

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université Saad Dahlab de BLIDA

Faculté de Médecine

DEPARTEMENT DE PHARMACIE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En Vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

THEME



Présenté par :

M^{lle} Sara HAMIDI M^{lle} Selma HAMIDI

Encadré par :

Dr. B. GUERFI , Maitre assistante en chimie thérapeutique Promotrice

Mr. T.YAKOUBI , Responsable Contrôle Qualité NOVAPHARMCo-Promoteur

Devant le jury :

Dr. A.GHARBI Maitre assistant en chimie analytique Président

Dr. S.DJELLOULI , Maitre assistant en pharmacologie Examineur

Dr. Ch. OUZANI , Maitre assistante en toxicologie Examinatrice

EXCERPT DU PRET

Promotion 2011/2012





*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et
miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce
Modeste travail.*

DÉDICACES

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A mes grandes mères, ma source de sagesse.

A mon frère ABD ER RAOUF.

A mes sœurs : AMIRA et SARAH.

A ma chère tante SAMIA, pour son soutien aux moments difficiles de mon travail et surtout pour sa patience.

A ma chère tante FARIDA qui m'a éclairée mon chemin et qui m'a encouragé et soutenue toute au long de mes études.

A mon cher cousin BADR EDDINE.

A mes tantes, a mes oncles et mes grandes familles.

A mes amis (es), surtout MAYA pour leur soutien morale et bien sur a ma partenaire dans ce travail SARA.

A toute l'équipe de laboratoire physico-chimie et de contrôle qualité dans l'industrie Novapharm, en particulier M. RIAD ABD EL KADER.

Sans oublier tous mes amis(es) de l'université de Blida avec qui j'ai passé des belles années d'études.

Et a tous ceux que j'aime

SELMA

DEDICACES

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents pour l'amour et le sacrifice qu'ils ont consentis pour me permettre de suivre mes études dans les meilleures conditions possibles et n'avoir jamais cessé de m'encourager tout au long de mes années d'étude.

A mon grand père et ma grand-mère pour tout le soutien exemplaire et l'amour exceptionnel qu'ils me portent depuis mon enfance.

A mes chères sœurs AMIRA et AFAF.

A mon cher frère MOUHAMED ZIAD.

A mes tantes, oncles, cousins, cousines et ma grande famille, petits et grands.

A ma chère amie et binôme SELMA.

A mes copines, particulièrement NESRINE et FATMA ZOHRRA qui ont été toujours présentes pour m'aider et m'encourager.

A tous ceux qui sont proches de mon cœur et dont je n'ai pas cité le nom.

A toute l'équipe de laboratoire de contrôle qualité dans l'industrie Novapharm.

Sans oublier tous mes camarades de l'université de Blida.

Et à tous ceux que j'aime.....

SARA

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos remerciements aux personnes qui nous ont aidé dans la réalisation de ce mémoire.

En premier lieu, Nous remercions Dr.B.GUERFI, Maitre assistante en chimie thérapeutique à l'université de Blida. En tant que Directrice de mémoire, pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans laquelle ce travail n'aurait pas pu être menée au bon port. Qu'elle trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Nos remerciements s'adressent également à Mr.TayebYakoubi Responsable Contrôle Qualité à NOVAPHARM TRADING. En tant que Codirecteur de mémoire, pour sa générosité et la grande patience dont il a su faire preuve malgré ses charges académiques et professionnelles.

Nos vifs remerciements vont également au président de jury Dr. A.GHARBI ainsi qu'aux membres du jury : Dr. S.DJELLOULI, et Dr. Ch .OUZANI pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

Enfin, nous remercions tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

.....Merci à tous !

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
<i>ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</i>	
I. GENERALITES.....	3
I.1. LE DIABETE.....	3
I.1.1. Définition du diabète	3
I.1.2. Classification du diabète	4
I.2. DIABETE NON INSULINO-DEPENDANT	6
I.2.1. Facteurs de risque	6
I.2.2. Physiopathologie de diabète non insulino-dépendant	6
I. 2.3. Schéma thérapeutique du diabète de type 2.....	8
II. LES ANTIDIABETIQUE.....	10
II.1. Définition	10
II.2. Classification des antidiabétiques.....	10
II.3. BIGUANIDES.....	13
II.3.1. Historique	13
II.3.2. Mode d'accès des biguanides	15
III. ETUDE DE LA METFORMINE.....	17
III.1. FORMULE	17
III.2. NOMENCLATURE ET ENSEMBLE DE DENOMINATION	18
III.3. SYNTHÈSE CHIMIQUE.....	21
III.4. PROPRIÉTÉS PHYSICOCHIMIQUE DE LA METFORMINE.....	22
III.5. DONNÉES PHARMACOLOGIQUES.....	25
III.5.1 Pharmacocinétique.....	25
III.5.2 Pharmacodynamie	28
III.5.3. Mécanisme d'action.....	28
III.5.4. Propriétés pharmacologique de la metformine.....	30
III.6. INDICATIONS ET USAGE DE LA METFORMINE.....	30
III.6.1. Indications de la metformine.....	30
III.6.2. La metformine, ses présentations pharmacologique.....	31
III.6.3. Mode d'administration et posologie	34

III.6.4. Précautions d'emploi, effets indésirables et contre-indications.....	34
III.7. INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES.....	36
III.8. RELATION STRUSTURE-ACTIVITE.....	37
III.9. ETUDE TOXICOLOGIQUE.....	38

ETUDE EXPERIMENTALE

I. IDENTIFICATION ET CONTROLE DE LA MATIERE PREMIERE	41
I.1. Matière première.....	41
I.2. Caractères.....	41
I.2.1. Caractères organoleptiques.....	41
I.2.2. Solubilité	41
I.2.3. Mesure de pH	42
I.3. Identification de la matière première.....	43
I.3.1. Détermination de point de fusion.....	43
I.3.2. Caractérisation par des méthodes Spectroscopiques.....	44
I.3.3. Réactions des chlorures	50
I.4. Essais limites de la matière première.....	51
I.4.1. Métaux lourds.....	51
I.4.2. Cendres sulfuriques.....	52
I.4.3. Perte à la dessiccation.....	54
I.5. Détermination du titre de la metformine par potentiométrie	55
II. CONTRÔLE PHYSICO-CHIMIQUE DU PRODUIT FINI.....	57
II.1 Caractères organoleptiques.....	57
II.2 Dureté.....	57
II.3. Masse moyenne (MM).....	57
II.4. Uniformité de masse.....	57
II.5. Temps de désagrégation.....	58
II.6. Dissolution in vitro.....	58
II.7. Identification et dosage de la metformine dans le produit fini.....	62

II.7.1. Identification par spectrophotométrie infrarouge.....	62
II.7.2. Dosage de la metformine dans le produit fini par spectrophotomètre UV. Visible.....	62
II.8. Dosage des substances apparentées.....	64
III. Contrôle microbiologique du produit fini.....	75

RESULTATS ET DISCUSSION

I. IDENTIFICATION ET CONTROLE DE LA MATIERE PREMIERE	79
I.1. Caractères de la matière première.....	79
I.2. Identification de la matière première.....	79
I.3. Essais limites de la matière première.....	83
I.4. Détermination du titre de la metformine par potentiométrie	85
II. CONTRÔLE PHYSICO-CHIMIQUE DU PRODUIT FINI.....	86
II.1 Caractère organoleptiques.....	86
II.2. Dureté.....	86
II.3. Masse moyenne (MM).....	86
II.4. Uniformité de masse.....	86
II.3. Identification et dosage de la metformine dans le produit fini.....	89
II.4 Dosage des substances apparentées par chromatographie liquide haute PERFORMANCE (HPLC)	92
III. CONTROLE MICROBIOLOGIQUE DU PRODUIT FINI.....	97
CONCLUSION.....	98
BIBLIOGRAPHIE.....	99
ANNEXE.....	103

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°1 :Différentes traitements du diabète de type 2.....	12
TableauN°2 : Sels et dérivés de la metformine.....	19
TableauN°3 :Noms déposés de la metformine.....	20
TableauN°4 :Différentes valeurs pharmacocinétiques de la metformine.....	27
TableauN°5 :Quelques produits commercialisés dans le monde de chlorhydrate de Metformine.....	32
TableauN°6 :Quelques associations se trouvent dans le marché.....	33
Tableau N°7 :Précautions d'emploi, effets indésirables et contre -indications.....	35
TableauN°8 :Préparations des dilutions selon le degré de solubilité.....	41
TableauN°9 :Domaine du spectre infrarouge.....	44
Tableau N°10 : Critères d'acceptation de la dissolution des comprimés à libération Conventionnelle.....	61
TableauN°11 :Critères d'acceptation de la qualité microbiologique des formes pharmaceutiques non stériles.....	75
TableauN°12 :Résultats d'analysemicrobiologique de produit fini du METFORMINE HCl 500 mg.....	97

INTRODUCTION
ET
OBJECTIVES

Le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou quand l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit.

L'hyperglycémie, ou concentration sanguine élevée de sucre, est un effet fréquent du diabète non contrôlé qui conduit avec le temps à des atteintes graves de nombreux systèmes organiques et plus particulièrement des nerfs et des vaisseaux sanguins.

Il existe deux types principaux de diabète : le type **1** et le type **2**. Parfois, le diabète se développe aussi pendant la grossesse (diabète gestationnel).

Le diabète de type **1** se manifeste soit dès l'enfance, à l'adolescence ou chez les jeunes adultes. Il se caractérise par l'absence totale de la production d'insuline. Le diabète de type **2** est le type le plus sournois. Les symptômes peuvent être minimes et passer inaperçus pendant plusieurs années. Malheureusement, quand il est diagnostiqué, le mal est fait. En apportant des corrections importantes à nos habitudes de vie, il est possible de retarder l'apparition de la maladie et d'en diminuer l'impact.

Un médicament antidiabétique est un médicament utilisé pour traiter le diabète sucré. Les antidiabétiques agissent en général en abaissant la glycémie. Les antidiabétiques oraux ne sont utilisés que dans le diabète de type **2** où ils peuvent être parfois prescrits en association avec l'insuline.

La metformine est un antidiabétique oral de la famille des biguanides. Il est le médicament de première ligne de choix pour le traitement de diabète de type **2**, en particulier, chez les personnes en surpoids et obèses et ceux ayant une fonction rénale normale.

L'objectif de ce travail consiste à contrôler la qualité de notre molécule par des tests physiques, chimiques et microbiologiques afin d'assurer la qualité, l'efficacité et la sécurité de leurs utilisations.

Notre travail a été divisé en deux parties :

La première partie consiste en un recueil bibliographique sur la molécule étudiée.

Dans la deuxième partie, nous proposons une identification et un contrôle de la matière première ainsi qu'un contrôle du produit fini contenant la metformine.

A cet effet plusieurs méthodes physiques et chimiques sont appliquées, ainsi que des techniques spectrométriques sont proposés et notamment la spectrométrie infrarouge à transformée de fourrier et la spectrométrie ultraviolet.

Par ailleurs, l'identification et le dosage des substances apparentés seront effectués par chromatographie liquide haute performance « HPLC ».

Le côté microbiologique est présent dans notre travail, un contrôle microbiologique de la metformine chlorhydrate est effectué sur le produit fini, afin d'apprécier la qualité microbiologique.

Cette expérimentation a eu lieu au niveau du Laboratoire NOVAPHARM.

Pendant une durée d'un mois : de 21 Mai 2012 au 21 Juin 2012.

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

I. GENERALITES :

I.1. LE DIABETE

I.1.1. Définition :

Le diabète se définit par l'existence d'une hyperglycémie chronique. [21]

Le taux normal de la glycémie chez l'adulte se situe entre 0.80 g/l et 1.10 g/l à jeun (soit 4.3 à 6.1 mmol/l). [21]

- Le diagnostic du diabète sucré est simple et repose sur le dosage de la glycémie à jeun (après 8 à 12 heures de jeune) ou après épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) (2 heures après ingestion de 75g de glucose per os). [22]
- Chez le sujet sain, la glycémie à jeun est < 1.10 g/l (6.1 mmol/l) et, après HGPO, < 1.40 g/l (7.8 mmol/l). [22]
Pour les valeurs limites comprises entre 1.20 et 1.30 g/l, il est nécessaire de confirmer le résultat par un second dosage. [21]
- Si la glycémie à jeun est ≥ 1.26 g/l (7 mmol/l) ou, à tout moment ≥ 2 g/l ou, après HGPO ≥ 2 g/l (11.2 mmol/l), le sujet est diabétique. [22]
- Si la glycémie est comprise entre 1.10 et 1.26 g/l, le sujet est dit atteint d'hyperglycémie à jeun. S'il n'est pas encore diabétique, il risque de le devenir en absence de prise en charge (après amaigrissement, la glycémie peut revenir à une valeur normale). [21]
- Si la glycémie à jeun est comprise entre 1.10 et 1.26 g/l et, après HGPO entre 1.4 et 2 g/l, on parle d'intolérance au glucose. [22]

I.1.2. Classification du diabète :

Le diabète est une maladie évolutive et métabolique, se caractérisant par une hyperglycémie chronique. [41]

On estime que 314 millions de personnes à travers le monde, soit 8,2 % de la population mondiale, souffrent de tolérance abaissée au glucose, un état souvent précurseur du diabète. [41]

Le même rapport fait état de 194 millions de personnes souffrant de diabète dans le monde en 2003. Ce nombre pourrait atteindre 330 millions en 2025. [41]

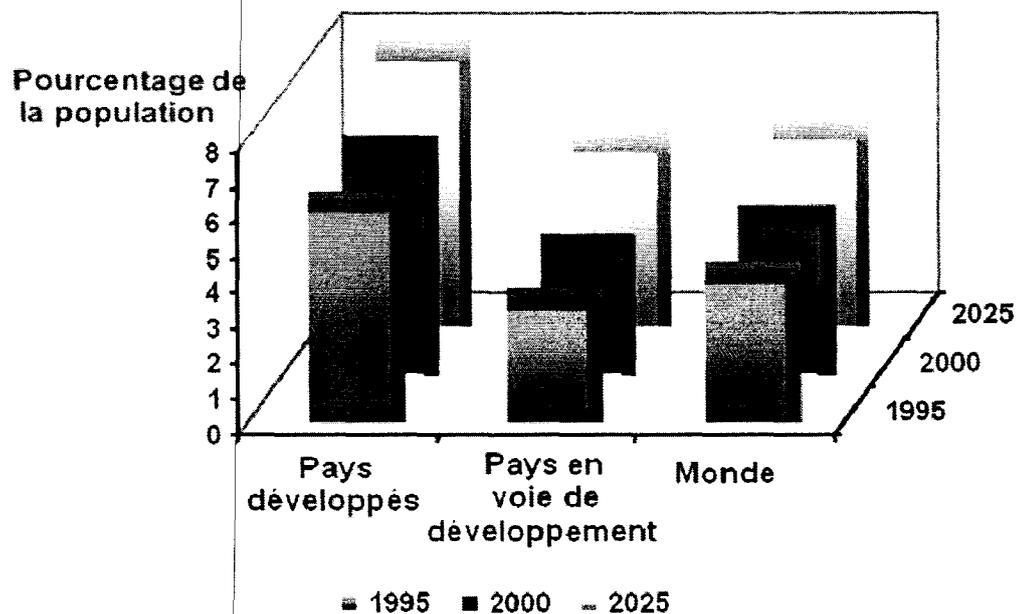


Figure N°1 : La représentation de développement du diabète au cours des années
Selon l’OMS.

