6%
<b>Activité physique insuffisante</b>	25,8%	39,4%	32,5%

## I.2 Classification étiologique et physiopathologie des diabètes sucrés

Le diabète peut être classé dans les catégories générales suivantes : (ADA, 2019)

### I.2.1 Diabète de type 1

Anciennement appelé le diabète insulino-dépendant (DID), il représente environ 10 % des diabètes.

Il correspond à la destruction de la cellule  $\beta$  aboutissant habituellement à une carence absolue en insuline. Il est divisé en 2 sous types :

#### I.2.1.1 Diabète de type 1 auto-immun

Au cours duquel la destruction des cellules  $\beta$  par un processus auto-immun est authentifiée par la présence d'anticorps anti-cellules d'îlots, anti-insuline, anti-glutamate décarboxylase (GAD), anti-tyrosine phosphatase IA-2 et IA 2 b. Cette forme est fortement associée aux gènes DQA et DQB du système HLA et influencée par les gènes DRB. Ici, la destruction des cellules  $\beta$  peut être rapide (enfants et adolescents) ou plus lente (adultes). D'autres affections auto-immunes peuvent être associées (maladie de Basedow, thyroïdite de *Hashimoto*, maladie d'Addison, vitiligo, maladie de Biermer). Survenant généralement chez le sujet jeune (enfants, adolescents), le diabète de type auto-immun peut apparaître à tous les âges, y compris après 70 ans (Société Francophone du Diabète, 1999).

#### I.2.1.2 Diabète de type 1 idiopathique

Correspond à une minorité de sujets. Certains présentent une insulino-pénie permanente avec céto-acidose d'origine inconnue ; cette forme à forte composante héréditaire est plus fréquente chez les sujets d'origine africaine ou asiatique. Chez les Africains, une forme voisine se

caractérise par une céto-acidose révélatrice après laquelle l'insulinothérapie n'est pas indispensable (**Société Francophone du Diabète, 1999**).

### **I.2.2 Diabète de type 2**

Il correspond à l'ancienne terminologie de diabète non insulino-dépendant et représente 80 à 90 % des diabètes.

Le diabète de type 2 est découvert le plus souvent à l'âge adulte. L'insulino-résistance qui prédomine au début de la maladie permet un traitement oral dans les premières années. Il existe probablement plusieurs causes différentes de ce type de diabète. (**Société Francophone du Diabète, 1999 et ADA, 2019**)

Le diabète de type 2 est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique dont les éléments physiopathologiques comprennent :

- **Une insulino-résistance dominante** : une résistance accrue des tissus périphériques (foie, muscles) à l'action de l'insuline. Elle prédomine au niveau du muscle lors de la charge en glucose par défaut de captation musculaire du glucose. Au niveau hépatique, on note un accroissement de la production hépatique de glucose à l'origine de l'hyperglycémie à jeun.
- **Insulinopénie relative** : défaillance intrinsèque des cellules  $\beta$  du pancréas entraînant une sécrétion insuffisante d'insuline par le pancréas.

Durant de nombreuses années, le patient présente un hyperinsulinisme en conséquence à une résistance périphérique à l'insuline, toutefois insuffisante pour maintenir une normo glycémie. (**Société Francophone du Diabète, 1999 et ADA, 2019**)

Dans les conditions physiologiques, la sécrétion d'insuline se déroule en deux phases. Une sécrétion rapide d'insuline en excès intervient 5 à 10 minutes après un stimulus glucosique (first phase insulin secretion). Cette première phase est suivie par une seconde sécrétion d'insuline lentement progressive, qui dure tant que le stimulus glucosique est maintenu. (**Société Francophone du Diabète, 1999 et ADA, 2019**)

Dans le diabète de type 2, un des défauts les plus précoces des cellules  $\beta$  consiste en l'abolition de la phase précoce de la sécrétion d'insuline, manifestée cliniquement par une augmentation massive de la glycémie postprandiale. Ce n'est que dans l'évolution ultérieure de la maladie que la sécrétion et la production d'insuline diminuent globalement, entraînant une défaillance progressive des réserves des cellules  $\beta$  avec un besoin correspondant en insuline. (**Société Francophone du Diabète, 1999 et ADA, 2019**)

La non-freination de la lipolyse en raison de l'insulinopénie et de l'insulino-résistance des adipocytes est responsable d'une augmentation des acides gras libres ce qui entraîne une hypertriglycéridémie.

Cette hypertriglycéridémie augmente le « seuil sensor » de l'insulino-sécrétion et aggrave la diminution de l'insulino-sécrétion. Elle augmente également l'utilisation du glucose stimulée par l'insuline. (**Société Francophone du Diabète, 1999 et ADA, 2019**)

### **I.2.3 Diabète gestationnel**

Le diabète gestationnel est défini comme une anomalie de l'homéostasie glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable, débutant ou diagnostiquée pour la première fois pendant la grossesse et ceci, quels que soient le traitement nécessaire et l'évolution après l'accouchement.

Cette définition recouvre donc des situations très différentes puisqu'il peut s'agir soit :

- D'un diabète gestationnel « vrai », qui disparaîtra (au moins temporairement) en postpartum
- Soit d'un diabète non gestationnel, débutant pendant la grossesse ou préexistant à la grossesse mais méconnu. (**ADA,2016**)

### **I.2.4 Diabète de type MODY (Maturity Onset Diabetes of Young)**

Résulte d'un défaut de fonctionnement de la cellule  $\beta$  d'origine génétique (diabète monogénique).

Ce diabète présente les caractéristiques suivantes :

- Age de survenue précoce (avant 25 ans).
- Diabète familial avec une transmission autosomale dominante et une pénétrance élevée de 90%.
- Ce diabète est non insulino-dépendant les premières années, ensuite il le devient.
- L'existence d'une anomalie primaire dans l'insulino-sécrétion.

C'est un diabète secondaire à une mutation au niveau de facteurs transcriptionnels. Les mutations se situent sur des gènes responsables de la production de protéines, appelées « facteurs de transcription », qui contrôlent la transcription d'autres gènes impliqués dans la production d'insuline par la cellule  $\beta$  pancréatiques. (**ADA, 2016**)

### **I.2.5 Autres types de diabètes**

- Diabète mitochondrial : Cytopathie mitochondriale.
- Diabète secondaire à une pancréatopathie exocrine.
- Diabète secondaire à une pancréatectomie totale ou partielle.
- Diabète secondaire à une pathologie endocrinienne.
- Diabète induit par un toxique ou un médicament.
- Diabète secondaire à une infection.
- Diabète secondaire à une hémochromatose.
- Formes auto-immunes rares.
- Certains syndromes génétiques sont parfois associés au diabète (**ADA, 2019**).

### **I.3 Médicaments antidiabétiques**

Lorsque les règles hygiéno-diététiques ne sont pas suivies ou insuffisantes, un traitement médicamenteux peut devenir nécessaire. Ces médicaments agissent par différents mécanismes d'actions : augmentation de la sensibilité périphérique à l'insuline, diminution de l'absorption de glucose ou augmentation de la sécrétion de l'insuline. Plusieurs familles d'antidiabétiques oraux existent. Des mesures diététiques adjacentes doivent être appliquées afin de réduire l'apport glucidique. Une insulinothérapie est parfois nécessaire en complément du traitement oral, surtout après quelques années d'évolution de la maladie quand le malade devient insulino-nécessitant (**J.-L. Wémeau et al, 2014**).

#### **I.3.1 Insulinothérapie**

L'insulinothérapie, accessible depuis la découverte révolutionnaire de Banting et Best en 1922, reste sans doute le traitement hypoglycémiant le plus actif quel que soit le type de diabète. Au cours de ces 40 dernières années, il est apparu que ce traitement devait mimer la physiologie au plus près si l'on voulait approcher la normoglycémie.

Pour atteindre ce but, les injections sont devenues plus fréquentes, rendues plus tolérables aux patients grâce à leur simplification d'administration (matériel à usage unique, aiguilles fines, stylos...) et aux innovations de l'industrie pharmaceutique. En particulier, celle-ci a tiré profit des progrès du génie génétique pour concevoir des analogues structuraux de l'insuline doués de propriétés pharmacocinétiques intéressantes pour les traitements sous-cutanés. On peut maintenant avec des schémas thérapeutiques dits « basal-bolus », l'autocontrôle

glycémique et l'éducation des patients atteindre l'objectif d'une insulinsation quasi physiologique, dite aussi « fonctionnelle » (**J.-L. Wémeau et al, 2014**).

### **I.3.1.1 Divers types d'insulines**

On distingue deux grands types d'insulines selon leur durée d'action. Les insulines de courte durée d'action comportent l'insuline humaine et les analogues de l'insuline dits rapides. Il existe trois analogues rapides sur le marché : Asparte, Glulisine et Lispro.

Les insulines lentes regroupent :

- D'une part, les insulines humaines ou des analogues rapides dont l'activité est ralentie soit par l'adjonction d'une protéine de saumon, la protamine, selon un procédé ancien, dit NPH (Neutral Protamin Hagedorn), soit par un excès de zinc.
- D'autre part, les analogues lents : Glargine, Détémir, Degludec.

Les formes rapides sont utiles pour les situations d'urgence ou pour la période prandiale. Les formes lentes sont utilisées pour maintenir un taux basal d'insuline pendant la nuit et les périodes de jeûne. Toutes les insulines dont nous disposons actuellement sont produites par génie génétique à partir de bactéries spécialement programmées pour cette tâche. (**J.-L. Wémeau et al, 2014**).

### **I.3.2 Sulfamides hypoglycémiantes**

Les sulfamides hypoglycémiantes ou sulfonylurées constituent la famille ayant le plus de représentants parmi lesquels on cite : le Glibenclamide, le Glibornuride, le Gliclazide, le Carbutamide. Ils ont tous une structure commune : ils se lient aux protéines et principalement à l'albumine et sont éliminés essentiellement par voie urinaire. Les sulfamides agissent sur un récepteur membranaire spécifique (SUR-1 : sulfonylurea receptor) qui est la sous-unité régulatrice d'un canal potassique ATP-dépendant présent dans les cellules  $\beta$  et impliqué dans la relation fonctionnelle entre le message glucose et la sécrétion d'insuline. Ces médicaments en se fixant sur cette cible miment l'effet de l'ATP, produit par l'oxydation cellulaire du glucose, sur le canal potassique. La fermeture de ce canal entraîne une dépolarisation de la membrane plasmique, l'activation secondaire d'un canal calcique voltage-dépendant, l'irruption d'ions calcium dans le cytoplasme et le relargage des granules d'insuline. Cet effet insulinosécréteur est potentialisé par le glucose, mais il est indépendant du niveau de glycémie et peut s'observer même en présence de glycémies basses d'où le risque d'hypoglycémie (**J.-L. Wémeau et al, 2014**).

### I.3.3 Glinides

Il s'agit de médicaments insulino-sécrétagogues : Répaglinide, Natéglinide.

Les glinides sont des molécules chimiquement différentes par rapport aux sulfamides qui se fixent sur SUR-1 mais avec une affinité plus faible. L'affinité de la molécule pour le récepteur SUR-1 conditionne l'activité et en partie la durée de l'effet. Les glinides auraient de ce fait une efficacité plus courte et une action post-prandiale élective (**J.-L. Wémeau et al, 2014**).

### I.3.4 Biguanides

La metformine est le seul représentant de la classe des biguanides et doit être considérée comme le traitement de première intention dans le diabète de type 2 dès que les mesures hygiéno-diététiques s'avèrent insuffisantes.

Ce statut très particulier vient de son mode d'action original sur la sensibilité à l'insuline et à de nombreuses qualités associées. La mauvaise réputation liée au risque d'acidose lactique qui était attachée à la classe thérapeutique des biguanides, s'est avérée relativement fautive pour la metformine. Cette molécule est devenue ainsi un élément essentiel du traitement du diabète de type 2.

Il s'agit du seul médicament agissant sur l'insulino-sensibilité dont nous disposons puisque les glitazones ont été retirées du marché. Le site d'activité est essentiellement le foie. La metformine inhibe la production hépatique de glucose en freinant le complexe 1 de la chaîne respiratoire mitochondriale. La baisse d'énergie disponible pour la cellule active secondairement l'AMP-kinase qui intervient dans la régulation de la gluconéogenèse. La stimulation de cette enzyme, dont certains des effets miment ceux induits par l'insuline, peut aussi survenir dans le muscle favorisant la captation du glucose par cet organe. En outre, l'effet hypoglycémiant est obtenu sans hyperinsulinisme, éliminant ainsi tout risque de prise de poids ou de malaise hypoglycémique (**J.-L. Wémeau et al, 2014**).

### 1.3.5 Glitazones

Les glitazones ou thiazolidine-diones sont des agonistes des récepteurs PPAR $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ) qui se trouvent au niveau intracellulaire.

PPAR $\gamma$  est exprimé entre autres au niveau des adipocytes et régule des gènes impliqués dans la différenciation des adipocytes, dans la régulation du métabolisme des acides gras libres, dans la lipolyse et surtout dans le métabolisme du glucose. Il en résulte au niveau musculaire une amélioration de la sensibilité à l'insuline et au niveau hépatique une diminution de la stéatose avec une augmentation de la sensibilité à l'insuline et une diminution de la néoglucogenèse. Au

niveau plasmatique, les acides gras libres ainsi que de nombreuses molécules pro-inflammatoires liées à l'insulinorésistance telles que l'interleukine-6, le « plasminogen inhibitor activator type 1 » et des marqueurs de l'inflammation tels que la CRP ultrasensible ou le TNF- $\alpha$  sont diminués. Au niveau du tissu adipeux, il existe une redistribution avec augmentation du tissu adipeux sous-cutané au détriment du tissu adipeux viscéral. De plus, le taux d'adiponectine est augmenté, expliquant en partie l'augmentation de la sensibilité à l'insuline. (**Christoph A. Meier et Sébastien Thalmann, 2010**)

Elles ont suscité de grands espoirs au début des années 2000, notamment pour réduire le risque cardiovasculaire lié à l'insulinorésistance. Les espoirs n'ont été que partiellement confirmés avec la Pioglitazone, tandis que la sécurité coronarienne de la Rosiglitazone a été mise en doute. Par ailleurs, les glitazones sont associées à diverses manifestations indésirables, dont une prise de poids, une rétention hydrosodée, un risque accru d'insuffisance cardiaque, de fracture et, possiblement, de cancers de la vessie. Pour toutes ces raisons, les glitazones ont été retirées du marché dans certains pays, comme la France, ou elles ont vu leur prescription très restreinte dans les pays où elles sont encore disponibles, dont la Belgique et la Suisse (**A.J. Scheen, 2018**)

### **I.3.6 Inhibiteurs des $\alpha$ -glucosidases digestives**

Deux médicaments appartiennent à cette classe : l'Acarbose et le Miglitol. Il s'agit de produits qui inhibent l'action des  $\alpha$ -glucosidases digestives (maltase, lactase, saccharase ou invertase) qui prennent le relais des amylases salivaires et pancréatiques dans la digestion des sucres complexes. Cette propriété entraîne un retard à l'absorption des glucides et produit un écrêtement de la montée glycémique postprandiale. Cependant ce retard de la digestion entraîne une accumulation anormale de glucides dans le côlon qui favorise les fermentations bactériennes. Cette énergie est récupérée car ces médicaments ne font pas maigrir. Mais la fermentation bactérienne entraîne la production de gaz responsables de flatulences parfois très gênantes pour les patients.

Ce mode d'action fait de ces molécules d'excellents hypoglycémiant pour la période postprandiale (**J.-L. Wémeau et al, 2014**).

### **I.3.7 Médicaments à effet « incrétine »**

L'effet « incrétine » correspond aux mécanismes impliqués dans le fait que le glucose administré per os a un plus fort pouvoir insulino-sécrétagogue que quand il est délivré par voie veineuse, et ce à variations glycémiques comparables. Cet effet amplificateur de l'insulinosécrétion est lié à la sécrétion d'entéro-hormones le GIP (Gastric Inhibitory Polypeptide) et le GLP-1 (Glucagon-Like Peptide-1). Cette dernière substance s'est révélée

avoir des propriétés originales qui pourraient en faire un médicament précieux dans le traitement du diabète. En effet, elle sensibilise la cellule  $\beta$  au stimulus glucose et freine la sécrétion de glucagon des cellules  $\alpha$  pancréatiques. Ces deux activités hypoglycémiantes sont étroitement dépendantes du niveau glycémique. Elles disparaissent en cas d'hypoglycémie. Le GLP-1 retarde aussi la vidange gastrique, freinant l'ascension glycémique postprandiale. En outre, il a des propriétés anorexigènes. Enfin, il pourrait sous certaines conditions favoriser la réplication des cellules  $\beta$  pancréatiques (**J.-L. Wémeau et al, 2014**).

### **I.3.7.1 Les analogues du GLP-1**

Il s'agit de peptides modifiés qui conservent une activité d'agoniste vis-à-vis du récepteur du GLP-1, alors même que leur structure les protège de l'action inhibitrice des DPP-4 (Dipeptidyl Peptidase-4).

Il existe actuellement plusieurs molécules disponibles (exenatide et liraglutide) et il y a tout lieu de penser que cette classe thérapeutique va grandir dans les années à venir (lixisenatide). Ces peptides doivent être injectés par voie sous-cutanée au moyen de stylos injecteurs, une (liraglutide, lixisenatide) ou deux fois par jour (exenatide). Ils entraînent peu d'hypoglycémies sauf s'ils sont utilisés avec des sulfamides ou l'insuline. Ils favorisent la perte de poids. Ce sont les seuls médicaments antidiabétiques doués de cette propriété. Leur indication concerne essentiellement le traitement des diabétiques de type 2 avec excès pondéral. Les effets secondaires sont représentés principalement par des troubles digestifs et en particulier des nausées (**J.-L. Wémeau et al, 2014**).

### **I.3.7.2 Inhibiteurs de la DPP-IV (gliptines) :**

Il s'agit de molécules inhibant spécifiquement l'activité des enzymes DPP-4 (Dipeptidyl peptidase). Elles entraînent de ce fait une majoration de l'effet « incrétine » en prolongeant la durée de vie du GIP et du GLP-1 et en accroissant leur concentration post-prandiale. Il s'agit de médicaments qui peuvent être administrés per os, certains en une prise (sitagliptine), d'autres en deux prises quotidiennes (saxagliptine, vildagliptine). Ils stimulent la sécrétion d'insuline et freinent celle de glucagon.

Leur mode d'action suggère qu'ils constituent des médicaments à effet prandial prédominant. Leur activité hypoglycémiante est comparable à celle de la plupart des sulfamides, sans exposer aux effets habituels de ceux-ci, hypoglycémies et prise de poids (**J.-L. Wémeau et al, 2014**).

### I.3.8 Inhibiteurs de la SGLT-2

Dans les conditions normales, un co-transporteur du sodium et du glucose agit au niveau du tube contourné proximal pour réabsorber la totalité du glucose filtré par les glomérules et explique qu'il n'y a pas de glucose dans les urines. Deux isoformes de ce co-transporteur existent : le type I prédominant au niveau de l'intestin, le type 2 prédominant au niveau du tube contourné proximal. Le blocage de ce co-transporteur par divers inhibiteurs entraîne une diurèse osmotique riche en glucose expliquant l'effet bénéfique sur la glycémie. Du fait du couplage de la réabsorption du glucose avec celle de sodium, l'inhibition du co-transporteur est également associée à une excrétion accrue de sodium dans les urines (**MM Daniel Couturier et al, 2018**).

L'Empagliflozine et la Canagliflozine, deux inhibiteurs sélectifs du SGLT2 ont été évaluées dans les essais EMPAREG, OUTCOME et CANVAS respectivement. Dans les deux essais, une réduction de la mortalité cardiovasculaire et une diminution spectaculaire des hospitalisations pour insuffisance cardiaque ont été observées.

La Dapagliflozine est actuellement évaluée dans DECLARE-TIMI 58, dont les résultats sont attendus en 2019.

Une nouvelle molécule, qui devrait être commercialisée prochainement, est la sotagliflozine, un inhibiteur double des SGLT2 et des SGLT1. Les avantages de cette double inhibition par rapport à une inhibition spécifique des SGLT2 ne sont pas bien connus, en l'absence d'essais cliniques avec comparaison directe. De façon étonnante, et en opposition avec ce qui s'était passé avec les inhibiteurs des SGLT2, le développement de la sotagliflozine s'est focalisé initialement sur les patients diabétiques de type 1. Des premiers résultats très prometteurs ont été rapportés récemment dans cette population. Les résultats des essais dans la population DT2 sont attendus avec intérêt dans les deux prochaines années (**A.-J. Scheen, 2018**).