Le diabète se caractérise par des troubles du métabolisme des glucides, des graisses et des protéines, reflète du déséquilibre entre la production insuffisante ou nulle d'insuline et les besoins tissulaire. [22]

On distingue essentiellement deux types du diabète sucré :

- Le diabète de type 1 (anciennement dénommé diabète insulino-dépendant) :

Il touche environ 10 % des patients. Aussi appelée diabète "*maigre*" ou "*juvénile*", cette forme de la maladie concerne plus particulièrement les jeunes. [2, 41]

Il résulte d'une destruction auto-immune des cellules β des îlots de Langerhans. Il survient essentiellement avant 20 ans et est caractérisé par son début clinique brutal. [8]

Il entraîne une carence insulino-dépendante majeure, ce qui explique sa tendance à l'acidocétose (le glucose ne peut plus servir de combustible cellulaire et l'organisme mobilise une quantité accrue d'acide gras, d'où l'augmentation des taux sanguins des acides gras et de leurs métabolites, les corps cétoniques). [8]

- Le diabète de type 2 (anciennement dénommé diabète non insulino-dépendant) :

Il représente environ 90 % des cas de diabète dans les pays développés et une proportion plus élevée encore dans ceux en voie de développement (*Figure 2*). [2]

Encore appelé diabète "*gras*" ou de "*maturité*", le diabète de type II apparaît généralement après l'âge de 50 ans. [2]

Cependant, la maladie est en constante progression chez l'enfant. [7]

Il a été clairement identifié que la survenue de ce diabète est liée à une augmentation de l'obésité chez les jeunes. Tout comme les adultes, ces jeunes développeront à terme des complications liées au diabète. [7]

Le diabète sucré non insulino-dépendant, qui survient le plus souvent chez les personnes obèses ou ayant été obèses. Au début de la maladie, la production d'insuline est normale, mais celle-ci ne peut assurer une régulation du glucose dans le sang, en partie, insensible à l'action de cette hormone. Le taux du glucose dans le sang est alors trop élevé (hyperglycémie), ce qui se traduit par la présence anormale du glucose dans les urines. La sécrétion d'insuline peut ensuite diminuer progressivement, jusqu'à aboutir

à un déficit total de cette hormone, ce qui conduit au diabète insulino-dépendant : celui-ci nécessite des injections régulières d'insuline. [18]

- Autres types de diabètes :

- Diabète gestationnel : il est une hyperglycémie apparue ou décelée pour la première fois pendant la grossesse.
- Diabète iatrogène. (Glucocorticoïdes, Diurétiques thiazidiques, Propanolol...)
- Diabète pancréatique.
- Diabète de l'insuffisance hépatique. [22]

I.2. DIABETE NON INSULINO-DEPENDANT :

I.2.1. Les facteurs de risque :

Les principaux facteurs de risques sont :

- L'âge : après 40 à 50 ans. [9]
- La prédisposition familiale de cette maladie. [18]
- L'obésité : 20 à 30 % des obèses sont atteints de la maladie. [7]
- Facteurs sociologiques : mode de vie, alimentation, activité physique insuffisante. [7]
- Facteurs démographiques : allongement de l'espérance de vie, mais aussi un meilleur dépistage de la maladie. [7]

I.2.2. Physiopathologie de diabète non insulino-dépendant :

Les mécanismes de développement de l'hyperglycémie sont moins clairs que dans le diabète de type 1. Il associe une insulino-résistance peut-être essentiellement en aval du récepteur de l'insuline où il existe une diminution de la sensibilité tissulaire aux effets de l'insuline et une insulino-pénie. [17, 22]

La glycémie reste normale tant que les cellules β des îlots de Langerhans sont capables de faire face aux besoins accrus d'insuline. Mais après plusieurs années

d'hyperinsulinisme, les cellules β défontent, une insulinoopénie apparaît et la glycémie augmente [8,9]. Le foie produit plus de glucose, qui est moins bien capté et utilisé dans le muscle. Au stade initial, un hyperinsulinisme réactionnel parvient à maintenir un taux normal de glucose dans le sang mais il existe une deuxième série d'anomalies au niveau de l'insulinosécrétion. Ces anomalies sont à la fois d'ordre qualitatif : disparition du pic précoce de l'insulinosécrétion, et quantitatif : l'hyperinsulinisme n'est que relatif et la quantité produite d'insuline est finalement insuffisante pour amener la glycémie à un taux normal. Avec les décennies, la sécrétion d'insuline finit même par se tarir complètement. [17]

La maladie évolue de façon insidieuse et reste longtemps asymptomatique, c'est-à-dire sans signes cliniques. De ce fait, le *DT2* peut progresser des années sans que l'individu n'ait conscient de sa pathologie. Lorsque le diagnostic est établi, le diabète perdure en moyenne depuis déjà 5 ans. (*Figure 2*).

A ce stade, un régime alimentaire est tout d'abord prescrit suivi d'un traitement par les antidiabétiques oraux. [26]

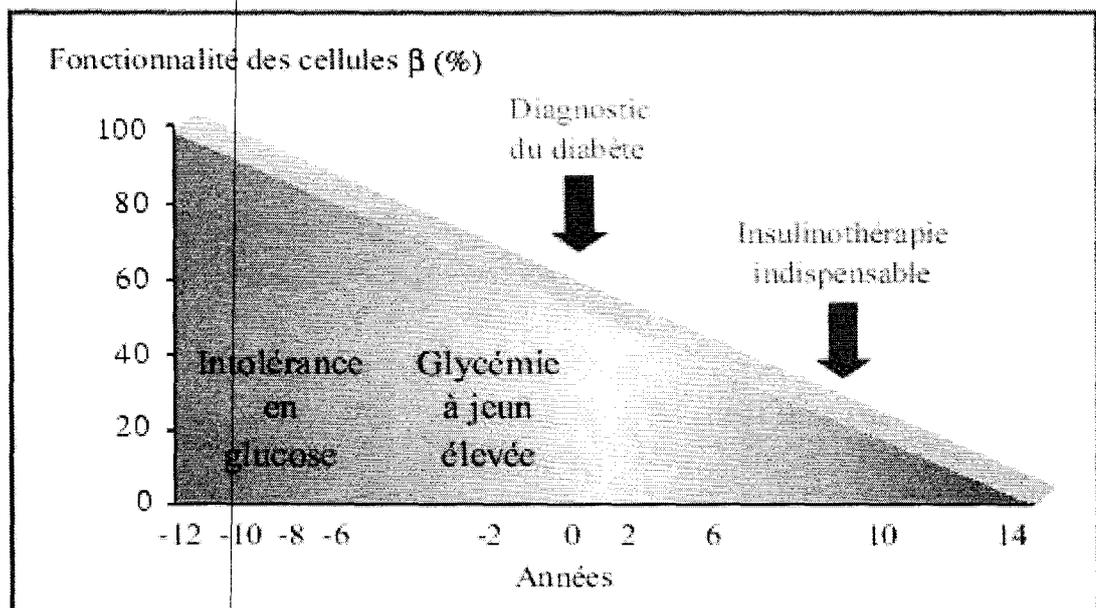


Figure N°2 : Fonctionnalité des cellules β aux cours du diabète type 2.

Le **DT2** est une maladie grave puisqu'il peut engendrer la survenue de nombreuses complications. Ces complications sont occasionnées par : atteinte des vaisseaux, qui peut être de deux types :

- Atteinte des gros vaisseaux comme les artères coronaires qui irriguent le cœur : ce sont les macroangiopathies;
- Atteinte des microvaisseaux spécifiquement au niveau du rein, de la rétine et certains nerfs périphériques : on parle de microangiopathies. [26]

Ces complications cardiovasculaires (micro- et macrovasculaires) sont la principale cause de décès des patients atteints de **DT2**: la morbidité et la mortalité cardiovasculaire y sont multipliées par un facteur de 2 à 3 chez l'homme et de 4 à 5 chez la femme. [26]

Environ 20 % des accidents vasculaires cérébraux surviennent chez des diabétiques. A terme, d'autres complications (cécité, insuffisance rénale, ...) peuvent être la source de graves handicaps altérant considérablement la qualité de vie. [26]

Chez les patients diabétiques, il est donc absolument nécessaire de réguler la glycémie pour limiter la forte morbidité et la mortalité associées à cette maladie. [26]

I.2.3. Schéma thérapeutique du diabète de type 2 :

Dans le **DT2** ou **DNID**, l'étiologie est inconnue mais on sait qu'il existe une composante génétique importante. [24]

Il y a une résistance à la circulation d'insuline qui protège le patient de la cétose. [24]

Il y a une réduction du nombre de récepteurs à l'insuline et celle-ci est souvent associée à une obésité.

La perte de poids (**régime** et **exercice**) réduit la résistance à l'insuline et contrôle environ un tiers des diabétiques de type 2. Un autre tiers des diabétiques de type 2 sont contrôlés par un régime associé à des médicaments antidiabétiques oraux. [24]

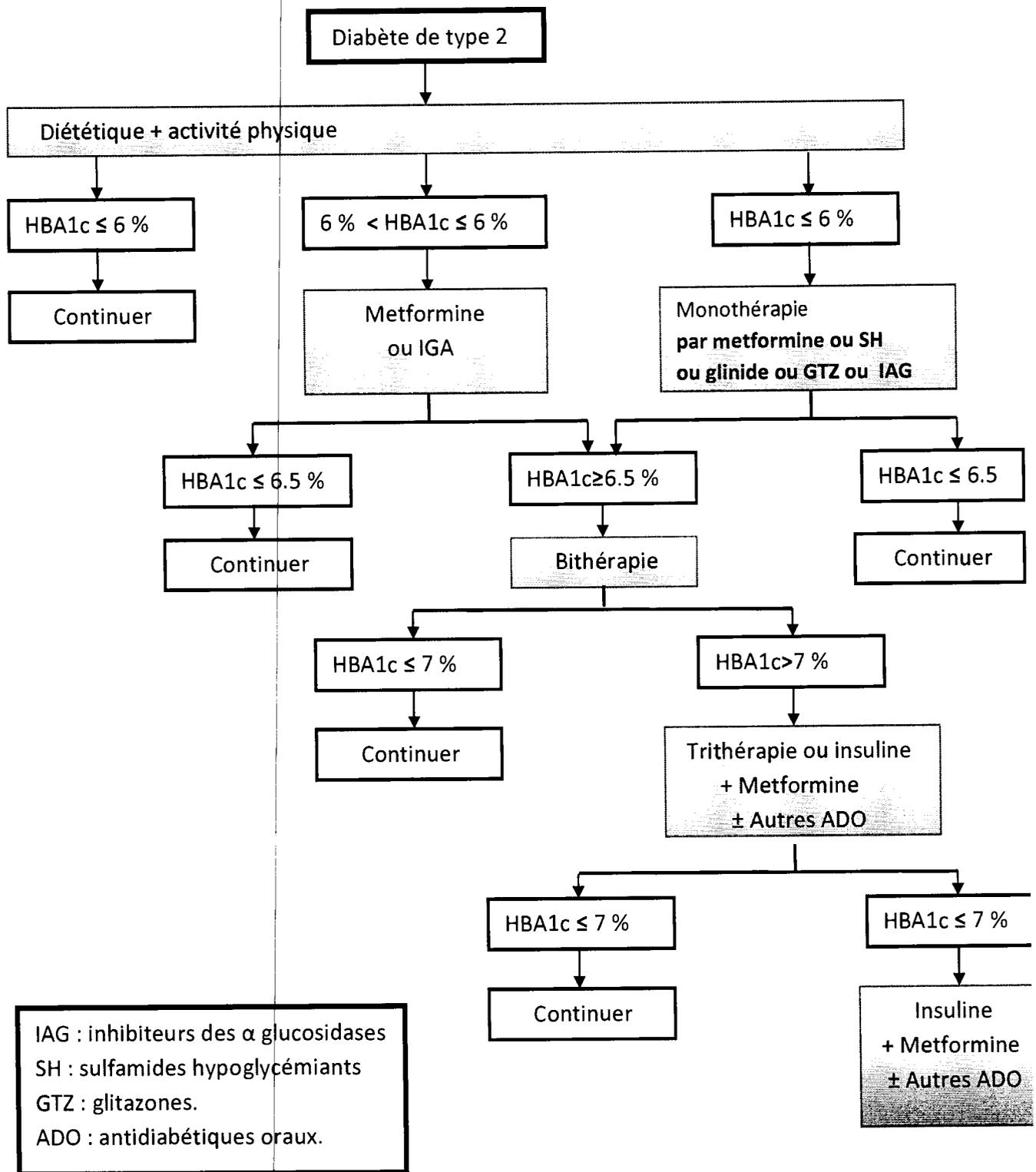


Figure N°3 : Schéma thérapeutique proposé du diabète de type 2 (d'après les recommandations de l'HAS 2006). [8, 19]

II. LES ANTIDIABETIQUE :

II.1. Définition :