---

# Chapitre II

## Développement des médicaments

## II.1. Définitions des médicaments

### II.1.1. Selon la réglementation Algérienne

D'après l'article 208 du chapitre 2 du titre V (produits pharmaceutiques et dispositifs médicaux) de la nouvelle loi de santé 2018 :

Art. 208 : « Le médicament, au sens de la présente loi, est toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, et tous produits pouvant être administrés à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, de corriger et de modifier ses fonctions physiologiques » (**Loi sanitaire, 2018**).

### II.1.2. Selon l'OMS

Selon la définition du dictionnaire pharmaceutique de l'OMS (WHO Drug Dictionary Enhanced), « toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines. Toute substance ou composition pouvant être administrée à l'homme en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier des fonctions physiologiques chez l'homme est également considérée comme médicament » (**WHO Drug Dictionary, 2016**).

### II.1.3. Selon la réglementation Américaine et la réglementation européenne

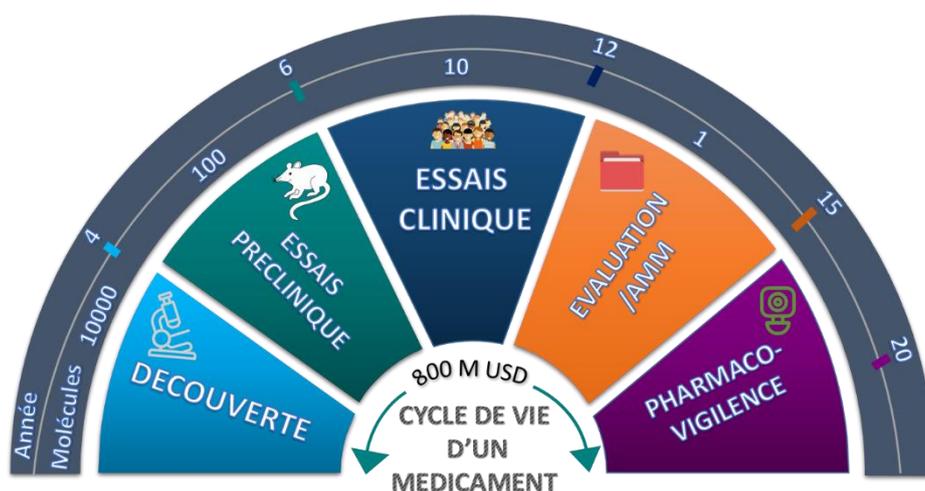
La réglementation américaine comme la Directive européenne 65/65 regroupe sous le terme médicament toute substance (à l'exception des aliments ou des dispositifs mécaniques) utilisée dans un but diagnostique, thérapeutique, palliatif, curatif ou préventif et qui vise à modifier la structure ou la fonction de l'organisme. (Les contraceptifs oraux constituent un exemple de médicaments agissant sur une fonction de l'organisme plutôt que sur une maladie) (**IRACM, 2017**).

Alors un produit est qualifié de médicament s'il est présenté comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ou s'il peut être utilisé ou administré en vue d'établir un diagnostic médical.

Un médicament comprend une partie responsable de ses effets sur l'organisme humain, le principe actif, et le plus souvent, une partie inactive faite d'un ou plusieurs excipients (édulcorants, les diluants, les agrégants...etc.) (**J. DANGOUMAU, 2006**).

## II.2. Développement d'un médicament

L'accès des nouveaux médicaments sur le marché se fait par le biais d'activités complexes de découverte et de développement. La découverte implique un certain nombre de processus, tels que l'identification et la validation de la cible, l'identification des classes de composés actifs ou « hits », la génération et l'optimisation des composés actifs de base ou « leads », et enfin l'identification d'un candidat pour un développement ultérieur. Le développement, d'autre part, comprend la formulation, les études pharmacologiques et toxicologiques chez l'animal, les essais cliniques et éventuellement l'approbation réglementaire. Ces processus prennent du temps et d'argent, Il faut parfois entre 10 et 15 ans et plus de 800 millions d'US dollars d'après PhRMA (Pharmaceutical Research and Manufacturers of America) pour développer un médicament à partir d'un concept initial et le commercialiser dans le marché. (PhRMA, 2006) (Figure 2) (Grudzinskas, 2001).



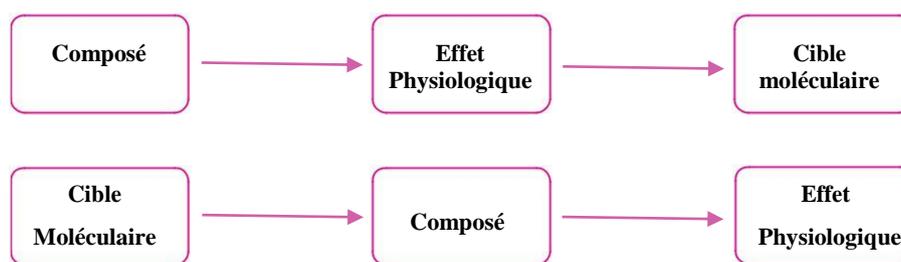
**Figure 2:** Cycle de vie des médicaments.

(Originale)

### II.2.1. Découverte des molécules

Les médicaments sont découverts par deux approches fondamentalement opposées (Figure 3). La première approche consiste à identifier une substance qui a l'effet physiologique désiré quand elle est administrée à un être humain, un animal approprié, ou des cellules. De telles substances peuvent être découvertes par hasard, par le fractionnement des plantes ou d'autres produits connus pour avoir des propriétés médicinales, ou en passant au crible (en faisant un screening) des produits naturels ou des bibliothèques des composés. Le mode d'action de la substance est seulement identifié plus tard après une quantité importante d'essais supplémentaires (L.Stryer et al, 2015).

La deuxième approche commence avec la connaissance d'une cible moléculaire. Puis, on recherche des composés soit par criblage, soit en concevant des molécules avec les propriétés désirées, qui se fixent à la molécule cible et qui modulent ses propriétés. Après que des tels composés soient disponibles, les scientifiques peuvent explorer leurs effets sur des cellules ou des organismes appropriés. Beaucoup de résultats inattendus peuvent être rencontrés au cours de cette recherche, au fur et à mesure que la complexité des systèmes biologiques étudiés se dévoile. (L.Stryer et al., 2015)



**Figure 3 :** Cheminements dans la découverte des médicaments

(L.Stryer et al, 2015).

#### II.2.1.1. Observations dues au hasard :

L'exemple historique sans doute le plus connu de développement d'un médicament après un coup de chance est celui qui a suivi l'observation d'Alexandre Fleming faite en 1928 que les colonies de la bactérie **Staphylococcus aureus** mouraient quand elles étaient adjacentes à celles de la moisissure **Penicillium notatum**. Des spores de la moisissure- avaient « atterri » accidentellement sur des boîtes de cultures de la bactérie. Fleming a immédiatement compris que la moisissure produisait une substance qui pouvait tuer cette bactérie pathogène. Cette découverte aboutit à une approche fondamentalement nouvelle du traitement des infections bactériennes. Howard Florey et Ernest Chain développèrent une forme en poudre de la substance active, appelée, pénicilline, qui devient un antibiotique largement utilisé à partir des années 1940 (L.Stryer et al, 2015).

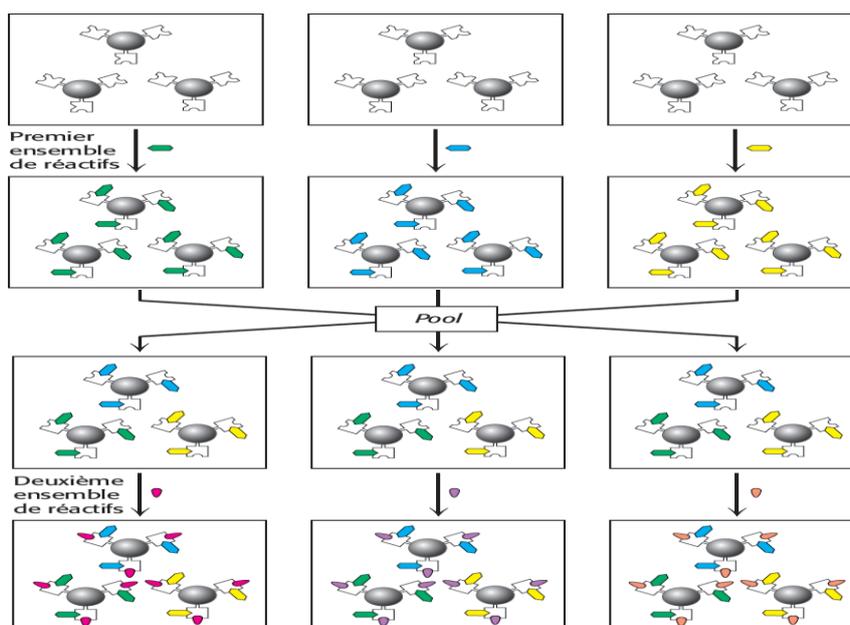
#### II.2.1.2. Crible de bibliothèques des composés :

Il n'y a pas de médicament aussi largement utilisé que l'aspirine. Des observateurs vivant à l'époque d'Hippocrate (~ 400 avant J.-C.) ou même avant avaient rapporté l'utilisation d'extraits d'écorce et de feuilles de saule pour soulager la douleur. En 1829, un mélange appelé salicine fut isolé de l'écorce de saule. Une analyse faite ultérieurement permit d'identifier l'acide salicylique comme étant le composé actif de ce mélange. L'acide salicylique fut autrefois utilisé comme antidouleur, mais ce composé irritait souvent l'estomac. Plusieurs

chercheurs tentèrent de trouver un moyen de neutraliser l'acide salicylique. Felix Hoffmann, un chimiste travaillant dans la compagnie allemande Bayer, a développé un dérivé moins irritant en traitant l'acide salicylique avec une base et du chlorure d'acétyle. Ce dérivé, l'acide acétyl-salicylique, fut nommé aspirine, d'après « a » pour chlorure d'acétyle, « spir » pour **Spiraea ulmaria** (l'ulmaire, une plante à fleurs qui contient aussi de l'acide salicylique) et « ine » (une terminaison courante pour les médicaments) (**L.Stryer et al, 2015**).

Plus récemment, les développeurs de médicaments ont essayé de cribler des bibliothèques plus étendues contenant aussi bien des produits naturels que des composés strictement synthétiques préparés au cours de nombreux programmes de développement de médicaments. Ce processus, appelé screening ou criblage à haut débit :

- **La chimie combinatoire** : Ces composés peuvent être synthétisés un à un pour les tests ou synthétiser un grand nombre de composés de structures apparentées qui diffèrent l'un de l'autre par une ou peu de positions à la fois (c'est la chimie combinatoire). Supposons qu'un édifice moléculaire soit construit avec deux sites modifiables et que 20 réactifs puissent être utilisés pour le premier site, et 40 pour le deuxième. Un total de  $20 \times 40 = 800$  composés possibles pourra être produit (**L.Stryer et al, 2015**).
- **La synthèse en pools partagés** : Les réactions sont réalisées sur des billes. Chacune des réactions utilisant le premier ensemble de réactifs est réalisée sur des échantillons distincts (n) de billes. Les billes sont ensuite « poolées », mélangées et partagées de nouveau en échantillons distincts (m). Le deuxième ensemble de réactifs est alors ajouté. Beaucoup de composés différents seront produits, mais tous les composés présents sur une seule bille seront identiques. Le résultat important de cette méthode est que seulement  $n + m$  réactions aient été réalisées,  $n \times m$  composés ont été produits. (**Figure 4**) (**L.Stryer et al., 2015**).



**Figure 4 :** Synthèse en pools partagés.

(L.Stryer et al, 2015).

### II.2.1.3. Conception rationnellement à partir d'informations sur la structure tridimensionnelle des cibles

Beaucoup de médicaments se fixent sur leurs cibles d'une manière analogue au modèle de la clé et de la serrure d'Emile Fischer. Par conséquent, on devrait être capable de concevoir une clé, si on possède suffisamment de connaissances sur la forme et la composition chimique de la serrure. Dans le cas idéal, on aimerait pouvoir concevoir une petite molécule qui soit dans sa forme et sa structure électronique complémentaire d'une protéine cible, de telle sorte qu'elle se fixe efficacement au site cible. Malgré notre capacité à déterminer des structures tridimensionnelles rapidement, la réalisation de cet objectif doit être repoussée vers le futur. (L.Stryer et al., 2015)

Le nombre de nouvelles molécules originales mises sur le marché est faible, comparé aux « **me-too drugs** » (en Français "médicaments moi-aussi"), c'est à dire des principes actifs appartenant à la même classe qu'un chef de fil, parfois optimisé quant à ses caractéristiques pharmacocinétiques, et possédant parfois des propriétés ancillaires intéressantes (www.pharmacomedicale.org, 2017).

### II.2.2. Essais précliniques

Le développement préclinique consiste à évaluer in vivo dans des systèmes vivants non humains et in vitro par des tests sur des cultures de cellules humaines, l'activité d'un candidat médicament issus des phases de la recherche expérimentale pour connaître son profil de sécurité. Le développement préclinique est une étape indispensable à la connaissance d'un futur médicament avant de l'administrer à l'homme. (M Berthelemy, 2014)

Le programme de développement préclinique comprend diverses activités pharmacologiques, pharmacocinétiques et toxicologiques, indiquées dans le (tableau 2) ci-dessous, qui servent de pont entre la découverte de médicaments et le lancement de la première étude chez l'homme. Ces études sont constitutives d'une partie du dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) du futur médicament et répondent à des normes internationales de qualité scientifique de l'ICH M3 (Conférences Internationales d'harmonisation M3) (D Vohora et Gursharan Singh, 2018).

**Tableau 2** : Les activités de développement préclinique.

(KL Steinmetz et Spack, cité dans D Vohora et Gursharan Singh, 2014)

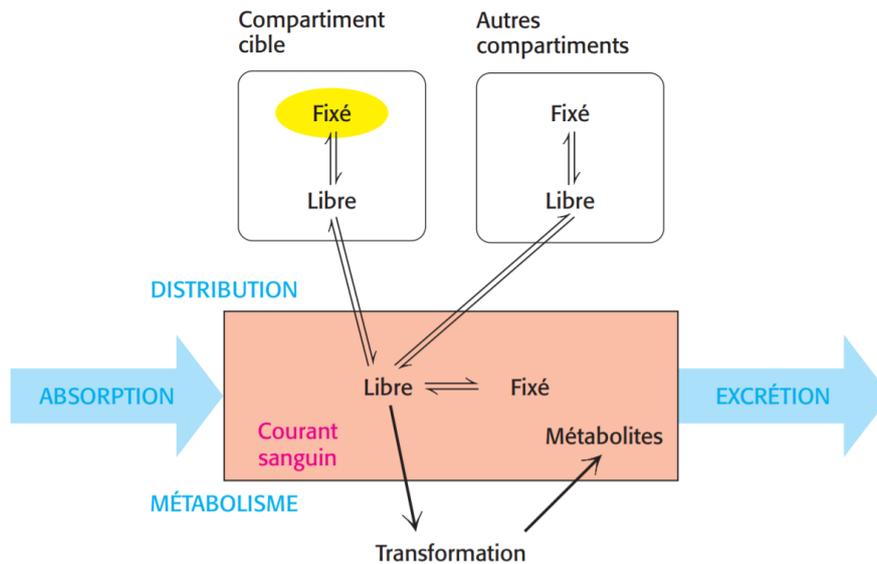
Activités	
1	Préparation de principe actif (PA)
2	Etudes de formulation
3	Méthodes analytiques et bio-analytiques
4	Études pharmacocinétiques et métaboliques
5	Études pharmacologiques et toxicologiques de sécurité
6	bonne pratique de fabrication

#### II.2.2.1. Etudes pharmacocinétiques Et pharmacodynamiques

Les études de Pharmacocinétique/Pharmacodynamique visent à relier ces deux disciplines. Par une description quantitative des processus d'absorption, de distribution, de métabolisation, d'élimination et d'action du médicament, les études PK et/ou PD permettent d'aider à la détermination d'un schéma posologique pour choisir au mieux la voie d'administration, la dose et les fréquences d'administration (M Berthelemy, 2014).

##### II.2.2.1.1. Etudes Pharmacocinétiques

Les études de pharmacocinétique (PK) permettent de décrire le comportement et le devenir du composé dans un organisme vivant. Il s'agit de modéliser son absorption, sa distribution dans l'organisme, son métabolisme c'est à dire comment l'organisme procède à sa transformation et enfin à son élimination (M Berthelemy, 2014) (Figure 5).



**Figure 5 :** L'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion.

(L.Stryer et al, 2015).

#### II.2.2.1.2. Etudes Pharmacodynamiques

La pharmacodynamie décrit les actions d'un médicament sur l'organisme et l'influence des concentrations de médicament sur l'ampleur de la réponse. La plupart des médicaments exercent leurs effets, à la fois bénéfiques et néfastes, en interagissant avec les récepteurs (c'est-à-dire les macromolécules cibles spécialisées) présents à la surface ou dans la cellule. Le complexe médicament-récepteur initie des modifications de l'activité biochimique et / ou moléculaire d'une cellule par un processus appelé transduction du signal (K Whalen ,2015).

La pharmacodynamie en pratiques prend deux phase l'une est le screening (pour mettre en évidence les effets fréquents) et l'autre comporte des études approfondies précisant l'effet observé chez l'animale sain ou malade (G BOUVENOT et VRAY, 2006).

Ces études sont les plus souvent réalisées chez le rat, le chien ,le lapin et dans certains cas sont effectuées sur le porc, le chat, voire le singe (G BOUVENOT et VRAY, 2006).

#### II.2.2.2. Etudes de sécurité

Elles sont définies par les études toxicologiques. Les objectifs de ces études sont multiples. Tout d'abord, ces études permettent la détermination d'une dose sans risque pour l'homme pour l'entrée en phase I des essais cliniques. On établit une marge de sécurité basée sur la dose ou si possible sur l'exposition plasmatique, située entre la NOEL (No Observed Effect Level = dose sans effets) et la NOAEL (No observed Adverse Effect Level = dose sans effets défavorables) (Detilleux et al, 2010).

Les autres objectifs sont d'évaluer les relations possibles entre les effets et l'exposition du produit parent et/ou de ses métabolites, d'évaluer la réversibilité des effets indésirables observés et d'analyser l'influence du sexe, de la dose, du temps ou d'autres facteurs sur les effets indésirables (**M Berthelemy, 2014**).

Les études de sécurité doivent se faire chez au moins deux espèces de mammifères, dont l'une autre que rongeur (par exemple chez le chien ou chez le singe). (**Atkinson et al, 2012**)

Plusieurs référentiels encadrent les études de sécurité. Il s'agit tout d'abord de guidelines ICH tel que les guidelines ICH M3 (R2)19, ICH S7A20 et ICH S7B21. (**M Berthelemy, 2014**).

#### **II.2.2.2.1. Etudes de toxicité à dose unique (Etudes de toxicité aiguë)**

Le but de ces études est de générer des données sur la toxicité aiguë. Ces études sont effectuées par voie intraveineuse et par la voie clinique prévue. Les animaux sont observés pendant 14 jours après l'administration du médicament à la recherche de signes d'intoxication, d'effet sur le poids corporel, de modifications pathologiques graves et d'histopathologie des organes gravement atteints. La dose létale minimale (MLD), la dose maximale tolérée (DMT) et l'organe cible de toxicité (si possible) sont déterminés. Il n'est plus nécessaire que la LD-50 soit un critère d'évaluation dans ces études, bien que certains organismes de réglementation insistent toujours sur ces données (**D Vohora et Gursharan Singh, 2018**).

Les informations sur la toxicité aiguë permettent de mieux comprendre l'impact possible d'un surdosage chez l'homme. Par conséquent, ces données devraient généralement être disponibles avant la réalisation d'études de phase III. Cependant, dans certaines indications telles que la dépression, la douleur et la démence, où les patients risquent de faire un surdosage, ces données doivent être disponibles avant la conduite des études de phase II (**D Vohora et Gursharan Singh, 2018**).

#### **II.2.2.2.2. Etude de toxicité à dose répétée (études de toxicité chronique)**

Les études à doses répétées ont pour but de déterminer les niveaux de sécurité du médicament (NOAEL) après une exposition continue des animaux. La (NOAEL) déterminée chez les espèces animales les plus sensibles fournit des informations essentielles pour le calcul de la dose initiale chez l'homme. En règle générale, la durée des études de toxicité à doses répétées doit être égale ou supérieure à celle des essais cliniques sur l'homme, jusqu'à la durée maximale recommandée pour les études de toxicité à doses répétées. (**D Vohora et Gursharan Singh, 2018**).