L'objectif prioritaire du traitement consiste à maintenir la glycémie autour de sa valeur normale. La thérapeutique vise à prévenir l'hyperglycémie symptomatique et les complications métaboliques (acidocétose, voire coma hyperosmolaire) tout en minimalisant les risques d'hypoglycémie. Les médicaments utilisés visent :

- à compenser la carence en insuline observée dans le DID (insulines et analogues) ;
- à limiter le phénomène d'insulinorésistance suivi de l'insulinopénie dans le DNID (antidiabétiques oraux). [9]

II.2. Classification des antidiabétiques :

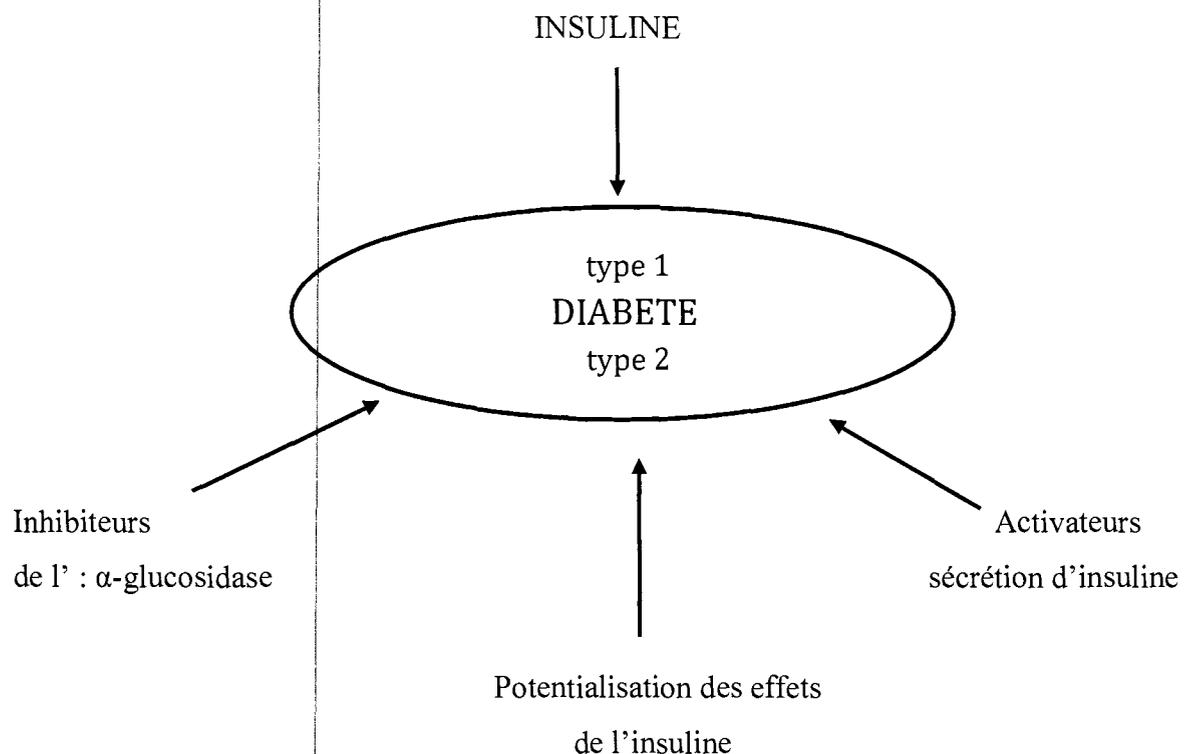


Figure N°4 : Les grandes classes des antidiabétiques. [29]

Les médicaments antidiabétiques peuvent être classés selon leurs mécanismes d'action en : [19, 29]

- **Insuline** : utilisée pour compenser la déficience ou l'absence de la sécrétion endogène ;
 - à action rapide et brève.
 - à action intermédiaire.
 - à action prolongée.

- **Activateurs de la sécrétion d'insuline**
 - Sulfamides hypoglycémiants :
 - ✦ Glibenclamide.
 - ✦ Glipizide.
 - ✦ Glimépiride.
 - ✦ Carbutamide.
 - ✦ Gliclazide.
 - Glinides : Répaglinide.
 - Analogues du **GLP-1** (Agonistes des récepteurs du GLP-1).
 - Gliptines, inhibiteurs de la **DDP-4**(Inhibiteurs de la dégradation du GLP-1).

- **Potentialisateurs des effets de l'insuline**
 - Biguanide : **Metformine**.
 - Thiazolidinediones ou glitazones : Pioglitazone,
 - (Rosiglitazone, retirée du marché).

- **Inhibiteurs de l'absorption intestinale des sucres**
 - Inhibiteurs des alpha-glucosidase : Acarbose, Miglitol.

Les différents traitements du diabète sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau N° 1 : Différents traitements du diabète de type 2.

TRAITEMENT	MECANISME D'ACTION	REDUCTION DE L'HbA1c (%)	EFFETS SECONDAIRES PRINCIPAUX	EFFETS SUR LE POIDS
insuline	Insuline exogène	1.5-2.5	Hypoglycémie	↑
Biguanides	Diminution de la production hématique de glucose	1.5	Troubles digestifs	≈
Sulfamides	Augmentation de la sécrétion d'insuline	1.5	Hypoglycémie	↑
Glinides	Augmentation de la sécrétion d'insuline	1-1.5	Hypoglycémie	↑
Glitazones	Diminution de L'insulinorésistance	0.8-1	Rétention hydrosodée Ostéoporose	↑
GPL-1	Potentialisation de la sécrétion d'insuline, diminution de la sécrétion de glucagon, ralentissement de la vidange gastrique.	0.5-1.5	Nausées, vomissements	↓
IDPP-4	Inhibition du métabolisme de GPL-1	0.5-0.8	Troubles digestives	≈
Inhibiteurs des α-glucosidases	Réduction de la digestion des sucres complexes	0.5-0.8	Troubles digestives	≈

II.3. BIGUANIDES

II.3.1. Historique :

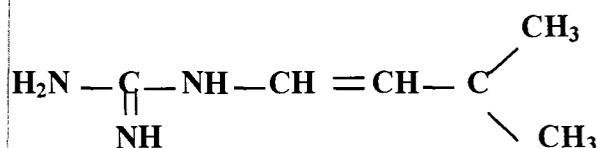
WATANEBE a découvert en 1918, l'action hypoglycémiante de la molécule de guanidine, cependant celui-ci a dû être remanié en raison de sa toxicité qui rendait impropre son utilisation. [6, 16]

Il y a eu les monoguanides qui sont restés au stade expérimentale, puis les diguanides et enfin les diguanides actuels. [6]

Des guanidines substituées ont été testées ainsi que divers produits naturels dont par exemple, **la galéguine (3-methylbuten-2yl guanidine)** extraite de graine de

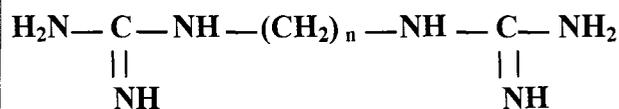
Galega officinalis comportant le pharmacophore guanidine très basique

(pKa de l'ordre 13). [16]



Galéguine

Ensuite, les diguanides ont été synthétisés en 1928 et utilisés sous le nom de synthalines, mais ils présentaient cependant une toxicité hépatique et rénale. [6]



Synthalines

En 1929, n = 10: Synthaline.

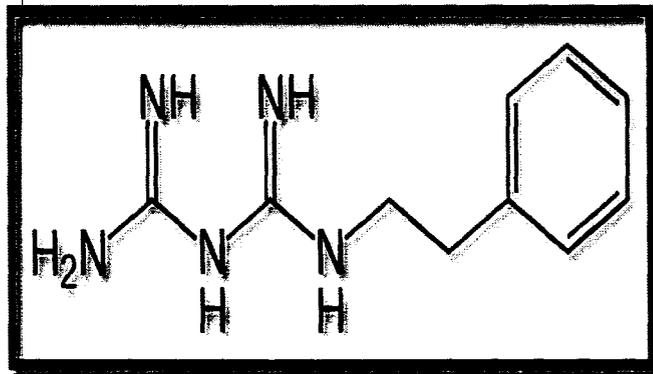
n = 12: Néosynthaline. [16]

En 1950, apparaissent les biguanides qui résultent de la liaison de 2 groupes gaunidine. Ils sont beaucoup moins toxiques et sont utilisés depuis 1959. [6]

Biguanide est la classe de médicaments antidiabétiques, qui comprends également les agents retirés **phenformine** et **buformine**, provient de lilas français (*Galéga officinalis*), une plante utilisée en médecine populaire pour plusieurs siècles ; et la **metformine** qui est seule demeure d'usage courant dans de nombreux pays. [6, 16]

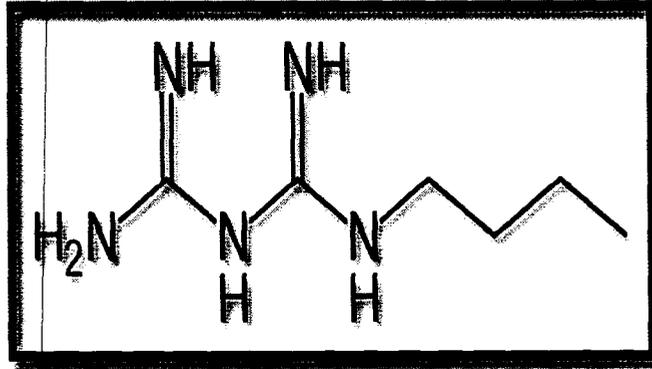
- **La phenformine** : commercialisée sous le nom d'**insoral** en France. Celle-ci a été retirée du commerce depuis le 31 mars 1978 en raison du risque d'acidose lactique.

C'est la **phenylethylbiguanide**. [6]



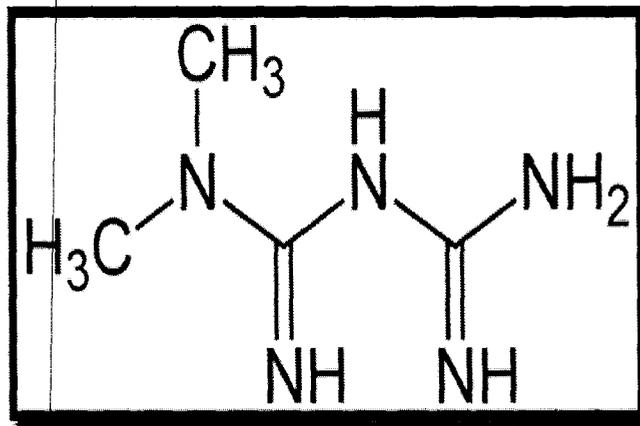
Elle a été commercialisée aux Etats-Unis en 1960 puis elle a été retirée du marché.

- **La buformine** : où **N butylbiguanide**, connue sous le nom de **sibulin** et principalement utilisée en Allemagne et dans les pays de l'Est. [6]



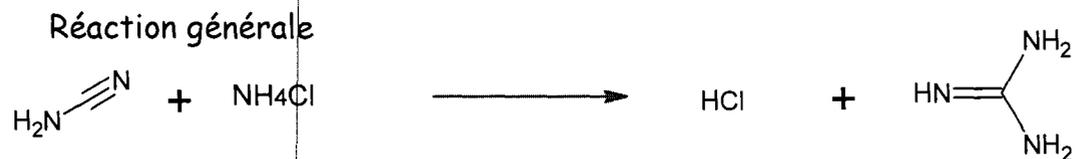
• **La metformine** : ou **diméthylbiguanide** :

Elle a été synthétisée également vers 1959, ainsi que dans les pays Anglo-Saxons et Scandinaves et les pays méditerranéens. [6]

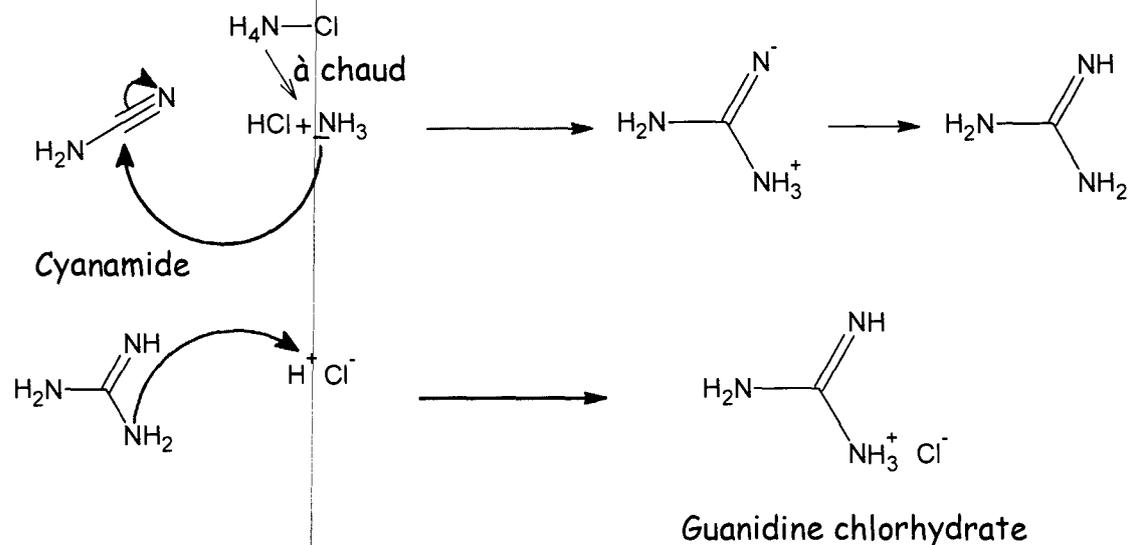


II.3.2. Mode d'accès des biguanides :

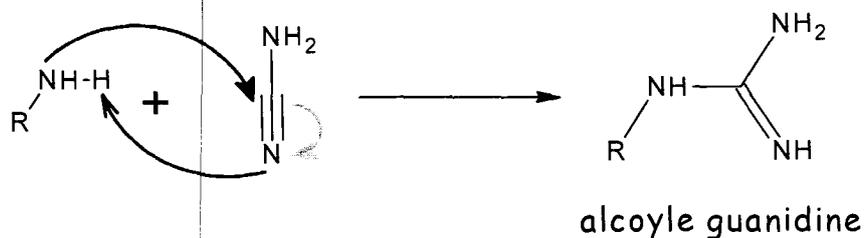
- Pour introduire le radical **guanidyle** dans une molécule, on utilise le plus fréquemment dans l'industrie : le **Cyanamide**. [14]
- On faisant réagir, à chaud, ce Cyanamide avec le chlorure d'ammonium, on obtient : [14]



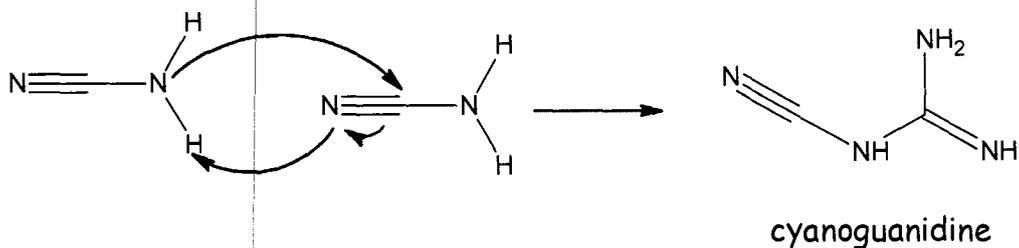
mécanisme de la réaction:



Si on remplace le chlorure d'ammonium par un composé renfermant une **amine primaire** on aura la réaction : [14]



Si on condense ce cyanamide avec lui-même : par dimérisation de la cyanamide en milieu basique ($8 < \text{pH} < 9$), on obtient la **cyanoguanidine**. (Utilisé comme intermédiaire dans la synthèse de la metformine) : [14, 16]



III. ETUDE DE LA METFORMINE :

III.1. FORMULE :

La metformine est un antidiabétique oral de la famille des biguanides. Il est le médicament de première ligne de choix pour le traitement de diabète de *type 2*, en particulier, chez les personnes en surpoids et obèses et ceux ayant une fonction rénale normale.

Elle a été développée par « **Jean Sterne** » en **1957** ; elle a été relancée dans les années **1970** après le retrait des autres biguanides, mais elle n'a pas reçu l'approbation de la **US Food and Drug Administration (FDA)** pour le diabète **type 2** jusqu'en **1994**. [6]

Glucophage a été la première formulation de marque de la **metformine** à être commercialisée aux Etats-Unis, en commençant le **3 Mars 1995**.

Elle est de formule chimique brute **C₄H₁₁ N₅** et possède un poids moléculaire de **129**. Sa formule chimique développée est la suivante : [23, 27, 28]

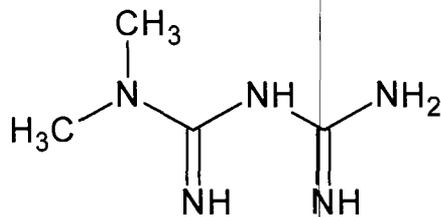


Figure N°5 :

Formule développée de la metformine.

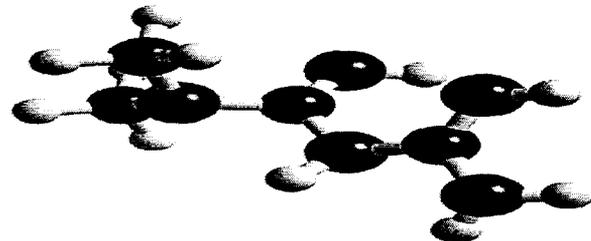


Figure N° 6 :

Optimisation tridimensionnelle.

● Atome de carbone

● atome d'hydrogène

● atome d'azote

III.2. NOMENCLATURE ET ENSEMBLE DE DENOMINATION :

- ***Selon l'IUPAC***(International Union of Pure and Applied Chemistry):

La metformine possède les dénominations chimiques suivantes :

- **1,1-diméthylbiguanide.**
- **N, N-diméthylbiguanide.**
- **N'-diméthylguanidylguanidine. [3, 23, 27, 28]**

- ***Le CASrN:*** 657-24-9

C'est le numéro d'enregistrement du Chemical Abstract Services ou le code d'identification des produits. [3, 23, 37]

- ***Les dénominations communes:***

- **DCI** (Dénomination Commune Internationale) : Metformine, en latin : Metformin.
- **DCF** (Dénomination Commune Française) et **BAN** (British Approved name) : Metformine. [37]

- ***Sels et dérivés :***

Selon les pharmacopées, on distingue trois dérivés de la metformine qui sont représentés dans le tableau suivant : [3, 5, 23, 28, 38]

Tableau N°2 : Sels et dérivés de la metformine.

<i>Sel ou dérivé</i>	<i>Formule brute</i>	<i>Poids Moléculaire g /mole</i>	<i>Pharmacopée</i>	<i>CASrN</i>
Chlorhydrate de metformine	$C_4H_{11}N_5$, HCl	165,62	*Pharmacopée européenne (7 ^{ème} édition) * US pharmacopea (33 ^{ème} édition) * British pharmacopeia 2008	1115-70-4
Embonate de metformine	$(C_4H_{11}N_5)_2$, $C_{23}H_{16}O_6$	646,70	* The merck index	34461-22-8
Metformine para-chloro-phenoxyacetate	$C_4H_{11}N_5$, $C_8H_7ClO_3$	315,76	* The merck index	25672-33-7

- **Nom déposé:** *ND*, ou nom de marque pharmaceutique universellement désigné par *R* pour Registered marque, par *D* pour marque Déposée ou bien par un Astérix (*) pour des raisons typographiques.

Les noms déposés de la metformine disponibles en Algérie sont reportés sur le tableau 3 : [3, 23, 38, 39,40]

Tableau N°3 : Noms déposés de la metformine disponibles en Algérie.

<i>Dérivés ou sels de la metformine</i>	<i>Noms déposés</i>
Chlorhydrate de la metformine	Diabamine, Diaphage, Glucophage, Metfor, Metformine Biogaran, Novoformine, Physioformine
Embonate de la metformine	Stagid.
Metformine para-chloro-phenoxyacetate	Glucinan.

• ***Autres systèmes de dénomination :***

- ATC code : A10BA02.

C'est l'Anatomic Therapeutique Chemical classification system, contrôlé par l'OMS.

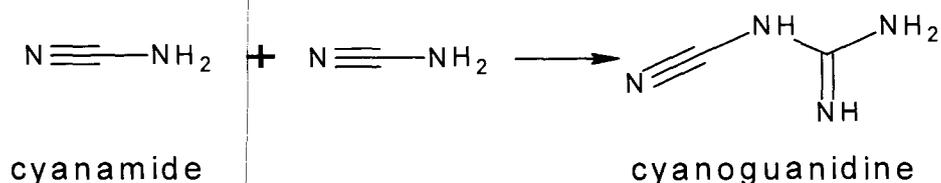
- PubChem: 4091.

C'est la base de données du National center of Biotechnology Information qui appartient à l'institut de la santé des USA.

- Drug Bank: DB00331.

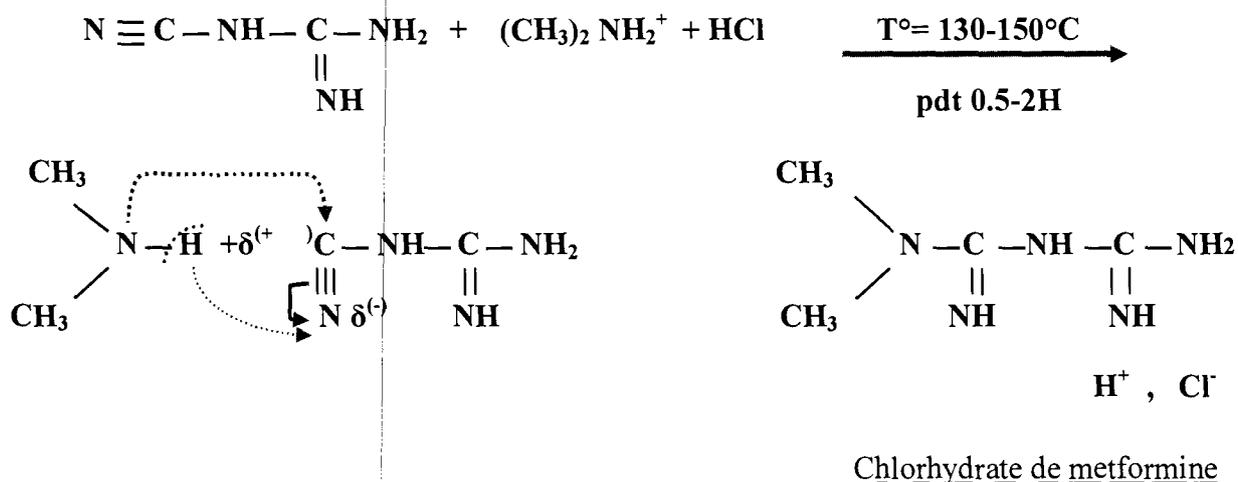
III.3. SYNTHÈSE CHIMIQUE :

A)- La synthèse de la metformine utilise comme intermédiaire le cyanoguanidine, formé par dimérisation en milieu basique ($8 < \text{pH} < 9$) de la cyanamide, lui-même facilement obtenu à partir de son dérivé calcique, forme de stockage habituelle. [14, 16, 34].



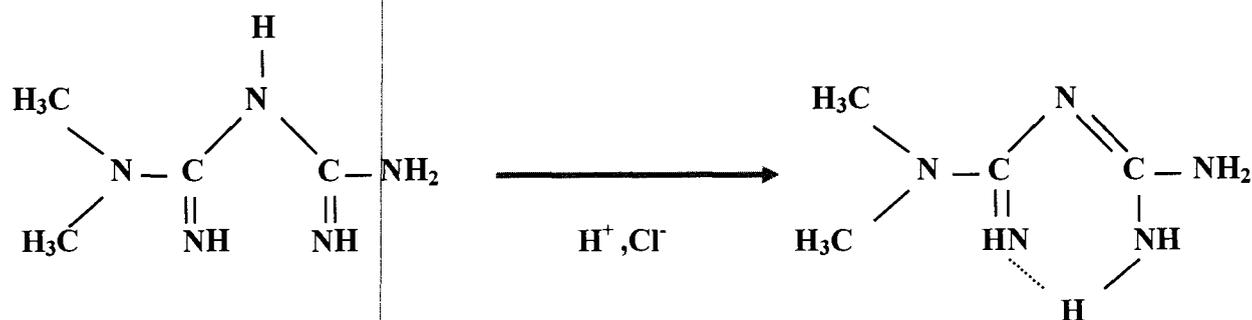
B)- La fusion du cyanoguanidine en présence d'une amine : chlorhydrate de diméthylamine, à des températures de l'ordre de 130 à 150 °C pendant 0.5 à 2 H, fournit les sels de biguanides (metformine est la première structure) avec des rendements très satisfaisants.

Dans ces procédés de synthèse les impuretés majeures sont la cyanoguanidine, mais aussi la mélanine (*2, 4, 6-triamino-s-triazine*). [14, 16, 34]



C)- On a pu démontrer que le composé pouvait exister sous forme cyclisé par liaison hydrogène intramoléculaire et c'est cette forme qui serait physiologiquement active.

Le composé cyclique se formant, par exemple, soit par chauffage de la cyanamide, soit par condensation de celui-ci avec la cyanoguanidine. [14, 16].



III.4. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA METFORMINE:

- Metformine : C'est une poudre cristalline blanche. [3, 27, 28].
- Chlorhydrate de metformine :
 - Elle se trouve sous forme de cristaux blancs ou presque blancs ; à point de fusion entre $222^\circ\text{C} - 226^\circ\text{C}$. [27, 28].
 - Soluble dans l'eau, légèrement soluble dans l'alcool. Pratiquement insoluble dans l'acétone et du chlorure de méthylène. [3, 27, 28].
- Le **pH** d'une solution aqueuse à 1% de chlorhydrate de metformine est **6,68**. [3]
- La metformine est le siège d'une intense résonance, la figure suivante indique les principales formules limites correspondant à cette mésomérie, la figure suivante indique les principales formules limites correspondant à cette mésomérie. [14]

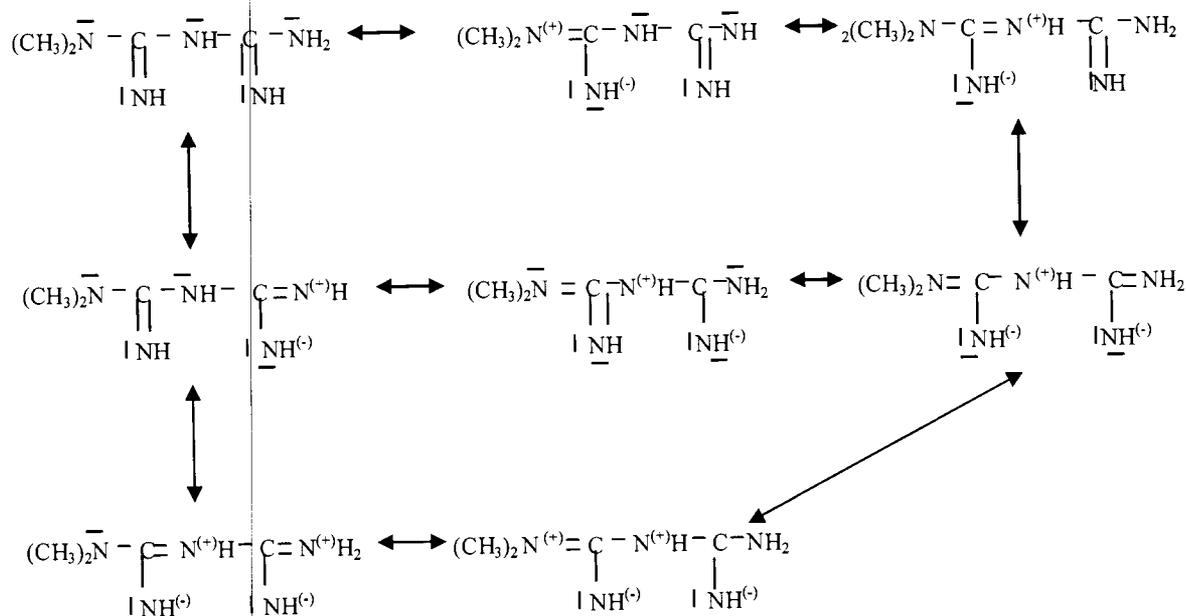


Figure N°7: Résonance de la metformine.