Les paramètres évalués dans les études de toxicité à doses répétées comprennent les signes d'intoxication (apparence générale, activité et comportement, etc.), le poids corporel, la consommation de nourriture, les mesures biochimiques et hématologiques, l'analyse urinaire, le poids des organes, l'étude macroscopique et microscopique des viscères et des tissus. Un électrocardiogramme et un fond d'œil sont également pratiqués chez les espèces autres que les rongeurs (**D Vohora et Gursharan Singh, 2018**).

#### **II.2.2.2.3. Etude de reproduction et de tératologie**

Les études de toxicité sur la reproduction visent à étudier l'impact du médicament sur la reproduction. Les observations de ces études se poursuivent pendant un cycle de vie complet, à savoir de la conception d'une génération à la conception de la génération suivante. Le document d'orientation de l'ICH intitulé « Détection de la toxicité sur la reproduction pour les médicaments et de la toxicité pour la fertilité masculine S5 (r2) » du 24 juin 1993 divise ce cycle de vie en étapes suivantes :

1. Pré maturation à la conception.
2. Conception à l'implantation.
3. Implantation à la fermeture du palais dur.
4. Fermeture du palais dur jusqu'à la fin de la grossesse.
5. De la naissance au sevrage.
6. Sevrage à la maturité sexuelle (**D Vohora et Gursharan Singh, 2018**).

Chez la femelle et pour inclure des femmes stérilisées de façon permanente ou ménopausées dans les essais cliniques, des études de toxicité pour la reproduction ne sont généralement pas nécessaires si les études de toxicité à doses répétées pertinentes (y compris une évaluation des organes génitaux de la femme) ont été menées (**D Vohora et Gursharan Singh, 2018**).

#### **II.2.2.2.4. Etudes de cancérogénicité**

Ces études ont pour but d'identifier un potentiel tumorigène chez les animaux et d'évaluer le risque associé chez l'homme. Ceux-ci sont nécessaires pour les produits pharmaceutiques dont l'utilisation clinique prévue est continue pendant au moins 6 mois ou qui sont destinés à être utilisés fréquemment de manière intermittente dans le traitement d'affections chroniques ou récurrentes (par exemple, la rhinite allergique, la dépression et l'anxiété). Celles-ci sont également nécessaires pour les produits pharmaceutiques présentant une source importante de risque cancérogène (**D Vohora et Gursharan Singh, 2018**).

Il est recommandé que le choix des espèces pour les études de cancérogénicité soit basé sur diverses considérations telles que la pharmacologie, la toxicologie à doses répétées, le métabolisme, la toxicocinétique et la voie d'administration. En l'absence de preuves claires en faveur d'une espèce, il est généralement recommandé de réaliser les études chez le rat par la voie clinique prévue. Les souris ne peuvent être utilisées qu'avec une justification scientifique appropriée. En règle générale, la période d'administration devrait être de 24 mois chez le rat et de 18 mois chez la souris **(D Vohora et Gursharan Singh, 2018)**.

#### **II.2.2.2.5. Etudes d'immuno-toxicité**

L'immuno-toxicité fait référence à une immunosuppression ou à un rehaussement involontaire. La directive ICH S8 recommande que le potentiel d'immuno-toxicité soit évalué sur la base d'études de toxicité standard et d'études supplémentaires d'immuno-toxicité, le cas échéant, en fonction de preuves telles que les signaux immunologiques liés aux études de toxicité standard **(D Vohora et Gursharan Singh, 2018)**.

#### **II.2.2.2.6. Etudes de photo-sécurité**

La décision de mener des études de photo-sécurité repose sur divers facteurs tels que les propriétés photochimiques de la substance, le risque connu de potentiel photo-toxique de composés chimiquement apparentés, la distribution tissulaire et des données cliniques ou non cliniques suggérant une photo-toxicité. Dans le cas où les études de photos-sécurité suggèrent un risque photo-toxique ou photo-carcinogène, des mesures de protection appropriées doivent être prises lors des études cliniques en clinique externe **(D Vohora et Gursharan Singh, 2018)**.

#### **II.2.2.2.7. Etudes de toxicité locale**

La directive M3 de l'ICH indique qu'il est préférable d'évaluer la tolérance locale par la voie clinique prévue dans le cadre des études de toxicité générale. Ces études doivent obligatoirement être menées lorsqu'il est proposé que le nouveau médicament soit administré par une voie spéciale (autre que la voie orale) chez l'homme **(D Vohora et Gursharan Singh, 2018)**.

#### **II.2.2.3. Bonnes pratiques de laboratoire**

Ces diverses recherches animales doivent être effectuées selon des règles très strictes décrivant avec précision les conditions de réalisation et les contrôles (par exemple : organisation du laboratoire, conditions d'administration du médicament, nourriture des animaux, conditions d'éclairage des cages, conditions des prélèvements, archivage des résultats, etc.). Ces bonnes pratiques de laboratoire (BPL) sont très contraignantes **(G Bouvenot et Vray, 2006)**.

### II.2.3. Essais cliniques

On entend par essai clinique « toute recherche biomédicale organisée et pratiquée chez l'homme en vue du développement des connaissances biologiques ou médicales ». Un protocole strict est alors mis en place selon les bonnes pratiques cliniques (BPC), et son suivi est contrôlé par des organismes officiels pour assurer la protection des personnes volontaires aux essais cliniques appelés comités de protection des personnes (CPP) ou comité d'éthique (**L. Montastruc et M. Lapeyre-Mestre, 2010**).

#### II.2.3.1. Différentes phases des essais cliniques

##### II.2.3.1.1. Phase I (ou les premières études chez le volontaire sain)

Ce sont les premières administrations à l'homme, le plus souvent si le profil toxicologique de la molécule l'autorise, à des sujets sains volontaires, plus rarement à des malades. L'objectif principal des études de phase I est avant tout la tolérance de la substance (tolérance en dose unique, tolérance de doses répétées avec escalade et recherche de dose maximale tolérée), les études de pharmacocinétique (devenir du médicament dans l'organisme), éventuellement de pharmacodynamie (effet du médicament sur l'organisme). Cette première étape n'est jamais une recherche d'efficacité (**M Molinier-Jasson, P Lechat, 2019**).

##### II.2.3.1.2. Phase II (ou les premières études chez l'homme malade)

Après les premières études de tolérance chez le sujet sain volontaire, on peut passer aux études chez le malade. Limitées à un nombre restreint de sujets, elles s'adressent à un groupe homogène de malades minutieusement sélectionnés. Elles sont en général relativement courtes (inférieures à 3 mois). Le but de ces études est d'obtenir des données de tolérance chez le malade, couplées aux premières recherches d'efficacité (recherche d'indication, recherche de dose efficace). Des dosages du médicament sont souvent pratiqués à ce stade (**M Molinier-Jasson, P Lechat, 2019**).

##### II.2.3.1.3. Phase III (Ou phase des essais comparatifs)

Cette phase est la phase clé du développement d'un médicament en terme de preuve d'efficacité. Son but est de prouver l'efficacité de la substance testée et d'en cerner les effets indésirables les plus fréquents (éventuellement de réaliser des études d'interaction). Les études sont réalisées dans une population de malades variée, hétérogène, aussi proche que possible des malades qui seront amenés à recevoir le médicament par la suite, pendant une période souvent prolongée, sur des effectifs importants (**M Molinier-Jasson, P Lechat, 2019**).

La phase III aboutit à la présentation du dossier d'Autorisation de mise sur le marché (AMM). Si elle est accordée, cette AMM comportera la définition des conditions d'utilisation du médicament rassemblées dans le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP), la notice d'information aux patients et les conditions d'étiquetage des boîtes de médicaments ([www.futura-sciences.com](http://www.futura-sciences.com), 2019).

#### **II.2.3.1.4. Phase IV (Ou Surveillance Après L'AMM)**

Ce sont toutes les études réalisées après commercialisation d'un médicament dans les indications de l'AMM. Ces études permettent de rechercher des effets indésirables, les facteurs de risque susceptibles de modifier l'efficacité de la substance ou de déclencher un effet indésirable, de connaître l'observance, de comparer plusieurs médicaments dans des conditions naturelles d'utilisation. Elles s'adressent aux malades présentant la pathologie pour laquelle le médicament est indiqué. Ce sont souvent des études à très grande échelle (**M Molinier-Jasson, P Lechat, 2019**).

#### **II.2.3.2. Méthodologie Des Essais Cliniques**

Il existe différentes méthodologies d'essais :

##### **II.2.3.2.1. Essai Contrôlé randomisé**

La randomisation, c'est-à-dire le tirage au sort, assure la plus grande probabilité que les différents bras de l'étude soient comparables au départ. Randomiser les sujets dans un groupe revient à randomiser les traitements ou bien l'ordre d'attribution des traitements. Dans certains cas, les médecins eux-mêmes peuvent être randomisés (**M Molinier-Jasson, P Lechat, 2019**).

- **En groupe parallèle** : Chaque groupe reçoit un traitement différent. Les résultats obtenus dans chacun des groupes seront comparés (**M Molinier-Jasson, P Lechat, 2019**).

- **De type cross-over** : Les sujets de l'étude reçoivent alternativement plusieurs traitements de l'étude. Lorsque deux traitements sont comparés, ils reçoivent l'un, puis l'autre, dans un ordre différent. Lorsque plusieurs traitements sont comparés, les sujets peuvent ne pas recevoir toutes les molécules, mais chaque molécule est administrée au même nombre de sujets (**M Molinier-Jasson, P Lechat, 2019**).

##### **II.2.3.2.2. Essai Contrôlé non-randomisé**

Dans un essai clinique non randomisé, les participants sont affectés à différents bras de traitement (ou au bras placebo) selon une méthode non aléatoire (<https://www.eupati.eu/>, 2015).

### II.2.3.2.3. Essai En simple ou en double insu

Les procédures d'insu (en anglais : blind = aveugle), permettent de maintenir la comparabilité en cours d'essai. Il est essentiel que non seulement le malade (simple insu, simple blind) mais aussi l'équipe soignante elle-même (double insu, double blind) ignorent lequel des deux traitements est pris par le malade (**L. MONTASTRUC et M. LAPEYRE-MESTRE, 2010**).

### II.2.3.2.4. Essai Supériorité ou de non-infériorité

L'essai de supériorité a pour objectif de démontrer une différence statistiquement significative entre les traitements. Les essais de non infériorité ont pour but de démontrer qu'un nouveau traitement n'est pas moins efficace qu'un traitement existant (**D Vohora et Gursharan Singh, 2018**).

## II.2.4. Période Administrative

### II.2.4.1. Autorisation de mise sur le marché (AMM)

L'AMM est la garantie que le médicament possède un profil de qualité, de sécurité et d'efficacité satisfaisante et qu'il peut être mis à disposition dans des conditions d'utilisations précises. C'est un premier document légal permettant la commercialisation du produit. Les données scientifiques issues des phases de Recherche et Développement sont compilées par le laboratoire pharmaceutique dans un dossier d'AMM déposé auprès de l'autorité compétente nationale :

- La Direction des Produits Pharmaceutiques DPP au MSPRH.
- l'Agence nationale des produits pharmaceutique ANPP (**M HEDIBEL, 2016**).

### II.2.4.2. Dossier d'AMM ou décision d'enregistrement (DE)

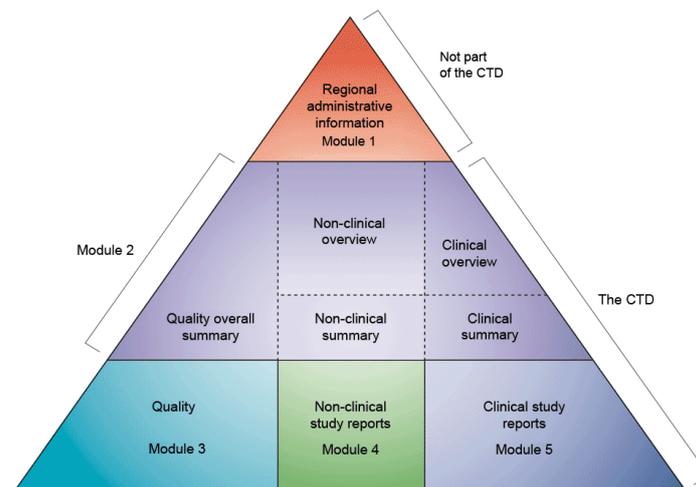
Le dossier de demande d'AMM est présenté par le laboratoire pharmaceutique aux autorités réglementaires des médicaments. C'est un premier document réglementaire permettant la commercialisation du produit. Il comporte plusieurs parties dont la structure est harmonisée au niveau international : la qualité, l'efficacité et la sécurité, d'après les données obtenues au cours des études cliniques et précliniques (**Dangoumau et al, 2006**).

- **Qualité** : renseigne tous les aspects liés à la fabrication industrielle du médicament : principalement la production des matières premières, du produit fini, et les procédures de contrôle mises en place pour garantir une parfaite reproductibilité du procédé de fabrication.
- **Sécurité** : compile les études conduites lors du développement préclinique, c'est à dire les données de comportement in vivo dans l'organisme non humain du médicament : pharmacologie, toxicologie et pharmacocinétique principalement.

• **Efficacité** : correspond à l'ensemble des résultats des études cliniques, menées sur l'homme sain et ou malade, qui permettent de définir les conditions exactes de l'utilisation du médicament et d'établir le rapport bénéfice / risque qui doit être favorable en vue de son utilisation commerciale (**Peltier, 2011**).

### II.2.4.3 Format CTD

Le dossier doit être présent sous un format « Common Technical Document » (CTD) (**Figure 6**) qui est une forme de présentation du dossier pharmaceutique harmonisée, recommandée par l'ICH (international conférence on harmonisation) qui pour les industries, a permis les soumissions de demandes d'AMM sous le même format, qu'importe l'autorité réglementaire à laquelle s'adresse le demandeur (Agence Nationale de Sécurité du médicament et des produits de santé, 2014) (**Dangoumau et al, 2006**).



**Figure 6** : Triangle CTD organisé en cinq modules

(<https://www.ich.org>)

### II.2.4.4. Procédure d'enregistrement en Algérie

La demande d'enregistrement d'un médicament en Algérie est adressée à la direction des produits pharmaceutiques du Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière. L'autorisation de mise sur le marché (AMM) est accordée par le ministre chargé de la santé après avis de la commission nationale de nomenclature (**Décret, 1992**) (**Figure 7**).

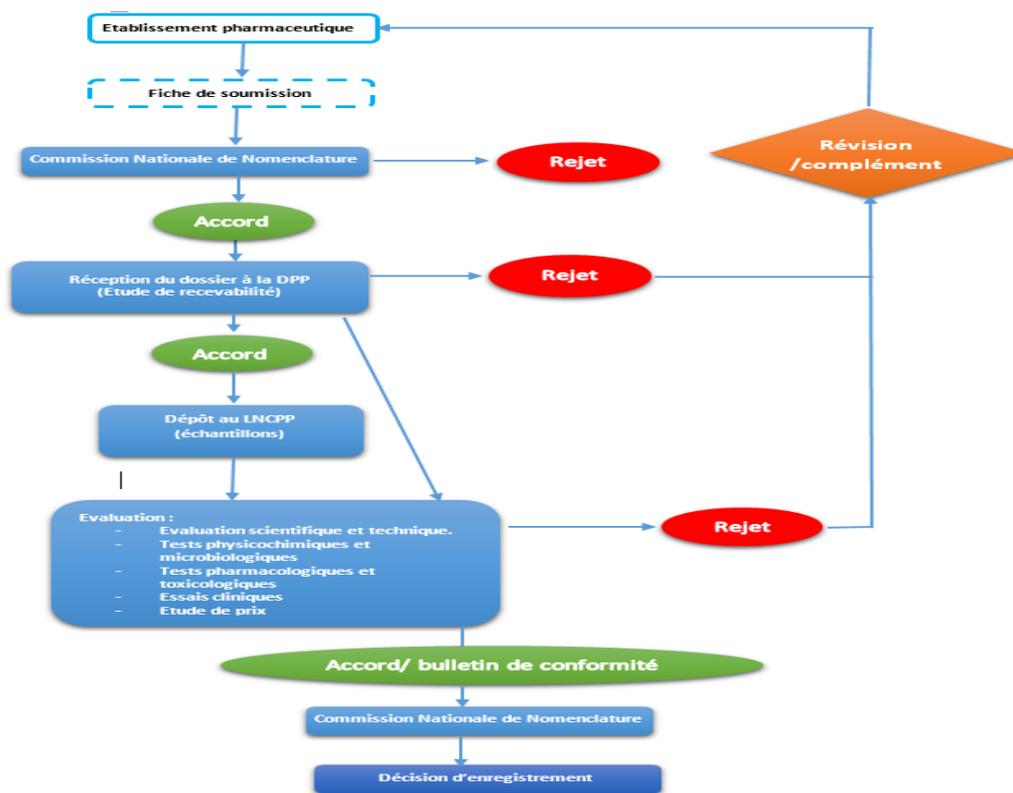


Figure 7 : Procédure d'enregistrement des médicaments.

(M HEDIBEL, 2016).

II.2.5. Production industrielle

C'est l'ensemble des opérations de transformation des matières premières en produits finis (médicaments) (Figure 8). Elle répond à des normes de qualité nationales, et internationales très strictes (les Bonnes Pratiques de Fabrication BPF) (Denise Lebeau ,2018).



Figure 8 : Le médicament de l'élaboration à la réalisation

(M HEDIBEL, 2016).

### II.3. Réglementation de développement des médicaments en Algérie :

Les travaux de recherche et de développement, les tests précliniques, les études cliniques, les installations, ainsi que la fabrication et la commercialisation des médicaments sont et continueront à être soumis à des dispositions législatives et réglementaires complexes définies par diverses autorités publiques en Algérie avec le respect de même type de réglementation en USA et l'Europe et les autres pays développés (**Innate pharma, 2014**).

En cas de non-respect de ces réglementations, les autorités réglementaires peuvent infliger des amendes, saisir ou retirer du marché des produits ou encore suspendre partiellement ou totalement leur production. Elles peuvent également retirer des autorisations de mise sur le marché accordées antérieurement ou refuser les demandes d'autorisations que la Société dépose et engager des poursuites judiciaires (**Innate pharma, 2014**).

#### II.3.1. Réglementation des essais précliniques

Basée sur les bonnes pratiques de laboratoire qui sont comme "un système qualité lié au processus organisationnel et aux conditions dans lesquelles des études non cliniques de sécurité sanitaire et environnementale sont planifiées, exécutées, surveillées, enregistrées, archivées et communiquées" (**WHO-GLP, 2009**).

En Algérie, l'utilisation généralisée des animaux de laboratoire dans la recherche et l'éducation reste un sujet de débat pour établir des réglementations, des politiques et des directives. Le principal objectif est celui d'appliquer les principes directifs internationaux pour la recherche biomédicale utilisant des animaux vivants (ICLAS / CIOMS) et les recommandations de l'OIE sur le bien-être des animaux. Certaines actions ont déjà été menées en Algérie pour promouvoir l'utilisation éthique des animaux à des fins scientifiques, mais de nombreuses autres mesures de durabilité liées aux sciences animales nécessitent une coopération, une harmonisation des politiques et la création de réseaux nationaux et internationaux d'échange et d'expérience (**www.aasea.asso.dz**).

Il existe un ensemble de recommandations concernant les moyens à mettre en œuvre pour réduire l'utilisation des animaux Énoncées en 1959 par les chercheurs britanniques Russell et Burch sous l'appellation « règle des 3 R » (Reduce, Refine, Replace), elles consistent à réduire au maximum le nombre d'animaux utilisés, à améliorer les protocoles expérimentaux et les conditions de vie des animaux avec pour souci premier la prévention de toutes souffrances inutiles, et enfin à remplacer aussi souvent que possible les essais sur animaux vivants (in vivo)

par des méthodes alternatives (cellules cultivées in vitro, organes ou tissus maintenus en survie ex vivo, modèles informatiques de prédiction in silico) (**Denis Sergent, 2012**).