- La metformine est un composé très basique. Elle présente trois constantes de dissociation; les **pKa** sont de **11.5** et **2.9** pour les deux premières, celui du troisième est très faible. La figure suivante montre les trois équilibres de dissociation acido-basique pour la metformine. [14]

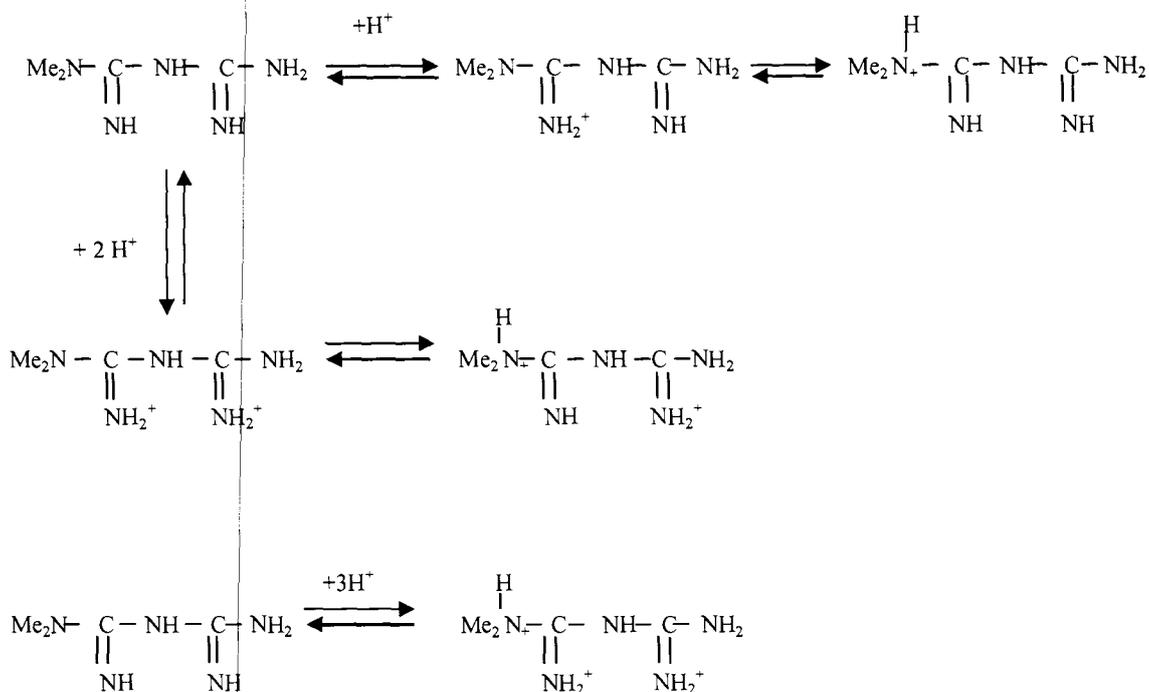


Figure N°8 : Dissociations acido-basiques de la metformine.

Il est habituel de représenter, selon la figure suivante, les acides conjugués résultant de la fixation de un et de deux protons de manière à faire apparaître la délocalisation électronique. [14]

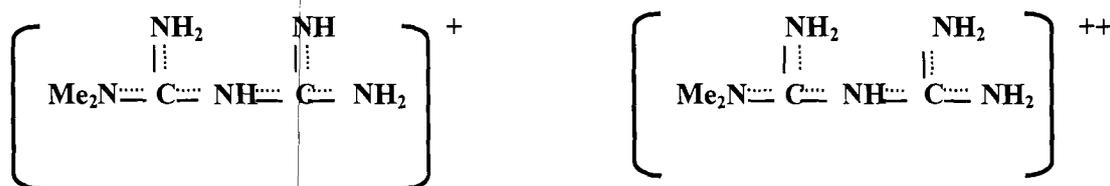


Figure N°9 : Structure des deux acides conjugués de la metformine.

III.5. DONNEES PHARMACOLOGIQUES :

III.5.1 PHARMACOCINETIQUE :

- **Absorption :**

La metformine présente une absorption digestive – sans doute localisée dans la partie supérieure de l'intestin - saturable et incomplète (il semble qu'elle soit non linéaire).

Pour une prise orale d'un comprimé, la concentration maximale plasmatique (pour 500mg: $C_{max}=0,6$ à $2,25$ mg/l) est atteinte en 1-3h (T_{max}) environ. L'alimentation diminue et ralentit légèrement l'absorption de la metformine. [12, 16, 39, 40]

La dose quotidienne maximale recommandée de metformine est de **3g**, en trois prises pendant les repas. [12, 16, 39, 40]

- **Distribution :**

La metformine est un médicament stable ne se lie pas aux protéines plasmatiques. Il existe une importante fixation au niveau de l'œsophage, de l'estomac, du duodénum ainsi qu'à celui des reins et des glandes salivaires. [12, 16, 39, 40]

La metformine diffuse dans les érythrocytes (représentent très probablement un compartiment secondaire de distribution). Le pic sanguin est inférieur au pic plasmatique, et apparaît approximativement au même moment. [12, 16, 39, 40]

Les érythrocytes représentent très probablement un compartiment secondaire de distribution. [40]

Le volume de distribution (V_d) moyen est compris entre 63 et 276 litres. [40]

- **Métabolisme :**

La metformine n'est pas métabolisée et ne subit pas de premier passage hépatique important. La metformine est excrétée dans l'urine sous forme inchangée. Aucun métabolite n'a été identifié chez l'homme. [16, 40]

• **Elimination :**

L'élimination rénale – sous forme inchangée – par filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire empruntant le système de transport actif des cations, varie de **30 à 60%** ; l'élimination fécale oscille de **20 à 30 %**. [16]

Après une administration orale, la demi-vie apparente d'élimination terminale est d'environ **4.5 heures**. [3, 40]

La metformine présente le phénomène de non linéarité : diminution de la biodisponibilité (de **42 à 86%**) et diminution de la quantité excrétée par l'urine (de **42 à 90%**) lors d'augmentation de la dose de **0,5 à 2g**. [16]

En cas d'altération de la fonction rénale, la clairance rénale est réduite de manière proportionnelle à celle de la créatinine. Ce phénomène conduit à un allongement de la demi-vie d'élimination, ce qui entraîne une augmentation des concentrations plasmatiques de metformine. [40]

****Population pédiatrique :**

- ***Étude à dose unique*** : après une dose unique de chlorhydrate de metformine à **500 mg**, le profil pharmacocinétique chez l'enfant était similaire à celui observé chez des adultes sains. [40]
- ***Étude à doses répétées*** : les données sont réduites à une étude. [40]

Après administration de doses répétées de **500 mg 2 fois par jour pendant 7 jours** à des enfants et des adolescents, la concentration plasmatique maximale (C_{max}) et l'exposition systémique (AUC_{0-t}) ont été réduites d'environ **33 %** et **40 %** respectivement en comparaison à des adultes diabétiques ayant reçu des doses répétées de **500 mg 2 fois par jour pendant 14 jours**. Comme les posologies sont adaptées de façon individuelle en fonction du contrôle glycémique, ces résultats ont une pertinence clinique limitée. [40]

Tableau N°4 : Différentes valeurs pharmacocinétiques de la metformine. [3]

<i>Paramètre</i>	<i>Valeur</i>
Biodisponibilité orale (%)	50 -60
Volume de distribution (l /kg)	1 - 4
T max (heures)	1 - 3
Temps demi vie (heures)	1.3 – 4.5
Linéarité en fonction des doses thérapeutiques	Non linéaire
Clairance (ml/min/kg)	7 - 10

III.5.2 PHARMACODYNAMIE :

Antidiabétique oral, la metformine est un biguanide possédant des effets antihyperglycémiant, réduisant la glycémie basale et postprandiale. Elle ne stimule pas la sécrétion d'insuline et, par conséquent, ne provoque pas d'hypoglycémie.

La metformine peut agir par l'intermédiaire de trois mécanismes :

- En réduisant la production hépatique de glucose, en inhibant la néoglucogenèse et la glycogénolyse ;
- Au niveau musculaire, en augmentant la sensibilité à l'insuline, en favorisant la captation et l'utilisation périphérique du glucose ;
- Enfin, en retardant l'absorption intestinale du glucose. La metformine stimule la synthèse intracellulaire du glycogène, en agissant sur la glycogène-synthétase.

La metformine augmente la capacité de transport de tous les types de transporteurs membranaires du glucose (GLUTs) connus à ce jour. [40]

Chez l'homme, indépendamment de son action sur la glycémie, la metformine a des effets favorables sur le métabolisme lipidique. Ceci a été démontré à doses thérapeutiques au cours d'études contrôlées à moyen ou long terme: la metformine réduit le cholestérol total et le LDL cholestérol, ainsi que les taux de triglycérides. [40]

III.5.3. MECANISME D'ACTION :

La metformine améliore l'hyperglycémie principalement par le biais de sa suppression de la production hépatique de glucose (*gluconéogenèse hépatique*) par un mécanisme purement énergétique en modifiant le fonctionnement des mitochondries, des organites cellulaires produisant de l'énergie sous forme *d'ATP*.

La metformine est un inhibiteur modéré du complexe *I* de la chaîne respiratoire qui altère la balance énergétique cellulaire. La réduction de la disponibilité en *ATP* et l'élévation de l'*AMP* cellulaire induisent une inhibition de la production de glucose par carence énergétique et inhibition allostérique de la *fructose-1,6-biphosphatase*.

L'activation de l'*AMPK* par l'augmentation du rapport *AMP/ATP* conduit à une réduction de la lipotoxicité et à une amélioration de la sensibilité à l'insuline (via la diminution de la lipogénèse et l'activation de la β -oxydation), permettant ainsi de rétablir le contrôle de la gluconéogenèse par l'insuline. (Figure N° 10)

* Au niveau hépatique :

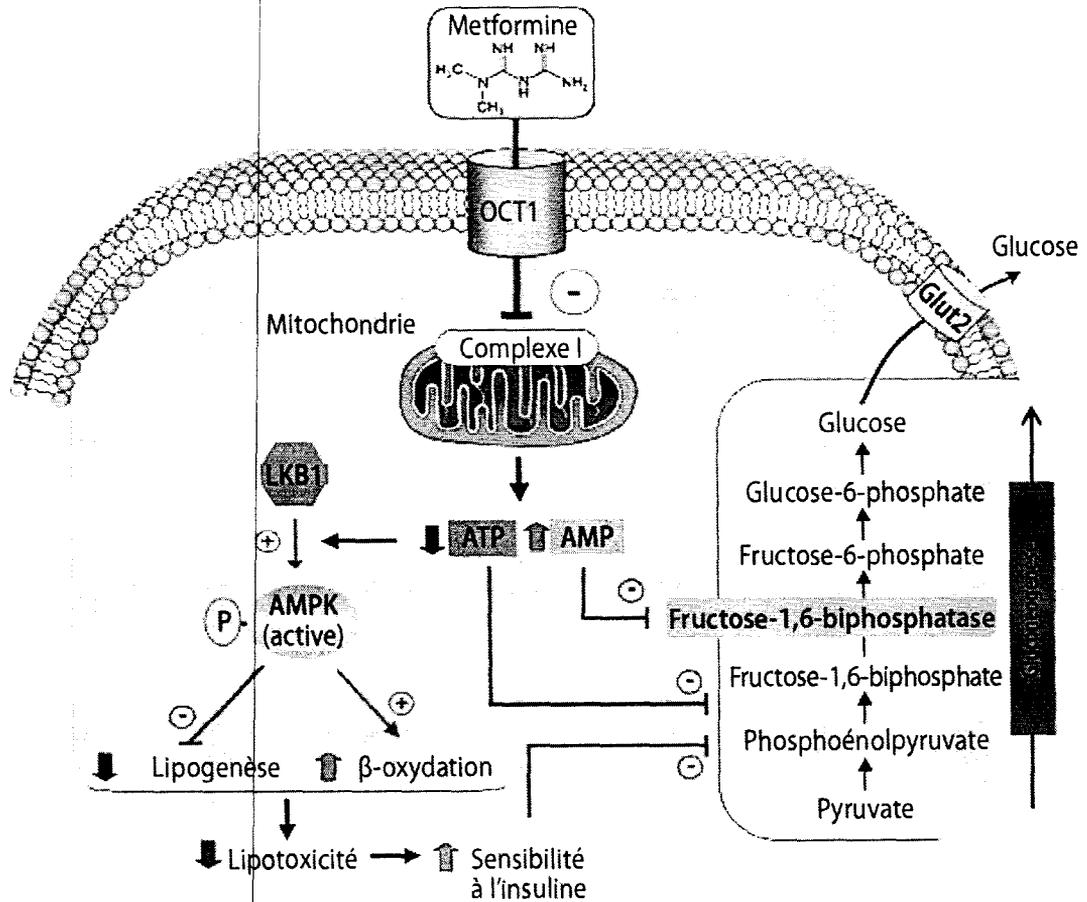


Figure N° 10 : Inhibition de la production hépatique de glucose par la metformine.

AMPK: AMP-activated protein kinase;

Glut2: Glucose transporter 2;

LKB1: Liver Kinase B1;

OCT1: Organic Cation Transporter 1.

III.5.4. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DE LA METFORMINE:

La metformine est antihyperglycémiant, non hypoglycémiant, elle n'exerce aucun effet sur les cellules bêta du pancréas, donc elle ne modifie pas l'insulinosécrétion. Elle agit uniquement au niveau extra-pancréatique.

La metformine n'a aucun effet notable sur la sécrétion du glucagon, du cortisol, de l'hormone de croissance ou de la somatostatine. [9]

La principale cause de la réduction de la glycémie lors du traitement par la metformine semble être une amélioration de la sensibilité des tissus cibles (muscles, foie) à l'insuline et ainsi une augmentation de l'utilisation périphérique du glucose, on dit que la metformine diminue l'insulinorésistance, sans entraîner d'accident hypoglycémique. En outre, elle permet une diminution de la production hépatique de glucose (la néoglucogénèse), stimule la synthèse intracellulaire du glycogène, en agissant sur la glycogène-synthétase et un ralentissement de l'absorption intestinale du glucose. [12]

La metformine présente également un effet hypotriglycéridémiant.