### II.3.2. Règlementation des essais cliniques

On trouve :

- l'arrêté n°112/MSP/MIN du 22 octobre 1995 fixant les bonnes pratiques cliniques.
- l'arrêté n°44 du 21 septembre 1998 portant formulaire de déclaration d'intention pour l'essai d'un médicament ou d'un produit assimilé.
- l'arrêté n°48 du 07 octobre 1998 relatif au formulaire de déclaration d'un effet grave susceptible d'être due à une recherche biomédicale sur un médicament ou un produit pharmaceutique.
- l'arrêté n°67 du 06 décembre 1998 portant création de l'unité des essais cliniques.
- les arrêtés n°387 et 388 du 31 juillet 2006 relatifs aux essais cliniques qui fixent le cadre et le déroulement des essais cliniques (**R.GHEBBI, 2018**).
- Les articles de la section 4 (Dispositions relatives à la recherche biomédicale) du chapitre 4 (Bioéthique) du titre VII (éthique, déontologie et bioéthique médicale) de la loi n° 18-11 du 18 Chaoual 1439 correspondant au 2 juillet 2018 relative à la santé, relatifs aux essais cliniques et le déroulement des essais cliniques (**Loi de santé, 2018**).

### II.3.3. Règlementation administrative des médicaments :

On trouve :

Art. 7. - Les dispositions du titre V de la loi n° 85-05 du 16 février 1985, susvisée, sont complétées par un chapitre 1 bis intitulé « L'agence nationale des produits pharmaceutiques à usage de la médecine humaine »

Art. 173-1. « Il est créé une agence nationale des produits pharmaceutiques à usage de la médecine humaine, dénommée ci-après « l'agence ». L'agence est une autorité administrative indépendante dotée de la personnalité morale et de l'autonomie financière. L'organisation et le fonctionnement ainsi que le statut des personnels de l'agence sont fixés par voie réglementaire ». (**Loi de santé, 2008**).

L'agence a pour missions essentielles, l'enregistrement de médicaments ainsi que l'homologation des produits pharmaceutiques et des dispositifs médicaux destinés à la

médecine humaine, le contrôle de l'information médicale, scientifique et de publicité et l'étude des prix des produits pharmaceutiques ([www.santenews-dz.com](http://www.santenews-dz.com)).

#### **II.3.4. Réglementation de la production industrielle des médicaments**

On trouve :

- Arrêté n° 57 du 23/07/1995 fixant les règles de bonnes pratiques de fabrication (BPF), de conditionnement de contrôle de la qualité des produits pharmaceutiques. **(CCEPEC, 2011)**

Les règles de BPF garantissent que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon cohérente, selon les normes de qualité adaptées à leur emploi et requises par l'autorisation de mise sur le marché **(LNCPP/CECOMED 2010)**.

# Chapitre III

Méthode d'étude de l'activité antidiabétique

### III.1 Définition du diabète expérimental

Le diabète expérimental consiste à produire, chez l'animal, un état comparable au diabète sucré, en vue de mieux comprendre le diabète sucré de l'homme ou de trouver de nouvelles thérapies (Wright et al, 1980).

L'induction expérimentale du diabète sucré chez des modèles animaux est essentielle pour l'avancement de nos connaissances et comprendre les divers aspects de sa pathogenèse et, finalement, trouver de nouvelles thérapies et des traitements.

Les modèles animaux de diabète sont donc très utiles et avantageux dans les études biomédicales car ils offrent des nouvelles perspectives sur le diabète humain (Kumar S et al, 2012).

Une question fondamentale qui sera discutée est celle de l'intérêt de ces différents modèles animaux comme outils précliniques permettant de définir des stratégies thérapeutiques pouvant être transférées de manière efficace à la clinique (Lucienne Chatenoud, 2011).

#### III.1.1 Principaux modèles expérimentaux de diabète

L'utilisation de modèles expérimentaux est indispensable pour étudier l'étiologie et les mécanismes impliqués dans le diabète et ses complications. Aujourd'hui, de nombreux modèles de diabète existent et ont été principalement obtenus chez le rat et la souris.

Dans ces modèles, l'installation du diabète se fait soit spontanément par sélection génétique, soit par induction expérimentale (régime alimentaire, chirurgie, chimie, etc.).

La plupart des modèles disponibles sont basés sur les rongeurs en raison de leur petite taille, de leur intervalle de génération réduit, de leur disponibilité facile et de considérations économiques (Kumar S et al, 2012).



**Figure 9** : Des rongeurs utilisés dans des laboratoires de recherches

(<https://ici.radio-canada.ca/> 2019)

Les principaux modèles utilisés sont repris dans le tableau 3.

**Tableau 3:** Principaux modèles expérimentaux de diabète. (D. Desposito, 2015)

Méthodes d'induction	Méthode	Mécanismes	Type de diabète	Espèces
Chimique	Injection d'alloxane	Destruction des cellules $\beta$ pancréatiques	1	Souris, rats
	Injection de streptozotocine			
Chirurgie	Pancréatectomie (ablation de 90 % du pancréas endocrine)	Apparition d'une intolérance au glucose	2	Souris, Rats
	Ligature du canal pancréatique	Pancréatite et dysfonctionnement des cellules $\beta$ pancréatiques	2	Lapin
Immunologique	Infection par virus encéphalomyocarditis	Intégration de l'ADN viral dans le génome des cellules $\beta$ altérant leurs fonctions notamment la synthèse et sécrétion d'insuline	1	Souris, primate
Régime alimentaire	Régime riche en lipides + une injection de streptozotocine à faible dose	Développement d'une obésité, intolérance au glucose, hyperinsulinisme et hyperglycémie	2	Rat Sprague-Dawley
Transgénique	Déficience récessive pour le récepteur à la leptine	Développement d'une obésité, insulino-résistance, hyperinsulinisme, hyperlipidémie avec glycémie normale	2	Rat Zucker
	Inactivation de certains gènes codant pour le métabolisme insulinique (exemples : insuline humaine, transporteurs de glucose, etc)	Variables en fonction du gène inactivé	2	Souris
Spontané (susceptibilité génétique)	Réaction auto-immune spontanée	Infiltration des cellules T du pancréas dans les îlots de Lagherans et destruction sélective des cellules $\beta$	1	Souris <b>NOD</b> (femelle), Souris Akita (male)
	Sélection génétique pour la récession de certains gènes (exemples : déficience en leptine ou de son récepteur )	Développement d'une insulino-résistance puis d'une hyperglycémie	2	Souris <b>ob/ob</b> Souris <b>db/db</b>

Chaque modèle expérimental permet d'étudier un aspect particulier de la pathologie humaine pour une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques du diabète et de ses complications dans le but de trouver de nouveaux traitements **(D. Desposito, 2015)**.

L'utilisation d'animaux à des fins expérimentales est toujours une réponse négative du public, en particulier sur la base de raisons éthiques et religieuses. Ces efforts ont conduit à la formation progressive d'une législation visant à protéger les animaux utilisés à des fins expérimentales **(Lukačínová et al, 2013)**.

Néanmoins, ces expériences ont contribué de manière significative à la connaissance scientifique actuelle de la biologie humaine, la physiologie, l'endocrinologie et la pharmacologie **(Lukačínová et al, 2013)**.

## **III.2 Modèles in vivo**

### **III.2.1 Modèles animaux de diabète induit par le régime alimentaire**

Ce modèle permet la mise en évidence du rôle de la consommation hypercalorique et de l'âge associés à un manque d'activité physique. La souris spiny (*Acomys cahirinus*) et le rat (*Psammomys obesus*) sont des modèles animaux très utilisés dans l'étude de l'obésité et de diabète de type 2 induit par la nourriture **(Cefalu, W.T, 2006), (R. Raynal, 2006)**.

Les modèles de régimes riches en graisses se caractérisent généralement par le surpoids, l'obésité, une tolérance au glucose altérée et une résistance à l'insuline **(Shahidul et al, 2012)**.

#### **III.2.1.1 Rat des sables (*Psammomys obesus*)**

Dans son milieu naturel, cet animal se nourrit de plantes salées pauvres en calories, alors que soumis à un régime standard de laboratoire, 40% des animaux deviennent obèses et développent un diabète non insulino-dépendant à partir du 3<sup>ème</sup> mois. Les 60% restants ne présentent pas de diabète mais restent obèses avec des taux élevés d'insuline plasmatique.

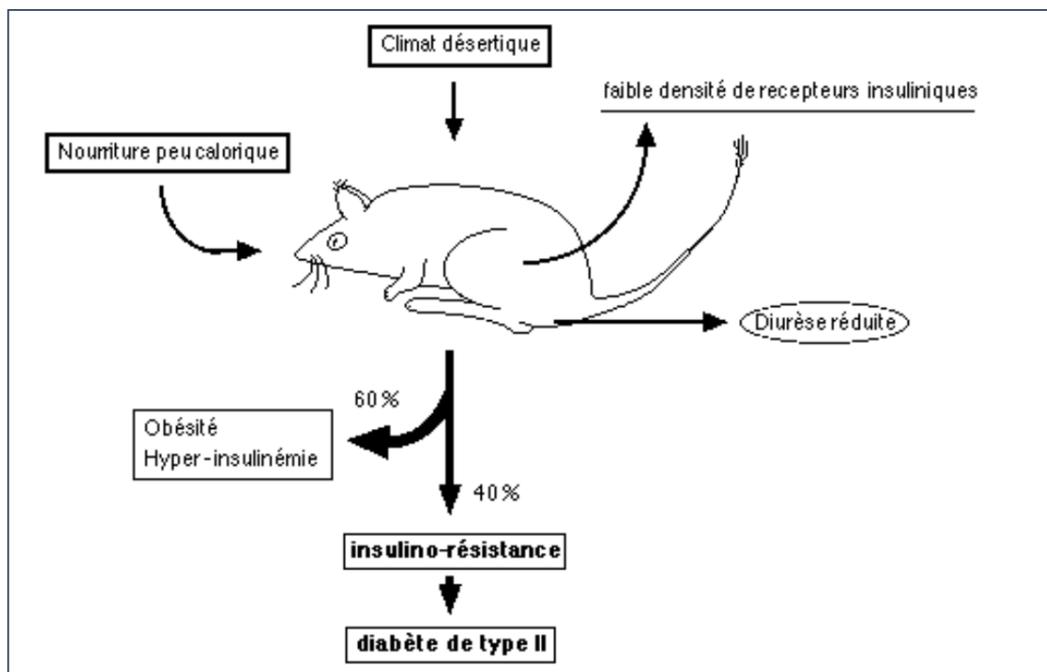
Le rat des sables répond à l'augmentation alimentaire provoquant une surcharge calorique par un accroissement du poids corporel dû à une augmentation de la taille des adipocytes ou cellules graisseuses, une hyperinsulinémie et une intolérance au glucose à différents degrés. L'effet du régime sur l'installation du diabète est réversible.

Les taux d'insuline plasmatique diminuent fortement et celui du glucose plasmatique augmente **(R. Raynal, 2006)**.



**Figure 10 :** *Psammomys obesus*

(Alexkant, 2019)



**Figure 11:** Le milieu de vie du *Psammomys*

(R.RAYNAL, 2006).

Le milieu de vie du *Psammomys* explique sa sensibilité aux apports caloriques et le développement d'un syndrome diabétique chez certains animaux

### III.2.1.2 Souris Spiny (*Acomys cahirinus*)

Cet animal vit dans les régions désertiques et semi-désertiques autour du bassin méditerranéen. Un régime de laboratoire riche en saccharose provoque chez cette souris une réduction des enzymes de la glycolyse qui est une des voies de dégradation métabolique du glucose s'effectuant en présence ou en absence d'oxygène, une réduction de la lipogenèse qui entraîne une hyperlipidémie c'est-à-dire une augmentation des lipides dans le sang, une intolérance au

glucose, une hyperinsulinémie, mais ne provoque pas d'hyperglycémie ni d'obésité (**R. Raynal, 2006**).

Un régime riche en lipides induit une obésité, une intolérance au glucose, une hyperinsulinémie, une augmentation du glucagon plasmatique avec une hyperglycémie mais sans changement dans le contenu pancréatique en insuline (**R. Raynal 2006**).



**Figure 12** : Souris Spiny (*Acomys cahirinus*)

(<https://fracademic.com/>, 2019)

### **III.2.2 Modèles animaux induits chirurgicalement**

#### **III.2.2.1 Définition**

Les modèles induits chirurgicalement les plus utilisées dans la recherche sur le diabète humain sont les grands mammifères comme le chien, le singe et le porc, car leur métabolisme glucidique est assez proche de celui de l'homme (**Like et al, 1976**).

Cependant, une pancréatectomie partielle et / ou des procédés combinés sur les animaux, en particulier les non- rongeurs sont parfois utilisés dans les enquêtes sur le diabète pour certaines études spécifiques (**Kamla et al, 2015**).

#### **III.2.2.2 Pancréatectomie**

Cette méthode consiste en une pancréatectomie complète ou partielle pour provoquer un diabète respectivement de type I ou de type II.

Historiquement, le modèle de chien diabétique découvert par Oskar Minkowski par une pancréatectomie complète chirurgicale a été considéré comme le premier modèle animal du diabète et est maintenant rarement utilisé pour la recherche.

Peu de chercheurs ont utilisé ce modèle pour explorer les effets de produits naturels sur des espèces animales telles que les rats, les porcs, les chiens et les primates (**Kamla et al, 2015**).

### III.2.2.3 Modèle de DNID induit par chirurgie (ligature du canal pancréatique) chez le lapin (*Cuniculus oryctolagus*)

Ce modèle expérimental concerne le développement du syndrome diabétique de type non insulino-dépendant, qui s'installe chez le lapin après ligature du canal pancréatique.

Le lapin, après ligature du canal pancréatique, développe sans régime adapté un diabète qui reproduit relativement bien un diabète humain consécutif à une pancréatite (inflammation du pancréas).

Les principales caractéristiques de ce modèle de diabète sont :

1. Une hyperglycémie précoce et tardive.
2. Une hypo-insulinémie et une hyperglucagonémie.
3. Une hypo c-peptidémie chronique.
4. Une intolérance au glucose.
5. Une fibrose typique d'une pancréatite chronique obstructive **(R. Raynal, 2006)**.

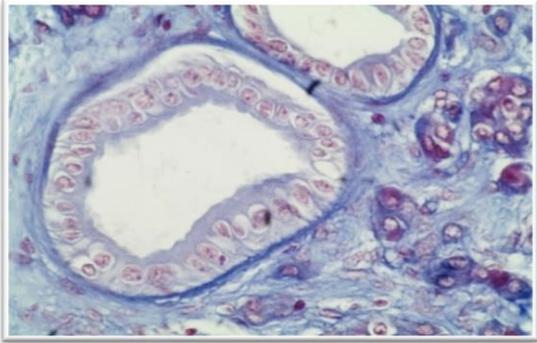
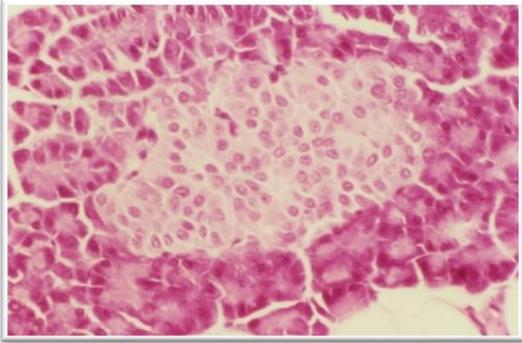


**Figure 13** : Lapin (*Cuniculus oryctolagus*) ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org))

Les limites de cette technique incluent un niveau élevé d'expertise technique et un environnement de salle d'opération adéquat, une intervention chirurgicale majeure et un risque élevé d'infection animale, une analgésie postopératoire adéquate et l'administration d'antibiotiques, une supplémentation en enzymes pancréatiques pour prévenir la malabsorption et la perte de la réponse de régulation du pancréas contre l'hypoglycémie. **(Etuk, E.U 2010)**.

**Figure 14** : Coupes histologiques d'un lapin diabétique et un autre sain.

**(R. RAYNAL 2006)**.

	
<p>Lapin diabétique depuis 15mois</p> <p>Masson x480. Collagène dense bordant des ductules à lumière dilatée. Cluster de cellules endocrines dans un tissu conjonctif fibreux</p>	<p>Îlot de Langerhans (Lapin sain)</p> <p>coloration Hemalun simple. X 300</p>

### III.2.3 Modèles Spontanés

#### III.2.3.1 Modèles de diabète chez les rongeurs

Dans de nombreux modèles, les animaux diabétiques présentent des altérations métaboliques héréditaires qui ont quelques similitudes avec le diabète humain. Les souches animales fournissent un modèle génétiquement bien défini, pouvant apporter des informations sur les relations existantes entre l'hérédité et les facteurs contrôlables de l'environnement (P. Pterides. et al, 1980). Parmi ces modèles on cite :

##### III.2.3.1.1 Souris NOD (Non Obese Diabetic)

Les souris **NOD** ont été sélectionnées au Japon à partir de mutants prédisposés à une cataracte.

Les souris **NOD** représentent un modèle d'étude du diabète de type 1. Il s'agit d'une souche de souris consanguines dont une grande majorité développe spontanément un diabète similaire au diabète de type 1 humain, au bout de 90 à 180 jours de vie. Elles ont pour particularité d'avoir un CMH II d'un type particulier (type IA g7) et de développer spontanément la maladie (Chatzigeorgiou et al, 2009).

Au plan génétique, le diabète de la souris **NOD** est, comme celui de l'homme, polygénique. Certains gènes, prépondérants, sont liés au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) ; d'autres, non liés au CMH, interviennent de façon plus modérée (P. Sai et al, 1997).

Par ailleurs, lorsque les souris **NOD** sont élevées dans un environnement sans germes, l'incidence du diabète augmente, aussi bien chez le mâle que chez la femelle, et peut atteindre

100 %. Ceci suggère que la pathogénie de la maladie n'est pas entièrement génétique, mais que des facteurs environnementaux pourraient aussi jouer un rôle (**P. Sai et al, 1997**).

#### **III.2.3.1.2 Rat BioBreeding (BB)**

Le rat BB est originaire d'une colonie de rats Wistar (**Chappel et Chappel, 1983**). A la différence de celui de la souris NOD, le diabète du rat BB atteint de façon similaire les deux sexes. L'incidence de la maladie à l'âge de 10-15 semaines est d'environ 40 à 70 %. La durée du stade pré-diabétique est plus courte chez ce rat BB que chez la souris NOD, puisque l'insulite n'apparaît qu'environ 2 semaines avant l'émergence clinique de la maladie.

Une différence importante entre la souris NOD et le rat BB est que ce dernier est aussi atteint d'une lymphopénie portant sur les lymphocytes TCD<sub>8</sub><sup>+</sup>. Certaines lignées de rats BB sont résistantes au diabète du fait de l'existence d'une population de cellules T périphériques portant l'antigène RT6.

Ces modèles spontanés de diabète chez les rongeurs semblent assez proches du diabète humain, mais ils ne sont pas toujours très commodes pour tester certaines hypothèses. Par exemple, la longue durée et la variabilité du pré-diabète d'une souris NOD à l'autre rendent parfois difficiles certaines expérimentations visant à prévenir l'apparition de la maladie. Par conséquent, des modalités d'induction ou d'accélération du diabète ont été mises au point, essentiellement chez les souris.

Ces modèles de rongeurs diabétiques, et en première ligne la souris NOD, ont permis une accélération des connaissances sur la pathogénie de cette maladie auto-immune chez l'homme. Plus encore, la souris NOD a fait l'objet, avec succès, de très nombreuses tentatives de prévention de la maladie par des moyens immunologiques variés, dont certains commencent à être testés chez l'homme dans des essais de prévention ou de traitement à un stade très précoce de la maladie.

Chez le rat BB (rat Wistar Bio Breeding) et la souris NOD (Non Obese Diabetic Mice), l'étiologie est auto-immune et ces deux modèles présentent la plupart des caractéristiques de la pathologie humaine diabétique de type 1 (**P. Sai et al, 1997**).

#### **III.2.3.1.3 Souris ob/ob et souris db/db**

Ces deux espèces présentent une mutation génétique causant un diabète de type 2 non obèse avec une transmission autosomale récessive. La physiopathologie de cette affection est un défaut de la synthèse de la leptine ou de sa fonction.

Pour la souris **ob/ob**, il s'agit d'une mutation au niveau du chromosome **6** de la souris de souche **C57BL/6J**. Cette mutation est dans le gène **ob** codant pour la synthèse de la leptine conduisant à une surcharge pondérale de l'animal et une obésité aboutissant à une insulino-résistance (**Srinivasan et al, 2007**).

Pour la souris **db/db**, la mutation est dans le chromosome **4** de la souris de souche **C57BL/KsJ** et précisément sur le gène **db** codant la synthèse des récepteurs de leptine. L'animal est polyphagique, obèse et développe une insulino-résistance (**Chatzigeorgiou et al., 2009**).