III.6. INDICATIONS ET USAGE DE LA METFORMINE :

III.6.1. INDICATIONS DE LA METFORMINE :

- **Diabète type 2 :**

Traitement du diabète de type 2, en particulier en cas de surcharge pondérale, lorsque le régime alimentaire et l'exercice physique ne sont pas suffisants pour rétablir l'équilibre glycémique.

La metformine peut être utilisée en monothérapie ou en association avec d'autres antidiabétiques oraux ou avec l'insuline. Une réduction des complications liées au diabète a été observée chez des patients diabétiques de type 2 en surcharge pondérale traités par la metformine en première intention, après échec du régime alimentaire. [40]

- **Autres indications :**

La metformine a une certaine efficacité dans le syndrome de Stein-Leventhal (ou syndrome des ovaires polykystiques), maladie souvent associée à un diabète de type 2.

Elle améliore ainsi légèrement les chances d'ovulation chez ces femmes bien que le taux de conception reste décevant. [23]

L'indication de ce médicament dans la polykystose ovarienne n'est pas retenue par la **Food and Drug Administration** mais son utilisation systématique est considérée dans les recommandations de l'« **American Association of Clinical Endocrinologists** ».

Elle pourrait également retarder l'apparition d'un diabète en cas d'intolérance glucidique. [23]

III.6.2. LA METFORMINE, SES PRESENTATIONS

PHARMACOLOGIQUES :

- La Metformine existe sous forme instantanée en comprimés à **500** mg, commercialisée sous le nom de **GLUCOPHAGE** ; C'est du chlorhydrate de metformine. [6, 27, 28].
- Nous la trouvons également sous forme retard en comprimés à **850** mg et **1000** mg. [6, 27, 28].

Tableau N°5 : Quelques produits commercialisés dans le monde de chlorhydrate de Metformine.

<i>Produit</i>	<i>DCI</i>	<i>Forme Pharmaceutique</i>	<i>Dosage (mg)</i>	<i>Laboratoire</i>
GLUCOPHAGE	Chlorhydrate de metformine	Comprimés pelliculés	500 850 1000	Merck santé S.A.S
METFORMINE BIOGARAN	Chlorhydrate de metformine	Comprimés pelliculés	500 850 1000	BIOGRAN
METFORMINE PFIZER	Chlorhydrate de metformine	Comprimés pelliculés	500 850 1000	PFIZER HOLDING FRANCE
METFORMINE RANBAXY	Chlorhydrate de metformine	Comprimés pelliculés	500 850	RANBAXY Pharma Génériques
METFORMINE ISOMED	Chlorhydrate de metformine	Comprimés pelliculés	500 850 1000	PLUS PHARMACIE
METFORMINE MYLAN PHARMA	Chlorhydrate de metformine	Comprimés sécables	500 850 1000	MYLAN

- Elle existe également en comprimés à 700 mg sous forme d'un nouveau sel, l'embonate de metformine ou STAGID, soit 280 mg de metformine base. [6, 27, 28].
- Nous la trouvons aussi associé :
 - Avec une toxine végétale, c'est le paraphénoxyacétate de metformine, vendu sous le nom de **GLUCINAN**. Il contient **205** mg de metformine base. [6, 27, 28].
 - Avec d'autres médicaments tels que les sulfamides

Tableau N° 6 : Quelques associations se trouvant sur le marché.

<i>Produit</i>	<i>DCI</i>	<i>Forme Pharmaceutique</i>	<i>Dosage (mg)</i>	<i>Laboratoire</i>
AVANDAMET	Roziglitazone	Comprimés pelliculés	1	SmithKline Beecham Plc GSK
	Metformine		2 4	
	<i>Retiré de la</i>	<i>Vente depuis le</i>	<i>02 Mai</i>	<i>2011</i>
EUCREAS	Vildagliptine Metformine	Comprimés pelliculés	50/1000	NOVARTIS EUROPHARM LTD
GLUCOVANCE	Metformine Glibenclamide	Comprimés pelliculés	50/2.5 50/5	Merck santé S.A.S
JANUMET	Sitagliptine Metformine	Comprimés pelliculés	50/1000	M.S.D-SP-LTD
COMPETACT	Pioglitazone Metformine	Comprimés pelliculés	15/850	TEKEDA Europe RD Centre
	<i>Retiré de la</i>		<i>Vente depuis le 08</i>	
VELMITIA	Sitagliptine Metformine	Comprimés pelliculés	50/1000	M.S.D-SP-LTD

III.6.3. MODE D'ADMINISTRATION ET POSOLOGIE :

La metformine est administré par voie orale en comprimés sous forme de chlorhydrate (dosés à 1000, 850 et 500 mg) ou sous forme d'embonate (dosés à 700 mg). [6, 39,40]

En monothérapie ou en association avec d'autres antidiabétiques oraux : La posologie initiale usuelle est de 500 mg ou de 850 mg de chlorhydrate de metformine, 2 ou 3 fois par jour, administrés au cours ou à la fin des repas. [6, 39,40]

Au bout de 10 à 15 jours, la posologie sera adaptée en fonction de la glycémie. Une augmentation progressive de la posologie peut permettre d'améliorer la tolérance gastro-intestinale. [6, 39,40]

La dose maximale recommandée de chlorhydrate de metformine est de 3 g par jour. [40]

En association avec l'insuline : La metformine et l'insuline peuvent être associées afin d'obtenir un meilleur contrôle glycémique. La posologie initiale usuelle est de 500 mg ou de 850mg de chlorhydrate de metformine, 2 ou 3 fois par jour, et l'insuline sera adaptée en fonction de la glycémie. [40]

- **Sujets âgés** : Compte tenu de la diminution éventuelle de la fonction rénale chez le sujet âgé, la posologie de metformine doit être adaptée à la fonction rénale, et un contrôle régulier de celle-ci est nécessaire. [40]
- **Enfants et adolescents**: La metformine peut être utilisé chez l'enfant de plus de 10 ans et chez l'adolescent en monothérapie ou en association avec l'insuline. [40]

III.6.4. PRECAUTIONS D'EMPLOI, EFFETS INDESIRABLES ET CONTRE-INDICATIONS :

Les précautions d'emploi, les effets indésirables et les contre-indications sont indiqués dans le tableau N°7.

Tableau N°7 : Précautions d'emploi, effets indésirables et contre-indications de la metformine. [21, 40]

<i>Précautions d'emploi</i>	<i>Effets indésirables</i>	<i>Contre-indications</i>
<p>✓ L'acidose lactique :</p> <p>-Chez les diabétiques souffrant d'une insuffisance rénale significative, le risque de l'acidose lactique peut toutefois être considérablement atténué par une surveillance régulière de la fonction rénale et par l'emploi de la dose minimale efficace du médicament.</p> <p>-Son incidence peut et doit être réduite par une évaluation des autres facteurs de risque associés, tels qu'un diabète mal équilibré, l'éthylisme... ainsi que toute affection associée à une hypoxie.</p> <p>✓ Fonction rénale:</p> <p>-la clairance de la créatinine doit être mesurée avant la mise en place du traitement, et contrôlée ensuite régulièrement selon l'état de la fonction rénale.</p> <p>✓ La metformine doit être interrompu 2 jours avant une intervention chirurgicale et tout examen radiographique avec un produit de contraste iodé.</p>	<p>-La metformine n'expose pas au risque d'hypoglycémie, mais peut être responsable d'une l'acidose lactique, complication rare mais redoutable.</p> <p>-Troubles digestifs en début de traitement (nausées, vomissements, diarrhée) qui régressent spontanément dans la plupart des cas.</p> <p>-Une diminution de l'absorption de la vitamine B12 (généralement sans signification clinique).</p> <p>-Un érythème léger a été signalé chez certaines personnes présentant une hypersensibilité.</p> <p>-Un gout métallique est fréquemment observé.</p>	<p>-Hypersensibilité au chlorhydrate de metformine ou à l'un des excipients.</p> <p>-Diabète insulino-dépendant (type 1).</p> <p>-Circonstance augmentant les risques d'acidose lactique :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Insuffisance rénale même modérée. • Complication du diabète: décompensation acidocétosique, coma diabétique, infection, gangrène. • Toute affection susceptible d'entraîner une anoxie tissulaire (insuffisance cardiaque, respiratoire, infarctus myocardique récent) ou d'induire une perturbation métabolique avec acidose (intoxication alcoolique aigue, insuffisance hépatique sévère). • Maladies susceptibles d'altérer la fonction rénale (déshydratation, fièvre, état de choc septicémie, infection urinaire, pneumopathie). • Grossesse et allaitement.

III.7. LES INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES:

Elles sont beaucoup moins nombreuses qu'avec les **sulfonylurées** en raison de l'absence de métabolisation, de fixation protéique et surtout d'effet hypoglycémiant : [16]

- **Déconseillées :**

- **Danazol :** effet diabétogène du Danazol.

Si l'association ne peut être évitée :

- ✦ prévenir le patient et renforcer l'autosurveillance glycémique et urinaire.
- ✦ adapter éventuellement la posologie de l'antidiabétique pendant le traitement par le Danazol et après son arrêt.

- **Alcool :** risque majoré d'acidose lactique lors d'intoxication alcoolique aiguë, particulièrement en cas de jeûne ou de dénutrition, d'insuffisance hépatocellulaire. Éviter la prise de boisson alcoolisées et de médicaments contenant de l'alcool. [40]

- **Produits de contraste iodés :** Survenue éventuelle d'une insuffisance rénale, liée à l'injection intravasculaire de produits de contraste iodés, pouvant entraîner une accumulation de metformine et exposer à un risque augmenté d'acidose lactique. [40]

- **Nécessitant des précautions d'emploi :**

- **Médicaments avec une activité hyperglycémique intrinsèque :** (par exemple, les glucocorticoïdes, et les sympathomimétiques) :

Il peut être nécessaire de prévenir le patient et renforcer l'autosurveillance urinaire et/ou sanguine plus fréquemment la glycémie, spécialement au début du traitement. Ajuster si nécessaire la dose de metformine au cours du traitement en fonction du médicament concerné et lors de l'arrêt de celui-ci. [40]

- ✦ Chlorpromazine: à fortes posologies (100 mg par jour de chlorpromazine), élévation de la glycémie (diminution de la libération d'insuline).

Cette action sur le calcium expliquerait certains effets biologiques dont l'augmentation de l'action de l'insuline sur le foie, étroitement corrélée aux flux ioniques transmembranaires. [9]

III.9. ETUDE TOXICOLOGIQUE :

La metformine n'est pas métabolisée, elle est éliminée par voie rénale sous forme inchangée. Elle peut être quantifiée dans le sang, plasma ou sérum pour surveiller la thérapie, confirmer un diagnostic d'intoxication chez les patients hospitalisés ou aider à une enquête sur la mort médico-légale. [4]

Les concentrations de metformine de sang ou de plasma sont habituellement dans une gamme de **1 à 4 mg/L** chez les personnes recevant les médicaments thérapeutique, **40-120mg/L** chez les victimes d'un surdosage aigu et **80-200 mg/L** dans les accidents mortels. [40]

Les techniques chromatographiques sont couramment employés.

Un examen des surdoses de metformine intentionnelles ou accidentelles a conclu que les événements indésirables graves étaient rares, bien que les patients âgés semblent être plus à risque .Il n'a pas été observé d'hypoglycémie même avec des doses de chlorhydrate de metformine atteignant **85 g**, bien que dans de telles conditions, une acidose lactique soit survenue. [40]

Les facteurs qui favorisent l'apparition d'une acidose lactique sont la présence d'une insuffisance rénale, cardiaque ou hépatique et l'intoxication alcoolique associée.

Le tableau clinique associe :

- **troubles digestifs** : nausées, vomissements, diarrhée, crampes abdominales, épigastalgies et possibilité d'hématémèse ;
- **troubles neurologiques centraux** : agitation, confusion, coma, convulsion, irritation pyramidale et pupilles en mydriase, hyper- ou hypothermie.
- **troubles respiratoires** : polypnée, hypertension artérielle pulmonaire ;

- **troubles cardio-vasculaires** : tachycardie, hypotension, infarctus du myocarde

L'acidose lactique associe une acidose métabolique à trou anionique augmenté avec hyperlactacidémie. L'exploration de cette acidose montrerait une élévation des rapports lactate /pyruvate et hydroxybutyrate/acétoacétate. Le diagnostic rend nécessaire l'exclusion des autres causes d'acidose, notamment l'acidocétose diabétique et les autres causes d'acidose toxique. [4]

Le dosage de la metformine permet de préciser le pronostic et les indications thérapeutiques: les hyperlactatémies avec metforminémie élevée se caractérisent par un meilleur pronostic dû à l'efficacité du traitement par alcalinisation, épuration rénale et extrarénale. [4]

Les acidoses lactiques sans élévation de la metforminémie ont un mauvais pronostic malgré un traitement identique, ces dernières s'apparentant aux acidoses lactiques survenant au cours du diabète à l'occasion d'agressions hypoxémiantes. [4]

L'acidose lactique induite par les biguanides est un accident rare (0,03 cas / 1000 patients et par an). Cependant, le taux de décès au cours des acidoses lactiques induites par les biguanides est important, de l'ordre de 50 %, et ce d'autant plus que le patient est âgé ou présente une affection grave sous-jacente cardiaque, rénale, hépatique ou infectieuse. [4]

- **Traitement :**

Le traitement d'un surdosage de la metformine est généralement favorable car il n'y a pas d'antidote spécifique.

Le traitement est rendu extrêmement difficile par le fait que la metformine possède un grand volume de distribution, n'est pas métabolisée, mais est éliminée sous forme inchangée par voie rénale.

Le traitement est double : toxicodynamique et toxicocinétique.

- **Le traitement toxicodynamique:** fait appel à une alcalinisation massive, aux catécholamines en cas de collapsus et à la ventilation artificielle en cas de coma.
- **Le traitement toxicocinétique:** fait appel à une décontamination digestive précoce en respectant ses contre-indications et à l'épuration extrarénale.