#### **III.2.3.1.4 Rat Goto Kaki Zaki**

Mis au point en 1973 par une équipe Japonaise (Goto et ses collaborateurs), le rat Goto Kaki Zaki est un modèle polygénique, non obèse, spontané de diabète de type II, créé en croisant successivement des individus, intolérants au glucose d'une souche de rats Wistar.

Six régions chromosomiques semblent être impliquées dans la genèse du diabète chez ce modèle de rat (locus Nidd/gk1 à 6). Ses principales caractéristiques sont : Une hyperglycémie en rapport avec une baisse de la tolérance au glucose, une hypoinsulinémie avec une résistance à l'insuline et une lipidémie normale.

Chez les rats femelles diabétiques gestantes, le taux élevé de glucose dans le sang serait toxique pour les cellules  $\beta$  du pancréas du fœtus. Ceci constitue un modèle expliquant les anomalies de développement du pancréas endocrine chez le diabétique (**Ktorza et al, 1997**), (**Srinivasan et al, 2007**).

#### **III.2.3.1.5 Cobaye**

Dans les années 1970, un diabète semblable à celui observé chez le jeune diabétique humain a été mis en évidence dans une colonie de cobayes, avec des hyperglycémies, des anomalies des cellules  $\beta$  et des microangiopathies (lésions vasculaires et rénales). La maladie s'est révélée contagieuse bien qu'aucun agent étiologique n'ait pu être identifié (**Lang et al, 1977**).

#### **III.2.3.2 Modèles de diabète chez les carnivores domestiques**

En complément de ces irremplaçables rongeurs diabétiques, des modèles de diabètes de type 1 atteignant spontanément des animaux de plus grande taille, de durée de vie plus longue, c'est-à-dire finalement plus proches de l'homme, seraient dans certains cas très utiles en tant qu'intermédiaires entre ce qui peut être révélé chez un rongeur et une application éventuelle chez le diabétique ou le pré-diabétique humain.

A cet égard, il existe bien un modèle de diabète chez un singe (*Macaca nigra*) qui représente sûrement l'animal le plus proche de l'homme. Toutefois, ce diabète simien (Howard et Fang, 1984) ne correspond pas au diabète insulino-dépendant de type 1 humain. On peut bien y détecter des autoanticorps sériques anti-cellules d'îlots (ICA), mais ceux-ci semblent apparaître secondairement à une altération fonctionnelle et histologique des îlots, caractérisée par une amyloïdose mais sans insulite.

Des carnivores domestiques, le chien surtout, sont aussi atteints de diabète et pourraient, par leur taille et leurs caractéristiques physiologiques, offrir de bons modèles de diabète à la pathologie humaine. Certes, le chien diabétique ne remplacera sans doute jamais la souris NOD, mais il pourrait, dans certains cas, constituer un intermédiaire très utile entre l'expérimentation chez la souris et le passage à une application chez l'homme.

Par exemple, un certain nombre d'effets secondaires liés à l'administration chronique de thérapeutiques préventives du diabète ne peuvent être appréciés chez la souris NOD, ne serait-ce qu'à cause de sa durée de vie disproportionnée avec celle de l'homme.

Mais, il faudra d'abord comprendre les différentes formes de diabète des carnivores avant qu'elles ne puissent être utilisées comme modèles de la pathologie humaine (**P. Sai et al, 1997**).

#### **III.2.4 Modèles transgéniques et Knock-out**

Les techniques de génie génétique ont permis d'obtenir des animaux permettant l'étude de diabète. Les modèles transgéniques dans le cas du diabète sont obtenus par transfert de gènes vers des animaux. Ces gènes appelés transgènes codent pour des molécules intervenant dans le métabolisme insulinoïque. On obtient ainsi une souche génétiquement modifiée.

Les modèles knock-out quant à eux sont obtenus par la suppression ou l'inactivation de ces gènes et l'étude des conséquences de cette intervention. Ces deux modèles permettent l'étude du rôle des gènes sur la production et l'action périphérique de l'insuline. Il existe par exemple des gènes codant pour les récepteurs ISR-1 et ISR-2 de l'insuline et des gènes codants pour le transporteur GLUT2 responsables de la sécrétion d'insuline (**Srinivasan et al, 2007**).

#### **III.2.5 Modèles animaux induits par des substances chimiques**

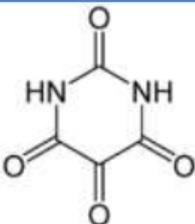
L'alloxane et la streptozotocine sont des substances chimiques largement utilisées pour induire un diabète expérimental chez les animaux.

### III.2.5.1 Diabète induit par l'alloxane

#### III.2.5.1.1 Définition

Employé pour la première fois par **Wöhler** et **Liebig**, le mot Alloxane est issu de la combinaison de deux mots Allantoïne (produit d'oxydation de l'acide urique) et acide oxalurique (dérivé de l'acide oxalique et de l'urée).

L'alloxane ou (2, 4, 5,6 Tétraoxyypyrimidine ; 5,6 dioxypyrimidine) : est un composé issu de l'oxydation de l'acide urique et dont la structure chimique est représentée par la figure 16 (**Lenzen et al, 1988**), (**Szkudelski, 2001**).

La formule chimique	
	
Nom chimique	2, 4, 5,6(1H, 3H)-pyrimidine tétraone monohydrate.
Structure chimique	C <sub>4</sub> H <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>
Masse moléculaire	160,09 g/mol.
Point de fusion	253°C.

**Figure 15** : Propriétés chimiques d'alloxane (**Bouhouche, 2014**)

Les propriétés diabétogènes de ce médicament ont été rapportées plusieurs années plus tard par **Dunn, Sheehan et McLethie (1943)**, qui a étudié l'effet de son administration chez le lapin et fait état d'une nécrose spécifique des îlots pancréatiques. Le diabète alloxanique a été couramment utilisé comme modèle animal du diabète insulino-dépendant (DID) (**Szkudelski, 2001**).

#### III.2.5.1.1 Mode d'action

L'alloxane est un composé très utilisé pour l'induction du diabète chez les animaux rongeurs et non rongeurs.

Son effet diabétogène est obtenu après son administration par les voies : intraveineuse, intra-péritonéale ou enfin sous cutanée.

La dose nécessaire pour induire un diabète dépend de l'espèce utilisée, de la voie d'administration ainsi que du statut nutritionnel de l'animal (les animaux mis à jeun sont plus susceptibles à l'effet de ce produit).

Comme le diabète humain, celui créé expérimentalement provoque les mêmes symptômes que chez l'homme tels que : polydipsie, polyurie, glycosurie, hyperglycémie...etc.

Le mécanisme d'action de l'alloxane a été très étudié et d'une manière prédominante in vitro (sur des cellules  $\beta$  de Langerhans isolées ainsi que sur un pancréas de rat perfusé).

L'action de l'alloxane sur le pancréas est précédée par son absorption rapide par les cellules  $\beta$  de Langerhans. Selon certaines études, on attribue à ce produit une action cytotoxique (nécrose des cellules  $\beta$  de Langerhans) médiée par une génération de radicaux libres (**Szkudelski, 2001**).

L'alloxane, par une analogie structurale au glucose, pénètre à travers les transporteurs de glucose GLUT2 des cellules  $\beta$  pancréatiques.

Au cytosol, l'alloxane est réduit en acide dialurique. Cette réduction est assurée par plusieurs agents tels que le glutathion réduit, la cystéine, l'acide ascorbique et les groupements SH (sulfhydryle) des protéines.

L'alloxane se relie avec deux groupements thiol du site actif de la glucokinase formant un pont disulfure et inactivant l'enzyme.

L'inhibition de la glucokinase, réduit l'oxydation du glucose et la génération de l'ATP, ce qui supprime le signal d'ATP, qui déclenche la sécrétion d'insuline.

Cet effet peut être expliqué par une réduction initiale de la consommation d'ATP, résultante d'un blocus de la phosphorylation du glucose par la glucokinase, ce qui produit une augmentation transitoire de l'ATP dans la cellule  $\beta$  et déclenche une libération transitoire de l'insuline (**Lenzen S, 2008**).

L'alloxane inhibe la sécrétion de l'insuline glucose-dépendante et augmente la perméabilité des membranes des cellules  $\beta$  (**Watkins D et al, 1964**).

En outre, la perturbation de l'homéostasie de calcium intracellulaire, également été signalé à constituer une étape importante dans l'action de l'alloxane. Il a été noté que l'alloxane cytosolique libre augmente la concentration  $Ca^{2+}$  dans les cellules  $\beta$  pancréatiques. L'afflux de calcium est entraîné la capacité de l'alloxane de dépolariser les cellules  $\beta$  du pancréas, qui s'ouvre en outre tension les canaux calciques voltage-dépendants et améliore l'entrée du calcium dans des cellules pancréatiques. La concentration accrue d'ion  $Ca^{2+}$  d'avantage supraphysiologique contribue à la libération d'insuline qui avec ROS (Reactive Oxygen Species) a été noté finalement causer des dommages des cellules  $\beta$  des îlots pancréatiques (**Ankur R et al, 2012**).

Les îlots de l'espèce humaine sont nettement plus résistants à l'alloxane que ceux du rat et de la souris. La dose intra-péritonéale inférieure à 150 mg / kg en poids brut peut être insuffisante pour induire un diabète chez le rat. Les animaux à jeun sont plus sensibles à l'alloxane, alors que l'augmentation du glucose dans le sang fournit une protection partielle (Szkudelski T, 2001).

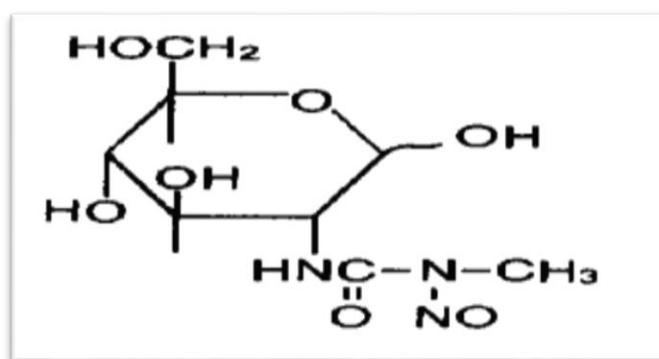
### III.2.5.2 Diabète induit par la streptozotocine

#### III.2.5.2.1 Définition

La streptozocine ou streptozotocine ou (STZ) est un dérivé synthétique de nitrosouréido glucopyranose isolé de fermentations de *Streptomyces achromogenes* qui est classiquement un antibiotique anti tumoral et est chimiquement lié à d'autres nitrosourées utilisées en chimiothérapie anticancéreuse.

L'induction du diabète expérimental chez le rat en utilisant des produits chimiques qui détruisent sélectivement les cellules  $\beta$  pancréatiques est très pratique et simple à utiliser (T. Szkudelski 2001).

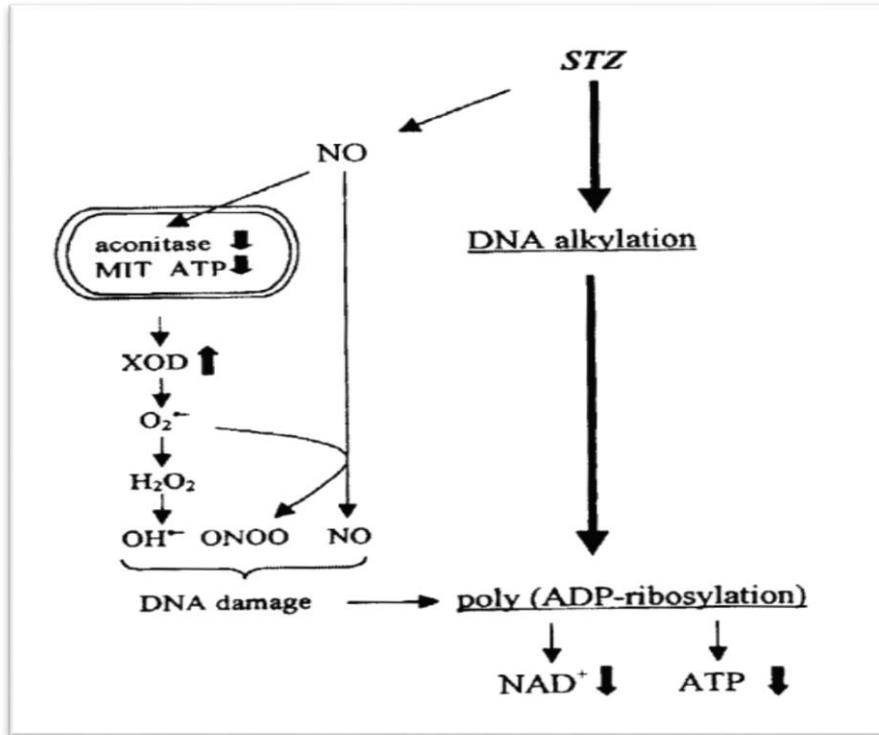
La streptozotocine (STZ) [2-deoxy-2(3-méthyl-3-nitrosouréido) -D-glucopyranose (C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>) est un composé de nitrosamidométhylnitrosourea (MNU) lié au carbone C2 d'un D-glucose (Palsamy et al, 2008).



**Figure 16** : Structure chimique de streptozotocine (Bouhouche, 2014).

#### III.2.5.2.1 Action de la streptozotocine sur la cellule $\beta$ pancréatique

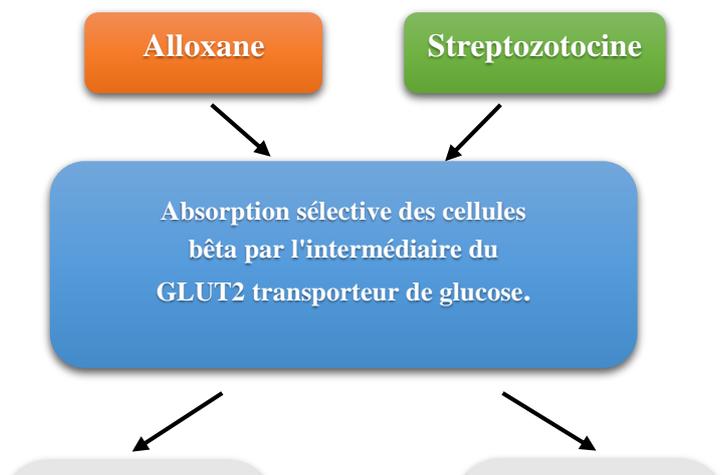
La STZ est captée par la cellule  $\beta$  pancréatique via le transporteur de glucose GLUT2 (Szkudelski, 2001). Elle exerce sa toxicité grâce à une activité d'alkylation de l'ADN. La glycosylation des protéines est un facteur délétère supplémentaire. L'ADP- ribosylation est alors sur-stimulée, ce qui entraîne une baisse de NAD<sup>+</sup> cellulaire, du stock d'ATP conduisant à la mort des cellules bêta pancréatiques (Wattiz et al, 2012).



**Figure 17 :** Mécanisme d'action de la streptozotocine dans la cellule beta pancréatique (Szkudelski, 2001).

Analogues glucose ; toxique de cellule bêta.

Bêta-cellule sélective



**Figure 18 :** Représentation schématique des effets toxiques d'alloxane et de streptozotocine  
(Szkudelski, 2001).

### **III.3 Les modèles in vitro**

#### **III.3.1 Définition :**

Ils permettent d'aborder le dysfonctionnement de l'insulino-sécrétion dans le cas d'un diabète de type 2. Trois méthodes d'expérimentation in vitro existent :

1. A partir d'îlots de Langerhans isolés. L'exploration de plusieurs voies de l'insulino-sécrétion se fait en réponse à plusieurs sécrétagogues tels que le D-glucose et la L-arginine en concentrations croissantes, un agoniste et un antagoniste de la voie  $\beta$  adrénergique stimulatrice (isoprotérénol associé ou non au propranolol) et un agoniste  $\alpha_2$  adrénergique

inhibiteur (clonidine). Quelle que soit la voie stimulée il apparaît une diminution de l'insulino-sécrétion.

2. A partir d'un pancréas isolé et perfusé. L'exploration de la libération d'insuline est dynamique.
3. A partir d'îlots de Langerhans perfusés. Cette approche concerne l'étude de la mémoire de la cellule  $\beta$  (**R. Raynal 2006**).

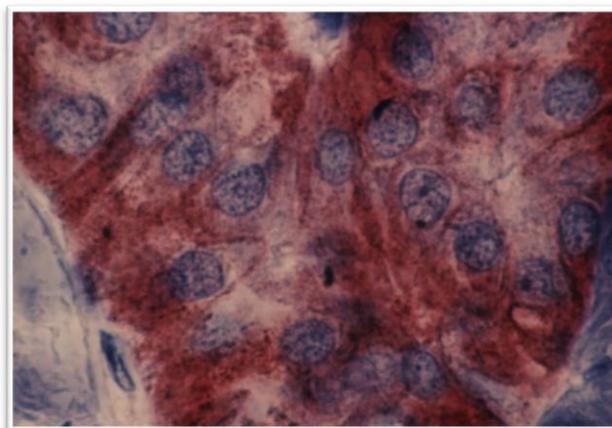
### III.3.2 Modèle cellulaire du DNID : la cellule B

L'étude des conséquences du diabète NID à l'échelle cellulaire se concentre bien entendu sur les atteintes subies par les cellules  $\beta$  pancréatiques à l'origine de l'insulinosécrétion.

En effet, la diminution de la sensibilité au glucose de ces cellules, puis leur destruction, constitue avec les phénomènes d'insulino-résistance un des deux piliers de l'état diabétique.

L'étude de l'ensemble des cellules  $\beta$  (la population  $\beta$ ) et de leurs interactions avec leur milieu se révèle être une des clefs de la compréhension de l'état diabétique.

La plupart des études cellulaires prennent pour base 5 lignées de cellules  $\beta$  (INS1, HIT, bTC, MIN6 et RIN) qui proviennent généralement de tumeurs endocriniennes, d'insulinomes de rat. Ces cellules présentent l'avantage, contrairement aux autres cellules  $\beta$ , de pouvoir être facilement cultivées à cause de leur capacité de prolifération. Elles permettent ainsi l'obtention de résultats reproductibles et comparables (**R. Raynal, 2006**).



**Figure 19** : Cellules Bêta immunoréactives dans îlots de Langerhans d'un individu sain

(**R. Raynal, 2006**)

---

La maîtrise de la prolifération des cellules  $\beta$  pancréatique est importante car elle permettrait soit de reconstituer in vivo une population de cellules  $\beta$  fonctionnelles soit de développer in vitro des cellules pouvant par la suite être implantées dans l'organisme (**R. Raynal, 2006**).

# **Etude expérimentale**

## I. Objectifs

Avant de réaliser une évaluation préclinique de l'activité antidiabétique d'une substance, il est nécessaire, en premier lieu de mettre au point un diabète expérimental qui consiste à produire chez un modèle (animal), un état comparable au diabète sucré.

L'induction expérimentale du diabète sucré chez des modèles animaux est essentiel pour l'avancement de nos connaissances et la compréhension des divers aspects de sa pathogenèse et, finalement, trouver de nouvelles thérapies et des traitements.

L'objectif principal de la présente étude est la mise au point d'un modèle expérimental d'un diabète en choisissant une méthode chimique qui consiste à injecter l'alloxane à des rats.

L'objectif secondaire est de comparer la réponse des animaux à l'induction du diabète suite à l'administration de l'alloxane en fonction du sexe.

## II. Terrain d'étude

L'étude expérimentale a été effectuée au niveau du laboratoire de pharmacologie de département de pharmacie (Université Saad Dahlab - Blida 1), et cela pendant une période allant du 19 Mai 2019 au 16 Juin 2019.



**Figure 20** : Laboratoire de pharmacologie (Université Saad Dahlab -Blida 1).

### III. Matériels et méthode

#### III.1 Réactif animal

##### III.1.1 Présentation

Cinquante rats de type Wistar Strain Albino dont vingt-cinq de chaque sexe, âgés 2 mois, pesant entre 74 et 120 grammes ont été procurés de l'institut pasteur d'Alger (centre d'élevage de Kouba-Alger).



**Figure 21** : Rats de type Wistar Albino.

##### III.1.2 Conditions d'élevage

Les rats ont été placés dans des cages en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable de dimensions (26 cm ×42 cm), celle-ci sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois (sciure). Les cages sont nettoyées et la litière changée tous les jours jusqu'à la fin de l'expérimentation.

La nourriture se compose de croquettes (Mais, sauge, des résidus de moulures, des acides aminés, vitamines, antioxydants, sels, antibiotiques) procurés par l'Office National des Animaux du Bétail (ONAB).

L'eau fournie aux rats à l'aide des biberons de plastique est celle du réseau urbain.