L'intérêt d'une hémodialyse avec un bain au bicarbonate a été souligné au cours du traitement des acidoses lactiques, car elle permet l'élimination des lactates et la possibilité de perfusion de bicarbonates en plus grandes quantités, sans risque d'œdème pulmonaire. Cependant, la capacité de l'hémodialyse à épurer la metformine reste à démontrer. [4]

ETUDE
EXPERIMENTALE

I. IDENTIFICATION ET CONTROLE DE LA MATIERE PREMIERE :

I.1. MATIERE PREMIERE :

La matière première utilisée dans notre travail est une substance active dite : **chlorhydrate de metformine**. Elle est inscrite sous un numéro de lot **M63811**, fabriquée le 21 juin 2011 et à re-tester en 20 juin 2016.

I.2. CARACTERES :

La metformine est caractérisée selon la pharmacopée européenne 7^{ème} édition par :

I.2.1. Caractères organoleptiques :

Nous avons versé une quantité de la matière première dans une boîte de pétri, pour examiner son état physique et sa couleur.

I.2.2. Solubilité :

Le test de solubilité est effectué sur 1g de substance active selon la pharmacopée européenne 7^{ème} édition, et les dilutions sont préparées à l'aide du tableau suivant :

Tableau N° 8: Préparations des dilutions selon le degré de solubilité.

<i>Solubilité</i>	<i>Dilution (ml)</i>
Très soluble	< 1
Facilement soluble	1-10
Soluble	10-30
Assez soluble	30-100
Peu soluble	100-1000
Très peu soluble	1000-10 000
Pratiquement insoluble	> 10 000

- **Réactifs**

- Eau purifiée
- Ethanol 96% Sigma Aldrich
- Méthanol Sigma Aldrich
- Acétone Sigma Aldrich

- **Méthode :**

Nous avons testé la solubilité de notre substance active dans l'eau, l'éthanol, le méthanol et l'acétone.

I.2.3. Mesure du pH :

La mesure du pH d'une solution aqueuse à 1% de metformine à une température bien déterminée.

- **Matériel :**

pH mètre SAVEN EASY

- **Méthode :**

Nous avons préparé une solution aqueuse à 1% de metformine, une quantité de **1g** a été dissoute dans **100ml** de l'eau purifiée. Le pH de la solution ainsi préparée est mesuré à une température de **25°C** par référence à la pharmacopée européenne 7^{ème} édition.

I.3. IDENTIFICATION DE LA MATIERE PREMIERE :

La matière première a été identifiée par rapport à son point de fusion.

Elle a été analysée par des méthodes spectroscopiques et par des procédés chimiques.

I.3.1. Détermination de point de fusion :

- **Principe :** Méthode au tube capillaire

Le point de fusion déterminé par la méthode au tube capillaire correspond à la température à laquelle la dernière particule solide de substance introduite dans un tube de colonne compacte passe à l'état liquide. [27, 28]

- **Matériel :**

Appareil de point de fusion au tube capillaire BuchiMelting PointB.545

- **Méthode :**

Nous avons desséché, sous vide et sur gel de silice anhydre pendant 24h, la substance finement pulvérisée.

Nous avons introduit une quantité suffisante de chlorhydrate de metformine desséchée dans un tube capillaire pour former une colonne d'une hauteur de 4 mm à 6mm.

Nous avons chauffé jusqu'à obtention d'une température d'environ 10°C inférieur au point de fusion présumé et réglé ensuite la vitesse de chauffage à environ 1°C par minute.

Dès qu'une température de 5°C inférieur au point de fusion présumé est atteinte, le tube capillaire a été introduit correctement dans l'appareil.

Enfin, nous avons noté la température à laquelle la dernière particule passe à l'état liquide.

I.3.2. Caractérisation par des méthodes Spectroscopiques :

➤ **Spectrométrie Infrarouge :**

• **Introduction :**

Le spectre infrarouge fournit le plus grand nombre de propriétés caractéristiques d'un composé. Il sert également comme un puissant «*outil analytique*» pour l'étude extensive et intensive de la structure moléculaire.[36]

En fait, les spectres d'absorption infrarouge sont dus à des changements dans l'énergie vibratoire accompagnée par des changements dans l'énergie de rotation. D'une manière générale, la gamme du spectre électromagnétique qui s'étend de **0,8 à 200μ** est dénommé la région infrarouge. [13, 36]

Dans la pratique habituelle, toutefois, que ce soit la longueur d'onde (μ) ou le nombre (**cm⁻¹**) est utilisé pour mesurer la position d'une absorption donnée.[13, 36]

Pour plus faciliter, on partage l'infrarouge en trois domaines : l'infrarouge *proche*, *moyen* et *lointain*. Les limites de chacun de ces domaines sont données au tableau suivant :

Tableau N°9 : Domaine du spectre infrarouge.[36]

<i>Région</i>	<i>Domaine de longueur d'onde/ μm</i>	<i>Domaine de nombre d'onde/ cm^{-1}</i>
Proche	0.78 – 2.5	12800 – 4000
Moyen	2.5 – 50	4000 – 200
Lointain	50 – 1000	200 – 10
Le plus utilisé	2.5 – 15	4000 – 670

- **Analyse de la metformine par IR :**

L'analyse est effectuée sur un spectromètre infra rouge à transformé de Fourier.

- **Le spectromètre à transformé de Fourier :**

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou **FTIR** : Fourier Transformed InfraRed spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau.[35]

- ✓ **Fonctionnement du spectromètre FT-IR :**

Un spectromètre **FT-IR** comporte essentiellement cinq parties (*Figure N°11*) :

- Une source lumineuse (*A*).
- Un dispositif permettant de générer les interférences : *l'interféromètre*.
- Un compartiment échantillon qui permet d'accueillir plusieurs types d'accessoires (*porte-échantillon*) dépendant du mode de mesures utilisé (*réflexion* ou *transmission*).
- Un détecteur ou capteur photosensible : le spectromètre FT-IR peut comporter un ou plusieurs détecteurs, pouvant être de type :
 - ✦ *Pyroélectrique* (générant un courant proportionnel au différentiel de température entre les 2 faces du détecteur) comme les détecteurs *DTGS* (Deuterated Triglycine Sulfate),
 - ✦ *Photoélectrique* (générant une différence de potentiel par l'absorption de photons) comme les détecteurs *MCT* (Mercure Cadmium Tellure) qui sont constitués d'un monocristal en alliage de mercure-cadmium-tellure déposé sur un support inerte.[1]
- Enfin, le convertisseur analogique numérique qui interroge le détecteur à des intervalles réguliers et transforme le signal analogique en un signal numérique manipulable par le système informatique.[1]

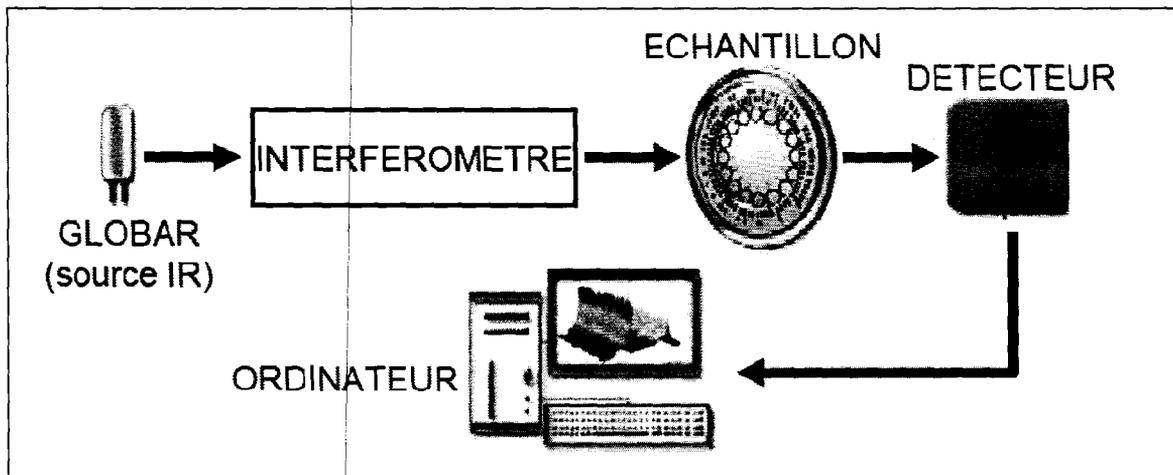


Figure N° 11: Schéma de principe d'un spectromètre FT-IR.

- **Principe :**

L'analyse s'effectue à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier qui envoie sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et mesure les *longueurs* d'onde auxquelles le matériau absorbe et les *intensités* de l'absorption. La *figure N° 11* décrit le Schéma de principe d'un spectromètre FT-IR. [13, 31,36]

Le faisceau infrarouge provenant de la source *A* est dirigé vers l'interféromètre de Michelson qui va moduler chaque longueur d'onde du faisceau à une fréquence différente.

Dans l'interféromètre le faisceau lumineux arrive sur la Séparatrice. La moitié du faisceau est alors dirigée sur le miroir fixe, le reste passe à travers la séparatrice et est dirigé sur le miroir mobile. Quand les deux faisceaux se recombinent, des interférences destructives ou constructives apparaissent en fonction de la position du miroir mobile. Le faisceau modulé est alors réfléchi des deux miroirs vers l'échantillon, où des absorptions interviennent. Le faisceau arrive ensuite sur le détecteur pour être transformé en signal électrique. [13, 31,36]

- **Matériel :**

Spectrophotomètre IR

Perkin Elmer spectrum 100

Pastilleuse

Specac

- **Réactifs :**

KBr anhydre

PAC de Perkin Elmer.

- **Méthode :**

Nous avons broyé 3 mg de metformine avec 300mg de KBr anhydre.

Le mélange est ensuite compressé dans la pastilleuse sous pression de dix tonnes pendant 2 à 3 minutes afin de former la pastille KBr qui doit être fine et translucide.

Enfin, nous l'avons placé dans l'appareil pour effectuer la lecture.

Le spectre de l'échantillon à analyser doit être identique au spectre de référence de metformine HCl.

I.3.3. Réactions des chlorures :

- **Réactifs :**

Acide nitrique dilué	Sigma Aldrich	
Nitrate d'argent	CARLO ERBA	
Ammoniaque		Sigma Aldrich
Eau distillée		

- **Méthode :**

Dans un tube à essai, dissolvez 9mg de metformine chlorhydrate qui correspond à 2 mg environ de chlorures (Cl^-) dans 2ml d'eau R.

Acidifier par acide nitrique dilué et ajouter 0.4 ml de solution de nitrate d'argent. Agiter et laisser reposer, il se forme un précipité blanc caillebotté.

Centrifuger et laver 3 fois avec 1ml d'eau, effectuer cette opération rapidement, à l'abri d'une lumière vive, sans tenir compte de fait que le liquide surnageant ne devient pas parfaitement limpide.

Mettez le précipité en suspension dans 2ml d'eau et ajouter 1.5ml d'ammoniaque.

Le précipité se dissout facilement à l'exception d'éventuelles particules importantes qui se dissolvent lentement.

I.4. LES ESSAIS LIMITES DE LA MATIERE PREMIERE :

I.4.1. Les métaux lourds:

- **Principe de la méthode :**

Les métaux lourds réagissent avec la fonction thiol pour former des sulfures.

La coloration qui en résulte est comparée à un standard. [15]

- **Matériel :**

Agitateur	Vertex
Plaque chauffante	WVR

- **Méthode :**

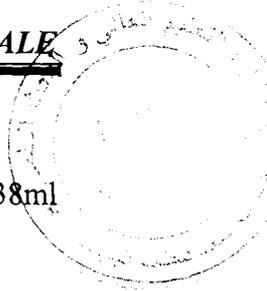
- **Préparation de la solution S :**

Dans une fiole jaugée de 20 ml, verser 2g de metformine HCl exactement pesé et compléter avec de l'eau purifiée jusqu'au traits de jauge. La solution *S* doit être claire et incolore.

- **Préparations des réactifs :**

- **Réactifs :**

Acide chlorhydrique	Sigma Aldrich
Acétate d'ammonium	BiochemChemopharm
Ammoniaque concentré	Fluka
Thioacétamide	CARLO ERBA
Hydroxyde de sodium à 1M	
Glycérol à 85%	Biochem
Nitrate de plomb	CARLO ERBA



✦ Solution tampon pH= 3.5 :

Dissoudre 25g d'acétate d'ammonium *R* dans 25ml d'eau distillée et ajouter 38ml d'acide perchlorique *R*₁.

Ajuster le *pH* si nécessaire, avec l'acide chlorhydrique concentré ou de l'ammoniaque dilué *R*₁ et compléter à 100 ml de l'eau distillée.

* Acide chlorhydrique *R*₁ :

Peser 70g d'acide chlorhydrique concentré et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.

* Acide chlorhydrique dilué *R* :

Peser 20g d'acide chlorhydrique concentré et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.

* Ammoniaque diluée *R*₁ :

Prélever 41ml d'ammoniaque concentré et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.

✦ Thioacétamide *R* :

La préparation du réactif au thioacétamide 40g/l.

* Préparation du réactif au thioacétamide :

A 0.2 ml de solution de thioacétamide, ajouter 1 ml d'un mélange de 5ml d'eau distillée, de 15 ml d'hydroxyde de sodium *1M* et de 20ml de glycérol à 85%.

Chauffer dans un bain de marie pendant 20 secondes.

✦ Solution à 1 ppm de Plomb :

Il faut d'abord préparer la solution mère à 0.1 % de plomb puis faire des dilutions comme suit :

*solution à 0.1% de plomb (Pb) :

Dissoudre dans l'eau distillée une quantité de nitrate de plomb correspondant à 0.4g de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$.

Compléter à 250 ml avec le même solvant.

*solution à 100 ppm de plomb (Pb) :

Diluer la solution à 0.1% de plomb au 1/10 avec de l'eau distillée immédiatement avant l'emploi.

*solution à 10 ppm de plomb (Pb) :

Diluer la solution à 100 ppm de plomb au 1/10 avec de l'eau distillée immédiatement avant l'emploi.

*solution à 2 ppm de plomb (Pb) :

Diluer la solution à 10 ppm de plomb au 1/5 avec de l'eau distillée immédiatement avant l'emploi.

✦ **Technique (Test limite A) :**

Nous avons choisie test limite A pour effectuer le test des métaux lourd qui est inscrit à la pharmacopée européenne 7^{ème} édition.