Avant leur utilisation, les rats subissent une période d'adaptation au niveau de laboratoire pendant 10 jours.



**Figure 22 :** Elevage des rats au niveau de laboratoire.

## **III.2 Réactifs chimiques et appareils**

### **III.2.1. Consommables**

- Fioles jaugées (25, 1000 ml).
- Bêchers.
- Tubes secs.
- Spatule.
- Seringues (2,5 - 5 ml).
- Compresse.
- Entonnoir.
- Eau physiologique.
- Gants de contention.
- Gants d'examen en latex.

### **III.2.2 Réactifs chimiques**

- Alloxane monohydrate (Sigma Aldrich).
- Glucose (poudre).
- Alcool chirurgical à 70°.

### **III.2.3 Equipements**

- Balance de précision Nahita (précision : 1000g/0,1g).
- Balance de haute précision Kern (précision : 220 g/0.1mg).
- Lecteur et bandelettes de glycémie Bionime® (0,5 à 6g/l).
- Boîte de contention.

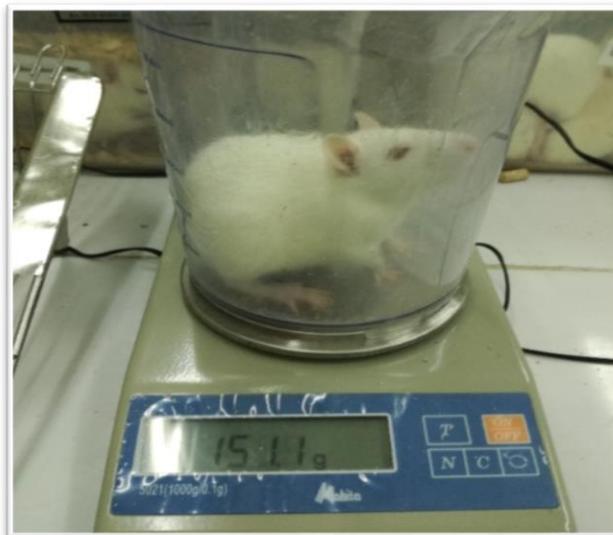
### III.3 Choix de la méthode

Pour induire un diabète chez les rats Wistar deux méthodes sont possibles : une méthode chirurgicale qui consiste à une ablation du pancréas, et une méthode chimique qui consiste à administrer soit l'alloxane soit la streptozotocine et en raison de la difficulté d'exécuter une pancréatectomie et l'indisponibilité de la streptozotocine, la méthode choisie pour l'induction du diabète dans la présente étude est l'administration de l'alloxane.

### III.4 Protocol expérimental

#### III.4.1 Pesée des animaux

Les rats ont été pesés à l'aide d'une balance de précision tout au long de l'expérimentation.



**Figure 23** : Pesée des rats.

#### III.4.2 Constitution des lots

Parmi les cinquante rats, quinze de chaque sexe dont le poids est compris entre 105 et 154 ont été inclus dans l'étude.

Les trente rats ont été divisés en quatre lots :

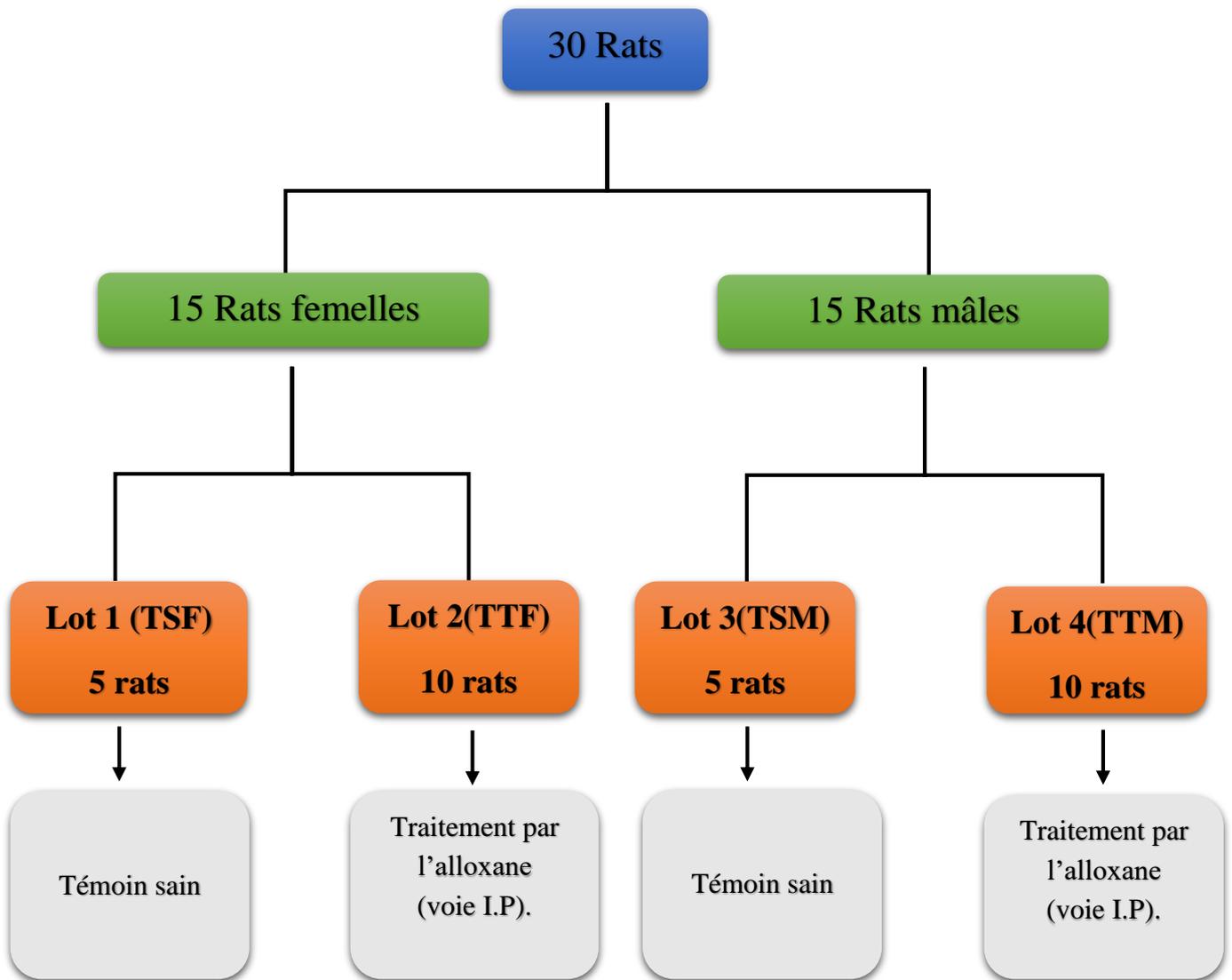
**Lot 1(TSF)** : lot témoin sain de cinq rats femelles.

**Lot 2 (TTF)** : lot traité par l'alloxane de dix rats femelles.

**Lot 3 (TSM)** : lot témoin sain de cinq rats males.

**Lot 4 (TTM)** : lot traité par l'alloxane de dix rat males.

Pour faire un suivi de chaque rat durant l'expérimentation, l'identification des rats se fait par numérotation au niveau de la queue à l'aide d'un marqueur permanent.



**Figure 24** : Schéma récapitulatif de la constitution des lots.

### III.4.3 Administration de l'alloxane

L'alloxane monohydrate dissoute dans l'eau physiologique à 0.9 %, fraîchement préparée est administré chez les rats à jeun depuis 18 heures à la dose de 150 mg/kg de poids corporel par une injection intrapéritonéale unique. Les rats ont été ensuite gardés dans les cages avec un accès à la nourriture et des bouteilles de glucose à 5 % pendant 24 heures pour prévenir le choc hypoglycémique.

**Tableau 4** : Représentation des lots et des doses d'alloxane administrées.

Lot	Désignation	Dose administrée mg/kg
01	Témoin sain « TSF », n = 5 rats femelles	Aucune dose
02	Groupe traité par l'alloxane par voie IP « TTF » n = 10 rats femelles	150
03	Témoin sain « TSM », n = 5 rats mâles	Aucune dose
04	Groupe traité par l'alloxane par voie IP « TTM », n = 10 rats mâles	150

#### III.4.4 Mesure de la glycémie

Des échantillons issus de ponction de sang ont été prélevés de la veine caudale de chaque rat et la lecture de la glycémie à jeun est effectuée au : jour 1 (avant l'injection), jour 3 (48 heures après l'injection) et jour 8, par un glucomètre.

**Figure 25** : Mesure de la glycémie à l'aide d'un glucomètre Bionime®.

Un rat est considéré comme diabétique si sa glycémie à jeun est supérieure à 2.5 g/l. (M. Misra et U. Aiman, 2012)

Des doses supplémentaires d'alloxane supérieures à 150 mg/kg peuvent être administrées en cas d'échec d'induction après 48 heures de l'injection ou en cas de réversibilité.

Les conditions d'administration de l'alloxane sont identiques pour toutes les doses.

## IV. Résultats et interprétation

### IV.1 Suivi Pondéral

La variation du poids des rats constitue un paramètre très important. Le poids des animaux a été suivi tout au long de l'étude : avant et après l'injection d'alloxane.

Les résultats de la variation du poids sont représentés dans les tableaux suivants :

**Tableau 5 :** Evolution du poids en gramme des rats femelles (lot 1 et 2).

	LOT 1 (TSF)					LOT 2 (TTF)									
Rat	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>1<sup>er</sup> injection d'alloxane (Dose=150mg /Kg)</b>															
<b>J1</b> (t=0)	114	117	140	131	125	154	117	113	111	133	109	140	122	123	105
<b>J3</b>	118	117	140	132	130	105	107	99	95	129	92	156	134	107	104
<b>J8</b>	128	126	160	138	145	126	108	148	126	104	81	140	100	115	87
<b>2<sup>ème</sup> injection d'alloxane (Dose=175 mg/Kg)</b>															
<b>J1</b> (t=0)	128	126	160	138	145	126	108	148	126	104	81	140	100	115	87
<b>J3</b>	131	135	165	144	153	136	109	150	134	110	82	140	110	96	82

**Tableau 6 :** Les moyennes d'évolution du poids en gramme des rats femelles (lot 1 et 2)(±Erreur standard).

	1 <sup>ère</sup> injection d'alloxane (dose 1=150 mg /kg)			2 <sup>ème</sup> injection d'alloxane (dose 2=175 mg /kg)	
	J1	J3	J8	J1	J3
<b>Lot 1 (TSF)</b>	125,4 ± 4,71	127,4 ± 4,37	139,4 ± 6,19	139,4 ± 6,19	145,6 ± 6,16
<b>Lot 2 (TTF)</b>	122,7 ± 4,88	112,8 ± 6,43	113,5 ± 6,88	113,5 ± 6,88	114,9 ± 7,65

**Tableau 7:** Evolution des poids en gramme des rats males (lot 3 et 4).

	LOT 3 (TSM)					LOT 4 (TTM)									
Rat	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>1<sup>er</sup> injection d'alloxane (Dose=150mg /Kg)</b>															
<b>J1</b> (t=0)	110	105	112	120	120	116	130	152	146	184	130	126	115	176	130
<b>J3</b>	115	112	115	126	123	132	137	151	136	177	137	122	134	182	134
<b>2<sup>ème</sup> injection d'alloxane (Dose=165 mg/Kg)</b>															
<b>J1</b> (t=0)	115	112	115	126	123	132	137	151	136	177	137	122	134	182	134
<b>J3</b>	117	113	115	125	126	136	138	155	147	184	130	126	115	176	130
<b>3<sup>ème</sup> injection d'alloxane (Dose=175 mg/Kg)</b>															
<b>J1</b> (t=0)	117	113	115	125	126	136	138	155	147	184	130	126	115	176	130
<b>J3</b>	119	115	118	129	132	110	106	118	130	166	110	98	99	130	120
<b>J8</b>	127	130	129	145	154	101	95	96	155	139	101	85	99	92	91

**Tableau 8 :** Les moyennes d'évolution des poids (g) des rats males (lot 3 et 4) ( $\pm$  erreur standard).

	1 <sup>ère</sup> injection d'alloxane (dose 1=150 mg /kg)		2 <sup>ème</sup> injection d'alloxane (dose =165 mg /kg)		3 <sup>ème</sup> injection d'alloxane (dose=175 mg /kg)		
	J1	J3	J1	J3	J1	J3	J8
<b>Lot 3 (TSM)</b>	113,4 $\pm$ 2,92	118,2 $\pm$ 2,67	118,2 $\pm$ 2,67	119,2 $\pm$ 2,65	119,2 $\pm$ 2,65	122,6 $\pm$ 3,32	137 $\pm$ 5,32
<b>Lot 4 (TTM)</b>	140,5 $\pm$ 7,53	144,2 $\pm$ 6,29	144,2 $\pm$ 6,29	143,7 $\pm$ 7,00	143,7 $\pm$ 7	118,7 $\pm$ 6,34	105,4 $\pm$ 7.20

✓ **Lot N° 1 :**

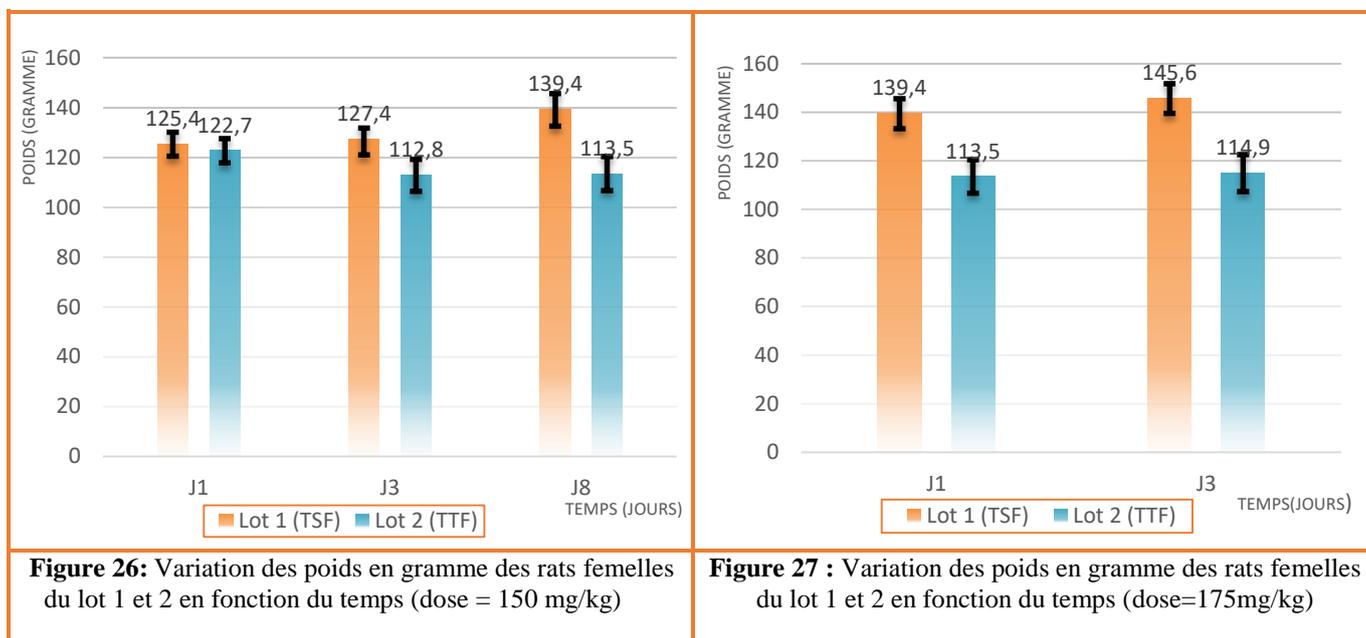
Les rats du lot témoin sain femelle ont présenté un gain régulier de poids corporel.

La valeur moyenne du poids corporel passe de **125,4 $\pm$ 4,71** g en début d'expérimentation à **145,6 $\pm$ 6,16** g en fin de cette étude (un gain de poids de l'ordre de **16,10** %).

✓ **Lot N° 2 :**

Les rats du lot femelle traité par l'alloxane (lot N° 2) ont présenté une perte du poids après l'injection de l'alloxane à la dose 150mg/kg avec une valeur moyenne qui passe de **122.7 $\pm$ 4,88** g en début de l'expérimentation à **112.8 $\pm$ 6,43** g 48 heures après l'injection (une perte de poids de l'ordre de **8.06** %). Au 8<sup>ème</sup> jour suite à l'injection, la valeur moyenne du poids de ce lot était **113,5 $\pm$ 6,88** g marquant un arrêt de la perte progressive du poids.

Après 48 heures de l'injection de l'alloxane à la dose de 175mg/kg la valeur moyenne reste stable et passe de **113.5±6,88 g** à **114.9±7,65**.



#### ✓ Lot N° 3 :

Les rats du lot témoin sain male ont présenté un gain régulier de poids corporel.

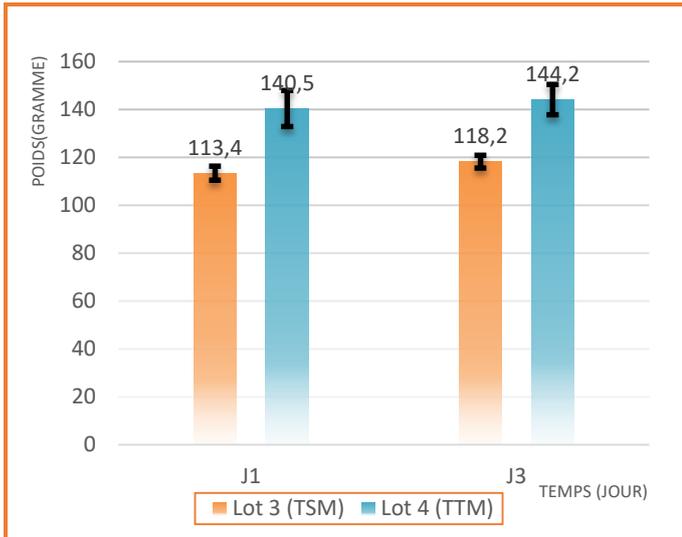
La valeur moyenne passe de **113.4±2,92 g** en début d'expérimentation à **137±5,32 g** (un gain de poids de l'ordre de **20.81 %**)

#### ✓ Lot N° 4 :

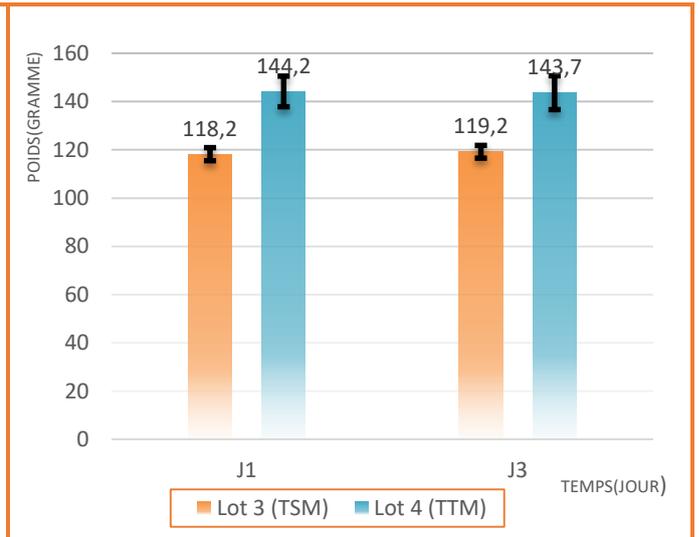
Les rats du lot male traité par l'alloxane (lot N° 4) ont présenté un gain du poids après l'injection de l'alloxane à la dose 150 mg/kg avec une valeur moyenne qui passe de **140.5±7,53 g** avant l'injection à **144.2±6,29 g** 48 heures après l'injection.

Après 48 heures de l'injection de l'alloxane à la dose 165mg/kg, la valeur moyenne passe de **144.2±6,29 g** à **143.7±7,00 g**.

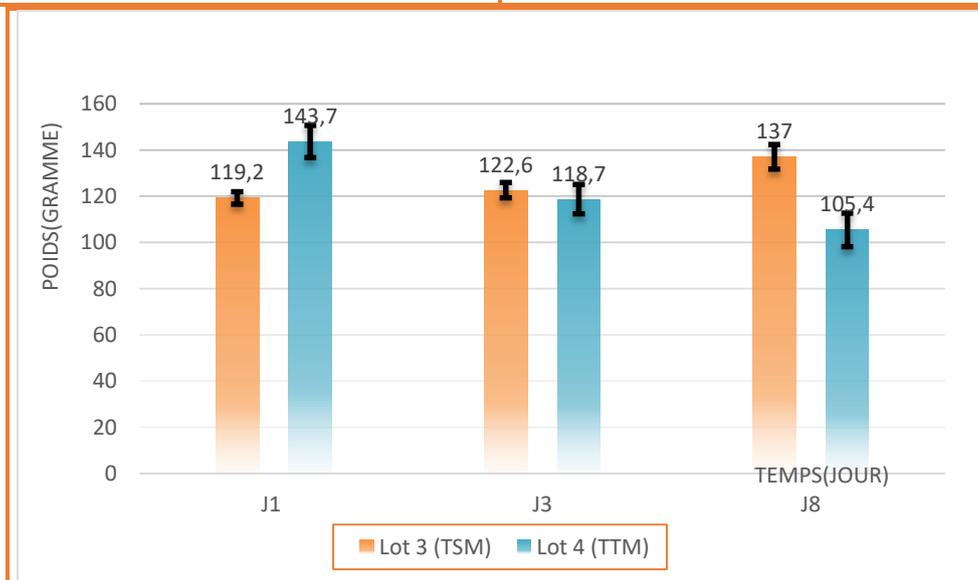
La perte de poids pour ce lot suivant l'injection de l'alloxane à la dose de 175 mg/kg était de l'ordre de **11,87%** et **21,75%** au jour 3 (48 heures après l'injection) et jour 8 respectivement.



**Figure 28 :** Variation des poids en gramme des rats males du lot 3 et 4 en fonction du temps (dose = 150 mg/kg)



**Figure 29 :** Variation des poids en gramme des rats males du lot 3 et 4 en fonction du temps (dose=165mg/kg)



**Figure 30 :** Variation des poids en gramme des rats males du lot3 et 4 en fonction du temps (dose=175mg/kg)

## IV.2 Suivi global de la glycémie (mâles et femelles)

### IV.2.1 Suivi de la glycémie des rats femelles :

Les résultats de la glycémie sont représentés dans les tableaux 9 et 10 :

**Tableau 9 :** Evolution de la glycémie en g/l des rats femelles (lot1 et 2).

rat	LOT 1 (TSF)					LOT 2 (TTF)									
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>1er injection d'alloxane (Dose=150mg /Kg)</b>															
<b>J1 (t=0)</b>	0,79	0,85	0,80	1,21	0,97	1,04	0,76	0,6-1,1	0,99	1,06	1,05	0,99	1,01	0,96	0,83
<b>J3</b>	0,79	0,95	0,98	1,07	0,96	> 6	5,84	5,02	> 6	> 6	> 6	1,20	1,01	1,29	5,72
<b>J8</b>	0,87	0,75	0,78	0,76	0,76	0,91	0,64	0,83	1,9	1,85	0,52	0,81	0,90	0,83	0,49
<b>2ème injection d'alloxane (Dose=175 mg/Kg)</b>															
<b>J1 (t=0)</b>	0,87	0,75	0,78	0,76	0,76	0,91	0,64	0,83	1,9	1,85	0,52	0,81	0,90	0,83	0,49
<b>J3</b>	0,63	0,73	0,77	0,67	0,75	0,85	0,68	0,69	0,50	0,72	0,57	0,68	0,93	0,81	0,44

**Tableau 10 :** Les moyennes d'évolution de la glycémie en g/l des rats femelles (Lot 1 et 2) ( $\pm$ Erreur standard)

	1ère injection d'alloxane (dose =150 mg /kg)			2ème injection d'alloxane (dose =175 mg /kg)	
	J1	J3	J8	J1	J3
<b>Lot 1 (TSF)</b>	0,92 $\pm$ 0,078	0,95 $\pm$ 0,045	0,78 $\pm$ 0,022	0,78 $\pm$ 0,022	0,71 $\pm$ 0,026
<b>Lot 2 (TTF)</b>	0,96 $\pm$ 0,03	4,40 $\pm$ 0,71	0,97 $\pm$ 0,15	0,97 $\pm$ 0,15	0,69 $\pm$ 0,04

#### Lot N° 1 :

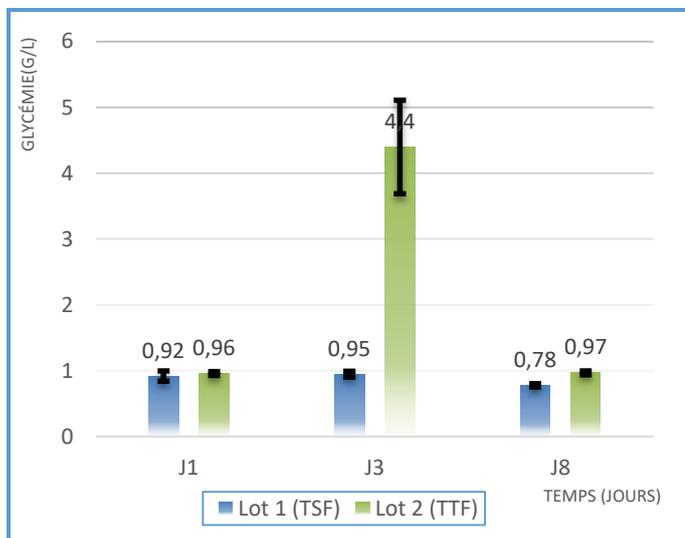
Pour les rats témoins sains femelles aucun changement significatif de la glycémie n'a été remarqué. Celle-ci reste dans la limite normale (1g/l).

#### Lot N° 2 :

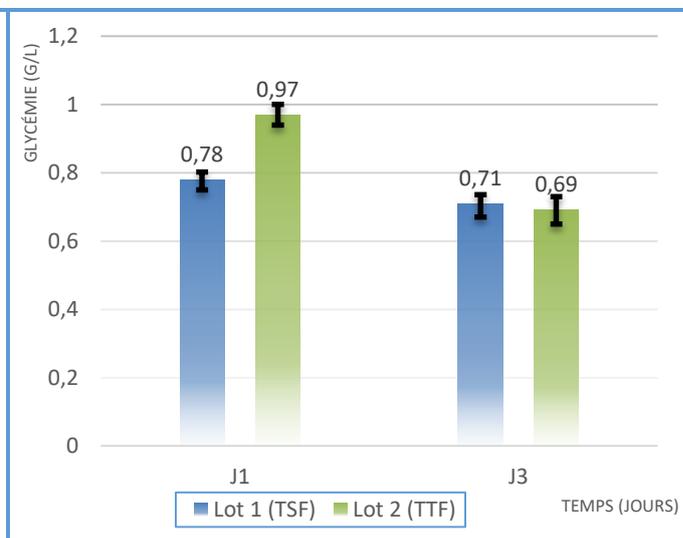
7 rats du lot femelle traité par l'alloxane ont présenté une hyperglycémie marquée après 48 heures de l'injection de l'alloxane à la dose de 150mg/kg (**70%**). Au 8<sup>ème</sup> jour suivant à l'injection tous les rats de ce lot ont restauré une valeur normale de glycémie.

La restauration d'une glycémie normale au 8<sup>ème</sup> jour a imposé la réadministration d'une nouvelle dose d'alloxane de 175mg/kg.

Après 48 heures de l'injection de l'alloxane à la dose 175mg/kg tous les rats du lot ont eu une valeur normale de glycémie.



**Figure 31 :** Variation de la glycémie en g/l des rats femelles du lot 3 et 4 en fonction du temps (dose = 150 mg/kg)



**Figure 32:** Variation de la glycémie en g/l des rats femelles du lot 3 et 4 en fonction du temps (dose=175mg/kg)

### IV.2.2 Suivi de la glycémie des rats mâles

Les résultats de la glycémie sont représentés dans les tableaux 11 et 12

**Tableau 11 :** évolution de la glycémie en g/l des rats males (lot 3 et 4)

rat	LOT 3 (TSM)					LOT 4 (TTM)									
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>1<sup>er</sup> injection d'alloxane (Dose=150mg /Kg)</b>															
<b>J1</b> (t=0)	0,69	0,70	0,74	0,72	0,68	0,96	0,85	0,91	1,00	0,96	0,82	0,88	0,96	0,91	0,86
<b>J3</b>	0,78	0,78	0,86	0,89	0,78	0,92	0,54	1,08	0,92	0,86	1,03	0,96	0,94	1,11	0,94
<b>2<sup>ème</sup> injection d'alloxane (Dose=165 mg/Kg)</b>															
<b>J1</b> (t=0)	0,78	0,78	0,86	0,89	0,78	0,92	0,54	1,08	0,92	0,86	1,03	0,96	0,94	1,11	0,94
<b>J3</b>	0,85	0,65	0,77	0,88	0,98	0,97	0,96	0,96	0,85	0,97	0,91	0,82	0,88	0,96	0,74
<b>3<sup>ème</sup> injection d'alloxane (Dose=175 mg/Kg)</b>															
<b>J1</b>	0,85	0,65	0,77	0,88	0,98	0,97	0,96	0,96	0,85	0,97	0,91	0,82	0,88	0,96	0,74
<b>J3</b>	0,75	0,72	0,66	0,78	0,91	>6	>6	2,69	1,34	4,02	>6	2,61	3,94	4,61	5,14
<b>J8</b>	0,79	0,63	0,75	0,86	0,93	>6	>6	2,20	1,20	4,73	>6	3,11	4,27	4,87	5,04

**Tableau 12** : les moyennes d'évolution de la glycémie en g/l des rats mâles (lot 3 et 4) ( $\pm$ Erreur standard)

	1 <sup>ère</sup> injection d'alloxane (dose 1=150 mg /kg)		2 <sup>ème</sup> injection d'alloxane (dose 2=165 mg /kg)		3 <sup>ème</sup> injection d'alloxane (dose =175 mg /kg)		
	J1	J3	J1	J3	J1	J3	J8
<b>Lot 3(TSM)</b>	0,70 $\pm$ 0,01	0,81 $\pm$ 0,023	0,81 $\pm$ 0,023	0,82 $\pm$ 0,05	0,82 $\pm$ 0,05	0,76 $\pm$ 0,04	0,79 $\pm$ 0,05
<b>Lot 4 (TTM)</b>	0,91 $\pm$ 0,01	0,93 $\pm$ 0,04	0,93 $\pm$ 0,04	0,90 $\pm$ 0,024	0,90 $\pm$ 0,024	4,23 $\pm$ 0,5	4,34 $\pm$ 0,52

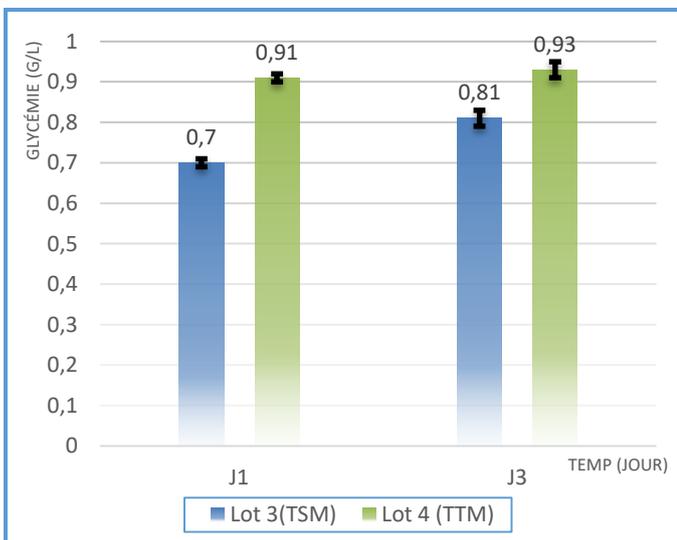
✓ **Lots N°3 :**

Pour les rats témoins sains mâles aucun changement significatif de la glycémie n'a été remarqué. Celle-ci reste dans la limite normale (1g/l).

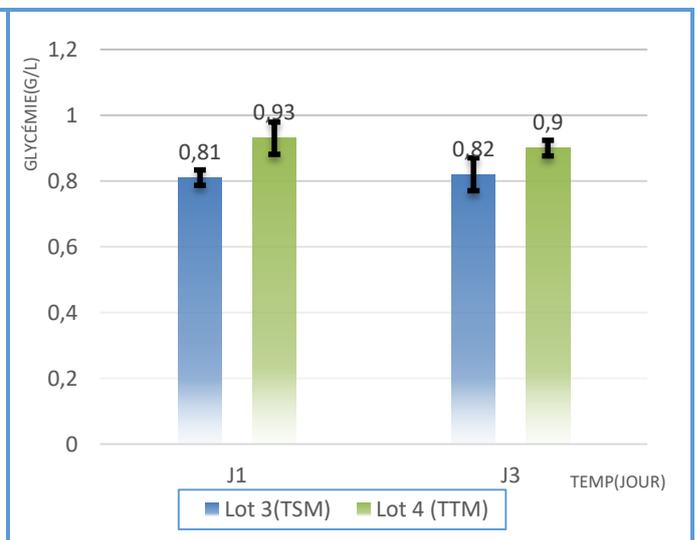
✓ **Lot N° 4 :**

Tous les rats mâles du lot traité par l'alloxane ont eu une valeur normale de glycémie après 48 heures de l'injection que ce soit à la dose 150 mg/kg. Ceci a incité à réadministrer l'alloxane à une dose de 165mg/kg ayant aboutie au même résultat puis une dose de 175mg/kg.

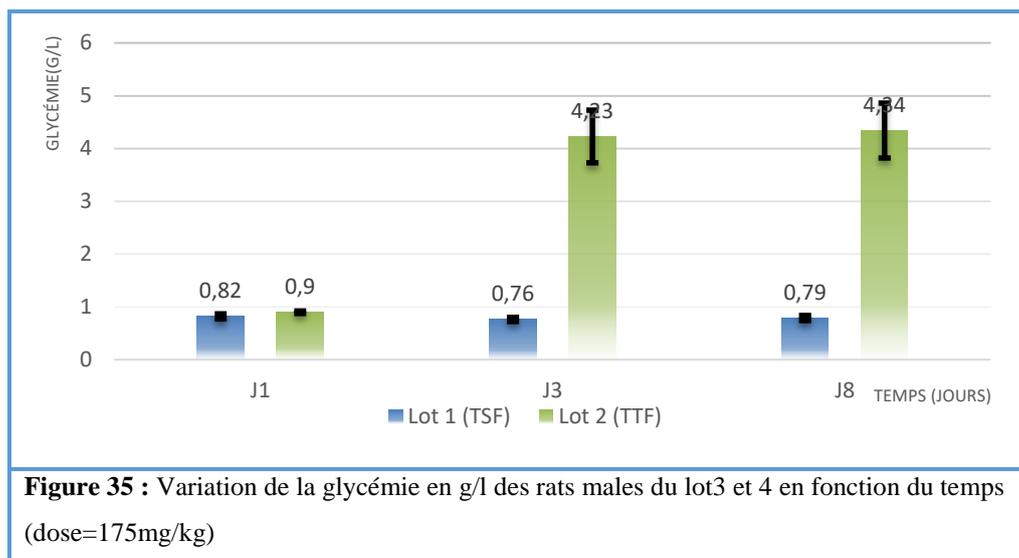
Après 48 heures de l'injection de l'alloxane à la dose 175mg/kg, **9** rats sur les **10 rats** ont eu une hyperglycémie marquée maintenu jusqu'au 8<sup>ème</sup> jour.



**Figure 33** : Variation de la glycémie en g/l des rats mâles du lot 3 et 4 en fonction du temps (dose = 150 mg/kg)



**Figure 34** : Variation de la glycémie en g/l des rats mâles du lot 3 et 4 en fonction du temps (dose=165mg/kg)



V.

## Discussion

La méthode utilisée dans la présente étude pour l'induction expérimentale du diabète est l'administration intrapéritonéale de l'alloxane.

L'étude de la glycémie a montré :

Que pour les rats femelles la dose 150mg/kg d'alloxane était suffisante pour provoquer une hyperglycémie après 48 heures de l'injection chez **70 %** des rats. Cependant au 8<sup>ème</sup> jour tous les rats ont restaurés une valeur normale de glycémie.

Sachant que la régénération des cellules bêta chez les rats ne se produit pas normalement après une destruction des cellules bêta par l'alloxane ou la streptozotocine. Les cellules bêta possèdent un potentiel mitotique limité, et la néogénèse à partir des cellules précurseurs se peut pas être réactivé sous ces conditions, mais selon Radenkovic et al un état aigue d'hyperglycémie peut stimuler une hyperplasie des cellules bêta cela signifie que parfois après l'induction chimique du diabète, même si une hyperglycémie s'était bien développée, elle pourrait être inversée, ce qui explique nos résultats (**M.Radenković,2016**).

Cette réversibilité peut être aussi attribuée à l'effet de 17  $\beta$ -estradiol chez les rats femelles sachant que ce dernier possède une action antioxydante qui consiste à diminuer le stress oxydatif induit par l'alloxane sur les cellules bêta et en améliorant le système de défense antioxydant du foie et neutralisant les radicaux libres plasmatiques. En outre le 17  $\beta$ -estradiol peut aussi améliorer la sensibilité des récepteurs de l'insuline en augmentant l'expression de ces derniers au niveau hépatique. (**M. A Ahmed et al, 2012**). Des études antérieures (**M. A Ahmed et al, 2012**) ont enregistré une action hypoglycémiant marquée de 17  $\beta$ -estradiol sur

le diabète induit par la streptozotocine (pouvoir diabétogène plus fort que celui de l'alloxane) chez les rats.

Différemment à la dose initiale (150mg/kg) la dose 175mg/kg n'a pas provoquée une hyperglycémie après 48 heures de l'injection.

Ce résultat confirme l'inconsistance et l'imprévisibilité de la réponse des rats à l'alloxane précédemment mise en évidence dans des études antérieures (**M. Misra et U. Aiman, 2012**) ; (**D. Jain et al, 2011**). Autres études (**F. Beach et al, 1956**) ont constaté que le diabète induit par l'alloxane chez les rats Wistar est un modèle compliqué et peu orthodoxe par rapport aux autres souches ce qui peut expliquer aussi ce résultat. Misra et al et Jain et al ont aussi enregistré une résistance marquée chez les rats à l'alloxane même à une dose élevée.

Pour les rats males :

L'installation du diabète chez les rats males a été réalisée essentiellement en optimisant la dose de l'alloxane. Les doses 150mg/kg et 165mg/kg ne semblent pas être suffisantes pour provoquer une hyperglycémie, alors que la dose 175mg/kg était suffisante pour induire le diabète chez 90 % des rats.

Ces résultats montrent l'effet important de l'optimisation de la dose de l'alloxane pour induire le diabète. Des études antérieures montrent que des doses inférieures ou égales à 150mg/kg ont été liées à une pauvre action diabétogénique ou une auto réversibilité du diabète, alors que des doses plus élevées entre 170mg/kg et 200mg/kg ont été plus efficaces (**Osasenaga Macdonald Ighodaro et al, 2017**).

La réponse différente des rats males à la dose de 175 mg/kg par rapport à celle de femelles, peut être attribuée à un effet cumulatif de l'alloxane, puisque les rats males ont subi 2 doses différentes (150 et 165mg/kg) avant la dose 175mg/kg alors que les femelles ont subi qu'une seule (150mg/kg) et aussi à la particularité des rats femelles d'avoir un taux élevé d'estrogène, une hormone dont le pouvoir d'inverser un diabète expérimental a été abordé précédemment.

L'étude du poids corporel a montré les résultats suivants :

Les rats des lots normaux non traités par l'alloxane que ce soit de sexe mâle ou femelle ont présenté un gain régulier de poids corporel lié à une croissance normale des animaux.

Tandis que les rats alloxaniques que ce soit de sexe mâle ou femelle dont une hyperglycémie marquée a été installée ont présenté une perte de poids. Des études précédentes (**Sathishsekar et Subramanian, 2005**) ; (**T.Senouci et al, 2009**) ; (**M.Himanshu et al, 2011**) ont enregistrés des

résultats similaires et suggèrent que la perte de poids peut être expliquée par le résultat du catabolisme des lipides et des protéines structurales dû au manque des hydrates de carbone qui ont été utilisés comme source d'énergie.

La perte de poids n'était pas régulière (progressive) pour les rats dont l'hyperglycémie ne s'était installée que temporairement. Ce résultat suggère que la perte de poids n'est pas une conséquence de l'alloxane mais de l'hyperglycémie.

La variabilité entre les résultats peut également être due à plusieurs facteurs, parmi eux :

- La variabilité interindividuelle chez les rats.
- La rapidité de l'administration intrapéritonéale de l'alloxane peut affecter son activité diabétogénique sachant que des études antérieures ont montré qu'une administration rapide peut améliorer l'activité diabétogénique de l'alloxane (**M. Osasenaga et al, 2017**)

## Conclusion

Pour pouvoir évaluer précliniquement une activité antidiabétique d'une substance il est primordial d'abord de mettre au point un diabète expérimental fiable et stable.

Notre étude expérimentale nous a permis d'induire un diabète expérimental avec succès de 45% par l'administration de l'alloxane mais aussi a bien mis en évidence à l'instar des auteurs ayant travaillé sur le même sujet, la difficulté et la complexité ou bien l'imprévisibilité associées à ce choix de méthode pour induire un diabète.

En effet, notre étude a montré qu'une dose de 150mg/kg d'alloxane peut être très trompeuse puisque la glycémie peut s'élever après 48 heures de l'injection à une valeur qui peut être considérée comme une valeur signifiant un état diabétique, cependant cette valeur revient dans les normes au huitième jour. De ce fait les évaluations précliniques des substances effectuées durant cette période (entre 3eme et 8eme jour) peuvent être mal interprétées comme des substances ayant une bonne activité antidiabétique. Donc, pour avoir un résultat fiable d'une évaluation préclinique d'une activité antidiabétique d'une molécule par ce modèle, l'idéale est de l'évaluer après cette période.

Ainsi les résultats de cette étude ont montré la différence de la réponse des rats à l'induction du diabète suite à l'administration de l'alloxane en fonction du sexe. Et les résultats suggèrent que pour ce modèle expérimentale du diabète il est préférable de travailler sur des rats males que des rats femelles.

Dans une perspective d'avoir des résultats plus conclusifs que ceux obtenus, dans les prochaines études, il serait intéressant de :

- Optimiser d'avantage la dose d'alloxane.
- Comparer avec une autre molécule diabétoène (la streptozotocine).
- Augmenter le nombre des rats/essai.
- Prolonger la durée d'étude (60 jours).

En fin, on souhaite que ce travail servira de support pour d'autres travaux futur qui viseront à compléter et continuer ce qu'on a entrepris et qu'on aimerait bien voir aboutir.

# Référence bibliographique

## LIVRES ET REVUES

- A. Lukačínová, B. Hubková, O. Rác and F. Ništár, Diabetes mellitus- insights and perspective , chapitre 13 : Animal Models for Study of Diabetes Mellitus, 2013.
- Atkinson Arthur ; Jr.Shiew-Mei; Huang Juan; LertoraSanford Markey. Principales of Clinical Pharmacology, 2012.
- Berg J. M John L. Tymoczko Gregory J. Gatto, Jr. Lubert Stryer : Biochemistry -8th EDITION Chapitre 36 : le développement de médicaments .Edité par W. H. Freeman and Company, 2015
- Bulletin de l'académie nationale de médecine. Alliaire Jean François ; Couturier Daniel ; Fiessinger Jean Noel, 2018
- Dangoumau ; Nicholas Moore ; Mathieu Molimard, Annie Fourier-Reglat ; Karin Latry ; Françoise Haramburu ; Ghada Miremont-Salame ; Karine Titier .Pharmacologie Générale. Edition 2006
- Divya Vohora Gursharan Singh : Pharmaceutical Medicine and Translational Clinical Research .Elsevier Masson 2018
- Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition, Chapitre 24 Thérapeutiques antidiabétiques, Jean-Louis Wémeau, Bernard Vialettes, Jean-Louis Schlienger Elsevier Masson SAS 2014.
- Fédération Internationale du Diabète. ATLAS du DIABÈTE de la FID 6e édition 2013
- Gilles BOUVENOT, VRAY Muriel : Essais cliniques : théorie, pratique et critique 4e éd. Médecine sciences publications- Lavoisier ,2006
- Grudzinskas CV : Design of Clinical Development programs dans Principles of clinical pharmacology, édité par Atkinson AJ, Daniels CE, Dedrick RL, Grudzinskas CV, Markey SP, San Diego : Academie Press, 2001
- Karen Whalen : Lippincott Illustrated Reviews: Pharmacology 6th Edition chapter Drug–Receptor Interactions and Pharmacodynamics , wolters kluwer,2015
- MONTASTRUC J.L. et M. LAPEYRE-MESTRE : essais cliniques, pharmacovigilance, pharmacoepidemiologie, 2010

- OMS Handbook Good Laboratory Practice (GLP) : Quality practices for regulated non-clinical research and development 2ed edition 2009
- Organisation mondiale de la Santé – Profils des pays pour le diabète, 2016
- Organisation mondiale de la Santé. Rapport mondial sur le diabète. Genève, 2016.
- Raynal Roger, C.Cortie, DIABETE DE TYPE II : ASPECTS FONDAMENTAUX, 2006.
- Shahidul Islam and Rachel Dorothy Wilson, Animal Models in Diabetes Research (pp.161-74) Experimentally Induced Rodent Models of Type 2 Diabetes. 2012.

## **LOIS ET DECRETS**

- Article 208 dans le chapitre 2 du titre V produits pharmaceutiques et dispositifs médicaux), loi de santé 2018.
- Articles de la section 4 (Dispositions relatives à la recherche biomédicale) du chapitre 4 (Bioéthique) du titre VII (éthique, déontologie et bioéthique médicale) de la loi n° 18-11 du 18 Chaoual 1439 correspondant au 2 juillet 2018 relative à la santé.
- Articles du chapitre 3 Etablissements pharmaceutiques de la loi n° 18-11 du 18 Chaoual 1439 correspondant au 2 juillet 2018.
- Articles du chapitre 4 L'agence nationale des produits pharmaceutiques) du titre V (produits pharmaceutiques et dispositifs médicaux) de la loi n° 18-11 du 18 Chaoual 1439 correspondant au 2 juillet 2018 relative à la santé.

## **ARTICLES ET THESES**

- A.-J. Scheenà. Perspectives dans le traitement pharmacologique du diabète de type 2 pour les 10 prochaines année, Medecine des maladies metaboliques. 2018.
- American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes : Standards of Medical Care in Diabetes—2019. Diabetes Care 2019;42(Suppl. 1):S13–S28
- American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2008 Jan; 31(Supplement 1): S55-S60.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes—2008. Diabetes Care 2008 Jan; 31(Supplement 1): S12-S54
- Ankur R., Shahjad A. Alloxan induced diabetes : mechanism and effects. International journal of research in pharmaceutical and biomedical sciences. 2012.

- Balarac N ; Blicke J.F; Charbonnel B ; Daninos J.M ; Drouin P ; Eschwege E ; Guillausseau P.J; Plouin P.F; Sauvanet J.P. Diagnostic et classification du diabète sucré : les nouveaux critères, Diabetes and metabolism, 1999.
- Berthelemy Marion. Thèse Sur L'évaluation Du Rapport Bénéfice/Risque Des Médicaments En Europe. Faculté De Pharmacie, Université De Lorraine, 2014.
- Bouchenak M. Antioxidant effect of Ajuga Iva aqueous extract in streptozotocin induced diabetic rats. Phytomedicine, 16: 623-631. (2009).
- Bouhouche Ibtissem, Etude comparative de l'alloxane et de la streptozotocine dans le diabète expérimental chez le rat blanc. Etude histologique du pancréas endocrine et la variation des paramètres sanguins, Université Constantine 2014.
- Cefalu, W.T. Animal Models of Type 2 Diabetes, ILAR journal,2006.
- Chatzigeorgiou A., Halapas A., Kalafatakis K., Kamper E. The Use of Animal Models in the Study of Diabetes Mellitus. In vivo. 2009.
- Dorinne Desposito, Rôle du système kallibréine-kinine(s) dans les complications du diabète, Thèse de doctorat, Université De Lorraine 2015.
- Eliot F. Beach, Ph.D.,\* Phoebe J. BradshawJ and Owen S. Cullimore,Effect of Strain Differenceson Alloxan Diabetes in Albino Rats New York 1956
- Etuk, E.U, Animals models for studying diabetes mellitus, agriculture and biology journal of nourth america , 2010.
- Halbron M. Prise en charge thérapeutique du diabète de type, EMC 2009.
- HEDIBEL. M : Cour dossier d'AMM ,2016
- Himanshu Misra, Manish Soni, Narendra Silawat, Darshana Mehta1, Antidiabetic activity of medium-polar extract from the leaves of Stevia rebaudiana Bert. (Bertoni) on alloxan-induced diabetic rats, Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences, 2011.
- J Srinivasan, K., Ramarao, P, Animal models in type 2 diabetes research, Indian Journal Med Res. : 2007.
- Jain DK, Arya RK,Anomalies in alloxan-induced diabetic model :iT is better to standadize it first , indian journal of pharmacology , 2011
- Kamla Pathak, Manish Pal Singh, Animal models for biological screening of anti-diabetic drugs,european journal of experimental biology 2015.
- Ktorza, Are animal models of diabetes relevant to the study of the genetics of non insulin dependent diabetes in humans, diabetes and metabolism, 1997.

- Kumar S, Singh R, Vasudeva, N, et al. Acute and chronic animal models for the evaluation of anti-diabetic agents Cardiovascular Diabetology, 2012.
- Lang, C.M., Munger, R.L., Rapp, L., The guinea pig as an animal model of diabetes mellitus, Laboratory animal science 1977.
- Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. Diabetologia, 2008.
- Lenzen, S., Pauten, U., History and mechanism of action. Diabetologia, 1988.
- Like et Rossini, Streptozotocin induced pancreatic insulinitis : new model of diabetes mellitus. science New York , 1976.
- Lucienne chatenoud, Les modèles expérimentaux dans le diabète de type 1, Academie nationale de medecine 2011.
- Marwa A Ahmed1, Khaled M A Hassanein Effects of estrogen on hyperglycemia and liver dysfunction in diabetic male rats Journal Physiol Pathophysiol Pharmacol 2012
- Miroslav Radenković, Marko Stojanović, Milica Prostran Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art, Journal of Pharmacological and Toxicological Methods ,2016
- Molinier-Jasson M, P Lechat : Essais cliniques des médicaments Encyclopédie Pratique de Médecine, 2019
- Monika Misra, Umme Aiman , Alloxan : unproductable drug for diabetes induction ? , Indian journal of pharmacology, 2012
- Osasenaga Macdonald Ighodaro a,b,\*, Abiola Mohammed Adeosun a,b, Oluseyi Adeboye Akinloye Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies ,MEDCINA 2017
- P. Sai, E. Gouin, Modèles animaux spontanés de diabète insulino-dépendant (diabète de type 1) veterinary research, Biomed central, 1997.
- Palsamy, P. et Subramanian, S., Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats - Biomedicine & Pharmacotherapy, 2008.
- Petrides, P., Weiss, L., Loffler, G., Wieland, O.H., Diabète sucré, bases théoriques cliniques et thérapeutiques. Ed. Médecines et Sciences Internationales, 1980.

- Richter E.A., Garetto L.P., Goodman M.N. et Ruderman N.B. Enhanced muscle glucose metabolism after exercise : modulation by local factors. American Journal of Physiology, 246(6), 476-482. 1984.
- Sathishsekar D, Subramanian S. Antioxidant properties of Momordica Charantia(bitter gourd) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats. Asia Pacific J. Clinical Nutrition, 14(2):153-158 (2005).
- Srinivasan, K., Ramarao, P., Thérapies cellulaires du diabète : Evaluation in vivo de la sécrétion d'insuline après autogreffe d'Ilots chez le porc pancreatectomisé Thèse de Doctorat. Université de lorraine 2007.
- Steinmetz KL, Spack EG. The basics of preclinical drug development for neurodegenerative disease indications. BMC Neurol, 2009
- Szkudelski, T., The mechanism of alloxan and streptozotocin. Action in  $\beta$  cells of the rat pancréas. Physiological research ,2001.
- Taleb-Senouci D, Ghomari H, Krouf D, Bouderbala S, Prost J, Lacaille-Dubois M, Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats.international journal of phytotherapy and phytopharmacology, 2009
- Watkins D., Cooperstein SJ., Lazarow A. Effect of alloxan on permeability of pancreatic isolet tissue in vitro. 1964.
- Wattiez, A.S., Dupuis, A. et Courteix, C. Le rat STZ-diabétique : modèle adapté à l'étude de la neuropathie diabétique douloureuse, springer, 2012.
- Wright S., Keele CA., Neil E. Physiologie appliquée à la médecine. 2ème Edition Flammarion-Sciences, Paris. 1980.

## SITES INTERNET

- Académie européenne des patients .Essai non randomisé. Publié : aout 2015  
<https://www.eupati.eu/fr/glossary/essai-non-randomise/> consulté le : 14 janvier 2019
- Association Algérienne des Sciences en Expérimentation Animale .Pr F. Khammam : 1er Cours International en Expérimentation Animale. novembre 2018  
<http://aasea.asso.dz/activites-aasea/> Consulte-le : 22 janvier 2019
- Collège National de Pharmacologie Médicale. développement et suivi des médicaments. Publié : aout 2016.

<https://pharmacomedicale.org/pharmacologie/developpement-et-suivi-des-medicaments/23-decouverte-des-molecules/> Consulte-le : 6 janvier 2019

- Coordination des comités d'éthique pour les essais cliniques (CCEPEC). Journée d'information sur les essais cliniques et les comités d'éthique 2011  
[http://www.santemaghreb.com/algerie/cr\\_comites\\_ethique\\_essais\\_cliniques\\_2011.pdf](http://www.santemaghreb.com/algerie/cr_comites_ethique_essais_cliniques_2011.pdf)  
Consulte-le : 24 janvier 2019
- Denis SERGENT. Publié : septembre 2012 [https://www.la-croix.com/Ethique/Sciences-Ethique/Sciences/L-experimentation-animale-un-mal-necessaire-NP\\_-2012-09-03-849165](https://www.la-croix.com/Ethique/Sciences-Ethique/Sciences/L-experimentation-animale-un-mal-necessaire-NP_-2012-09-03-849165) Consulte-le : 23- janvier-2019
- Denise Lebeau. Processus de recherche, développement et production du médicament. Publié : 2018 <https://docplayer.fr/61571603-Processus-de-recherche-developpement-et-production-du-medicament.html> consulté le : 16 janvier 2019
- Deltieux Philippe .Global Drug Safety Evaluation. Toxicologie : grands principes. Publié : Septembre 2010 <http://docplayer.fr/7237675-Toxicologie-grandsprincipes.html>  
Consulte-le : 23 janvier 2019
- Innate pharma. environnement règlementaire des entreprises et produits de santé. avril 2014 [https://www.innatepharma.com/sites/default/files/DDR\\_annexe\\_7\\_vf.pdf](https://www.innatepharma.com/sites/default/files/DDR_annexe_7_vf.pdf) consulté le : 3 février 2019
- Institut de Recherche Anti-Contrefaçon de Médicaments. définition de la falsification de médicaments. Publié : mars 2013 <http://www.iracm.com/falsification/definition/>  
Consulte-le : 3 janvier 2019
- International Council for Harmonisation. M4 : The Common Technical Document. Publié : décembre 2010  
[https://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/CTD/CTD\\_triangle.pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/CTD/CTD_triangle.pdf)  
consulté le : 3 février 2019
- Peltier Clair. Futura sciences. Le cycle de médicament. Publié le 22/02/2011, Modifié le 05/04/2017 <https://www.futura-sciences.com/sante/dossiers/medecine-cycle-medicament-1125/> . Consulté le : 10 février 2019.
- Rachid GHEBBI. Historique de la réglementation du médicament en Algérie. Avril 2018  
[https://www.researchgate.net/publication/325060341\\_HISTORIQUE\\_DE\\_LA\\_REGLEMENTATION\\_DU\\_MEDICAMENT\\_EN\\_ALGERIE](https://www.researchgate.net/publication/325060341_HISTORIQUE_DE_LA_REGLEMENTATION_DU_MEDICAMENT_EN_ALGERIE) Consulte-le : 20- janvier-2019
- Santé dz. communication-BPF. 2010 <http://www.sante.dz/lncpp/lncpp-formation/communication-BPF.pdf> Consulte-le : 27 janvier 2019
- Santé news. L'Agence nationale des produits pharmaceutiques : Un avenir Sombre 15 avril 2018 <http://www.santenews-dz.com/lagence-nationale-produits-pharmaceutiques-avenir-sombre/> Consulte-le : 23 janvier 2019
- Ici Radio canada, Des rongeurs utilisés dans des laboratoires de recherches.  
<https://ic.i.radio-canada.ca/nouvelle/799063/etude-ubc-effets-marijuana-rats-faineants>  
consulté le :31/05/2019

- Zoochat, psammomys obesus <https://www.zoochat.com/community/media/fat-sand-rat-psammomys-obesus-terrasanctae.384760/> consulté le : 05/06/2019
- Dictionnaires et encyclopédies sur 'académic' : <https://fracademic.com/dic.nsf/frwiki/1559000> consulté le : 05/06/2019.
- L'encyclopédie libre : Wikipédia [https://www.wikipedea.org/wiki/Cuniculus\\_oryctolagus](https://www.wikipedea.org/wiki/Cuniculus_oryctolagus) consulté le : 26/06/2019.

# Résumé

Le diabète est un enjeu sanitaire mondial. Il touche plus de 400 millions de personnes dans le monde et constitue toujours un problème de santé public c'est ce qui valorise l'importance de la recherche et le développement des nouveaux médicaments plus efficaces avec moins d'effets indésirables.

L'évaluation préclinique des médicaments est une étape indispensable pour le développement et la découverte des nouvelles thérapies.

L'objectif principal de la présente étude est la mise au point d'un modèle expérimental d'un diabète en choisissant une méthode chimique qui consiste à injecter en intrapéritonéale l'alloxane à des rats. Un suivi pondéral et de la glycémie ont été effectués tout au long de l'expérimentation. Notre étude nous a permis d'induire le diabète avec succès chez 45 % des rats traités par l'alloxane à la dose 175mg/kg, Tous les ayant développés le diabète ont été de sexe male , c'est qui nous conduit à notre objectif secondaire de comparer la réponse des rats à l'induction du diabète suite à l'administration de l'alloxane en fonction du sexe dont le résultat suggère que pour ce type de rats et avec cette molécule diabétogénique il est préférable d'utiliser des rats males.

Mots-clés : diabète-évaluation préclinique-alloxane-rat

## **Abstract :**

Diabetes is a world health issue. It affects more than 400 million people worldwide, it was always considered as a public health problem, and this makes the research and the development for new drugs more efficient and with less side effects very important.

Preclinical evaluation of drugs is an essential part for developing and discovering new treatments.

The main objective of this study is developing experimental diabetes choosing a chemical method which consist of injecting intraperitoneally alloxan to rats. Monitoring of body weight and blood glucose level were carried out regularly during the whole experiment. Our study allowed us to induce diabetes successfully to 45 % of treated with alloxan with a dose of 175mg/kg. All these rats were of male sex which leads us to our second objective comparing the response of rats to the induction of diabetes after alloxan administration based on sex of

which the result suggest that for this type of rats and with this diabetogenic drug it's better to use male rats.

**Keywords:** diabetes-preclinical evaluation- alloxane-rat

## ملخص

يعتبر مرض السكري من أهم الأمراض المستعصية في هذا العصر، أزيد من 400 مليون شخص مصاب بهذا المرض عبر العالم ولهذا السبب يعتبر مشكلا صحيا في المجتمع، وهذا ما يدفعنا الى البحث وتطوير الأدوية المضادة للسكري وتكون أكثر فعالية وتتميز بآثار جانبية قليلة.

تعتبر دراسة وتطوير الأدوية قبل استعمالها المباشر لدى الإنسان من أهم المراحل في الأبحاث المتعلقة بالدواء وتطويره وذلك نحو السعي لإيجاد أدوية وعلاجات جديدة في هذا المجال.

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تطوير نموذج تجريبي لمرض السكري باختيار طريقة كيميائية تنطوي على حقن ألوكسان داخل صفاق الجرذان. أجريت كذلك مراقبة الوزن ومستوى الجلوكوز في الدم طوال التجربة. لقد نجحت دراستنا في إحداث مرض السكري في 45% من الفئران المعالجة بالألوكسان باستعمال الجرعة 175 مجم / كجم. كل هذه الفئران كانت من جنس الذكور، وهو ما يقودنا إلى هدفنا الثانوي المتمثل في مقارنة استجابة الفئران لتحريض مرض السكري بعد تناول الألوكسان حسب الجنس، التي كانت نتيجته هي أن باستعمال هذا النوع من الجرذان مع هذه المادة المسببة للسكري انه من الأفضل العمل على الجرذان من جنس الذكور.

**كلمات مفتاحية:** السكري- نموذج تجريبي- ألوكسان- جرذان.