* La solution d'essai :

Dans un tube à essai, verser 12ml de la solution S qui contient la substance à examiner (metformineHCl).

* La solution de référence :

Dans un tube à essai, préparer un mélange de 10 ml de solution étalon de plomb (2 ppm) et 2ml de la solution S préalablement préparé.

* La solution blanc :

Dans un tube à essai, préparer un mélange de 10ml d'eau et 2ml de la solution S.

Pour chaque solution, ajouter 2 ml de solution tampon *pH 3.5* ; mélanger et ajouter ensuite 1.2 ml de réactif thioacétamide.

Examiner les solutions après 2 min.

- Comparaison des colorations :

Comparer la coloration des 3 tubes à essai en vision verticale à la lumière du jour.

La solution échantillon ne doit pas être plus sombre que la solution comparative.

La solution de contrôle ne doit pas être plus claire que la solution comparative

Le test est *invalide* si la solution de référence ne montre pas une couleur légèrement brune par rapport à la solution blanc.

La solution à examiner *satisfait* à l'essai si une couleur brune à la solution essai n'est pas intense que celle de la solution de référence.

- Résultats :

Les conditions décrites dans la comparaison sont obtenues si la teneur en métaux lourds est inférieure à 10 mg/l exprimée en plomb et avec une précision de 1 mg/l.

I.4.2. Les cendres sulfuriques :

Les cendres sulfuriques résultent de la calcination au contact de l'air après attaque par l'acide sulfurique.

- Matériel :

Four à moufle Nabertherm More Than HEAT 30-3000°C.

- **Réactifs :**

Acidesulfurique 98% CARLO ERBA.

- **Méthode :**

- Porter au rouge un creuset de silice ou de platine de forme basse pendant 1h afin d'éliminer les traces d'humidité ; laisser refroidir dans un dessiccateur à vide.
- Tarer le creuset, placer la prise d'essai de 1g de metformine HCl exactement pesée dans le creuset.
- Sur plaque chauffante, mouiller la PE avec la quantité suffisante d'acide sulfurique (R) concentré préalablement dilué par un égal volume d'eau pour calciner le substance à examiner où on aura des vapeurs blanches résultantes de la calcination par le H_2SO_4 .
- Chauffer jusqu'à évaporation à sec, puis au four à moufle, d'abord avec précaution puis jusqu'au rouge sans dépasser la température de $600\text{ }^\circ\text{C} \pm 25\text{ }^\circ\text{C}$.
- Maintenir la calcination jusqu'à disparition des particules noires, laisser refroidir, ajouter au résidu 5 gouttes d'acide sulfurique dilué au demi, puis évaporer et calciner comme précédemment jusqu'à poids constant.
- Peser après refroidissement dans le dessiccateur.
- Calculer le taux des cendres sulfuriques en les rapportant à 100 g de substance.

- **Calculs :**

Le calcul des cendres sulfuriques se fait par l'équation suivante :

$$\text{Cendres sulfuriques (\%)} = \frac{\text{P creuset remplis} - \text{P creuset vide}}{\text{PE}} \times 100$$

Norme : Taux des cendres sulfuriques n'est pas supérieur à 0.1 %.

I.4.3. Perte à la dessiccation :

- **Principe :**

La perte à la dessiccation est la perte de masse exprimée en pourcentage *m/m*.

Cet essai permet de déterminer la proportion de tous les produits volatils susceptibles d'être éliminés dans des conditions spécifiques :

- Eau (le plus souvent) ;
- Eau « d'humidité de proportions variables » ;
- Eau d'hydratation ;
- Solvants organiques.

- **Matériel :**

Balance dessiccateur

CAS

- **Méthode :**

5g de metformineHCl a été placé dans le plateau de la balance dessiccateur et chauffé à température entre 100 – 105 °C pendant quelques minutes.

La substance a été pesée après la dessiccation.

- **Expression de résultat :**

La valeur de la perte à la dessiccation est calculée par la formule suivante:

$$\text{Perte à la dessiccation (\%)} = \frac{VV-VA}{PE} \times 100$$

Avec:

VV: Poids du verre de montre ou plateau (*vide + échantillon*) avant dessiccation, (**g**) ;

VA: Poids du verre de montre ou plateau (*vide + échantillon*) après dessiccation, (**g**);

PE: Prise d'essai, (**g**).

Limites d'acceptabilité: la valeur de la perte à la dessiccation ne doit pas être supérieure à 0.5%.

I.5. DETERMINATION DU TITRE DE LA METFORMINE PAR POTENTIOMETRIE :

- **Principe :**

La potentiométrie est une méthode électrochimique fondée sur la tension électrique entre deux électrodes (*électrode indicatrice* de mesure et *électrode de comparaison* ou de *référence*).[13, 36]

Au cours d'un titrage potentiométrique le point de fin titrage est déterminé suivant la variation de la différence de potentiel mesuré entre les deux électrodes plongeantes dans la solution à examiner, en fonction de la quantité de réactif titrant ajoutée.

La mesure du potentiel est habituellement effectuée en maintenant le courant nul ou partiellement nul.[13, 36]

Le choix de l'électrode indicatrice se fait en fonction de la nature des composés à doser : électrode indicatrice de verre ou électrode métallique (platine, or, argent, mercure...), l'électrode de référence est généralement une électrode au calomel ou en argent chlorure d'argent.[13, 36]

- **Matériel :**

Potentiomètre Titrimo plus 848.

- **Réactifs :**

Acide formique anhydre R

Riedel de Haen

Anhydride acétique R

Flucka

Acide perchlorique 65%

CARLO ERBA

- Méthode :

Dissolvez **60.0** mg de chlorhydrate de metformine dans **4** ml d'acide formique

Anhydre R. Ajoutez 50 ml d'anhydride acétique R.

Utilisant un acide perchlorique **0.1M** de titre **1**, titrez **20ml** de l'échantillon précédemment préparé par potentiométrie.

- Calculs :

Le chlorhydrate de metformine contient au minimum **98.5%** et au maximum l'équivalent de **101.0%** de chlorhydrate de 1.1-diméthylbiguanide, calculé par rapport à la substance desséchée. Le calcul se fait par la formule suivante :

$$X(\%) = \frac{Vt \times T \times Eeq}{PE} \times 100$$

Avec:

Vt : Volume de l'acide perchlorique **0.1 M** ;(ml).

T : Titre de l'acide perchlorique **0.1 M** et est égale à **1**.

Eeq : Equivalent de 1ml d'acide perchlorique qui correspond à **8.28mg** de $C_4H_{12}ClN_5$

PE : Concentration de l'échantillon à analyser ; (mg/ml).

II. CONTRÔLE PHYSICO-CHIMIQUE DU PRODUIT FINI :

Notre étude est effectuée sur le **GLUCOPHAGE** produit fini, comprimé dosé à **500mg**.

II.1 Caractère organoleptiques:

Nous avons observé le comprimé du **GLUCOPHAGE** et nous avons fait une description de sa forme et de sa couleur.

II.2. Dureté :

Cet essai est destiné à déterminer, dans des conditions définies, la résistance à la rupture des comprimés, mesurée par la force nécessaire pour provoquer leur rupture par écrasement.

La mesure est effectuée sur 10 comprimés, elle est déterminée par un duromètre.

II.3. Masse moyenne (MM) :

Nous avons prélevé 20 comprimés et nous les avons pesé un par un pour déterminer la **MM** à l'aide d'une balance.

MM : doit être comprise entre **(502.6 – 555.5) mg** selon la pharmacopée britannique 2008.

II.4. Uniformité de masse:

Le principe consiste à peser 20 comprimés indépendamment puis effectuer des calculs statistiques afin d'évaluer la variation de masse d'un comprimé à un autre.

Cet essai est réalisé selon la méthode décrite dans la monographie de la pharmacopée européenne 7^{ème} édition en vigueur.

II.5. Temps de désagrégation: (ou délitement):

- **Principe :**

Cet essai est destiné à déterminer l'aptitude des comprimés à se désagréger en milieu liquide et dans des conditions expérimentales bien définies.

La désintégration n'implique pas une dissolution complète de l'unité soumise à l'essai ni même de son composant actif.

La désagrégation est complète lorsqu'il ne subsiste aucun résidu sur la grille à l'exception des fragments insolubles de l'enrobage et s'il reste un résidu il ne doit pas contenir un noyau palpable.

- **Matériel :**

Deli- test Electrolab

- **Mode opératoire :**

Le test s'effectue sur 6 unités (01 unité par tube). Il consiste à enregistrer le temps de désagrégation des comprimés suite à des mouvements physiques oscillatoires réalisés par l'appareil de délitement.

- **Lecture :**

Le produit est conforme : si les 6 unités sont désagrégées pendant un temps limite de l'analyse inférieur à 20 mn.

II.6. Dissolution in vitro:

- **Principe:**

Pour traverser les membranes biologiques ou pour être absorbé le principe actif doit être dispersé à l'état moléculaire en milieu aqueux au site d'absorption. Cette mise en solution constitue l'étape de la dissolution qui est préalable à l'étape de l'absorption.

La dissolution in vitro est une estimation de la libération du principe actif de sa forme galénique dans le tractus digestif. (OMS)

- **Intérêt:**

- **En pré-formulation:** Connaître la solubilité du PA.
- **En développement:** Aide à l'optimisation de la formule et du processus de fabrication.
- **En contrôle de routine:** Assure la qualité et les performances des produits pharmaceutiques (reproductibilité inter lot)
- **Etude d'équivalence in vitro:** Comparaison des profils de dissolution entre princeps et générique.

- **Matériel :**

DissolutestTDF 8L Electrolab

Appareil type I : panier.

- **Réactifs :**

- Potassium déshydrogéné-phosphate CARLO ERBA
- Hydroxyde de sodium CARLO ERBA
- Metformine HCl Merck SERNO
- Eau purifiée.

- **Conditions de dissolution :**

Vitesse de rotation	100 tours/ min
Temps de prélèvement	45 min
Température de bain	37 °C
Milieu de dissolution	Solution tampon phosphate <i>pH6,8</i>

- **Méthode:**

- Préparation du milieu de dissolution :

Nous avons mélangé une quantité de 204 g de KH_2PO_4 et 26.3 g de NaOH exactement pesées dans 30l de l'eau purifiée. Le pH de la solution ainsi préparé a été ajusté à 6.8.

- Mode opératoire :

Nous avons placé les cuves dans un bain marie à température constante, chacune des cuves contient 1l de milieu de dissolution.

Le comprimé a été placé dans un panier.

Après écoulement du temps nécessaire pour la dissolution, les seringues ont été placées dans chaque cuve pour l'aspiration d'une quantité précise de la solution.

- Préparation de la solution témoin (Standard) :

Dans une fiole jaugée de 500 ml, dissoudre 250mg de metformine HCl exactement pesé et compléter au volume à l'aide du milieu de dissolution.

- Préparations des dilutions :

- ✦ Dilution de Standard :

Dans une fiole jaugée de 100ml, ajouter 1ml de standard préparé précédemment et compléter au volume à l'aide de milieu de dissolution.

- ✦ Dilution des solutions aspirées :

Dans des fioles jaugées de 100 ml étiquetées de 1 à 6, ajouter dans chaque fiole 1ml de solution aspirée correspondante et compléter au volume à l'aide de milieu de dissolution.

- **Lecture :**

La lecture des résultats se fait par spectrophotomètre **UV-Visible** à une longueur d'onde $\lambda = 218$ nm.

• **Calcul de pourcentage de dissolution :**

Le pourcentage de dissolution de chaque comprimé est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ dissolution} = \frac{A_{\text{Ech}}}{A_{\text{Std}}} \times P_{\text{Std}} \times \frac{\text{Volume de bol}}{\text{Volume de Std}} \times \frac{\text{dilution}}{\text{dosage}}$$

Avec :

A_{Ech} : absorbance de l'échantillon.

A_{Std} : absorbance de standard.

P_{Std} : prise d'essai de standard.

• **Interprétation des résultats:**

Sauf indication contraire, les exigences de l'essai sont **satisfaites** si les quantités de substance active passée en solution sont conformes aux critères du tableau suivant :

**Tableau N° 10 : Critères d'acceptation de la dissolution des comprimés à libération
Conventionnelle**

Niveau	Nombre examinées	d'unités	Critères d'acceptation
S ₁	6		Aucune unité n'est inférieure à Q+5%.
S ₂	6		La moyenne des 12 unités (S ₁ + S ₂) est égale ou supérieure à Q et aucune unité n'est inférieure à Q-15%.
S ₃	12		La moyenne des 24 unités (S ₁ + S ₂ + S ₃) est égale ou supérieure à Q, au maximum 2 unités peuvent être inférieure à Q-15% et aucune unité n'est inférieure à Q-25%.

II.7. Identification et Dosage de la metformine dans le produit fini :

II.7.1. Identification par spectrophotométrie infrarouge :

Nous avons identifié la metformine dans le produit fini par un spectromètre infra rouge à transformée de Fourier dont le principe et la procédure sont les mêmes que pour la matière première.

II.7.2. Dosage de la metformine dans le produit fini par spectrophotomètre UV. Visible:

Nous avons dosé la metformine dans le produit fini **GLUCOPHAGE** comprimés à 500mg par analyse spectrométrique *UV-Visible* dont le principe est détaillé ci-dessous :

- **Principe :**

L'analyse spectrophotométrie est fondée sur l'étude de changement d'absorption de la lumière par un milieu, en fonction de la variation de la concentration d'un constituant. [3]

On détermine la concentration d'une substance en mesurant l'absorption relative de la lumière par rapport à celle d'une substance de concentration connue. On utilise une lumière sensiblement monochromatique. [3]

À une longueur d'onde où la molécule absorbe, il existe une loi simple entre quantité de rayonnement transmis par le milieu et concentration des molécules qui absorbent.

Le domaine d'absorption : λ varie de 190 à 800 nm, ce qui correspond à l'ultraviolet (190-400 nm) et au visible (400-800 nm).

Loi de Beer-Lambert :

Le spectre compare un faisceau monochromatique de longueur d'onde donnée λ passant au travers de la solution à étudier, et un autre faisceau de même longueur d'onde et de même intensité initiale passant au travers d'une cuve ne contenant que le solvant utilisé. Soit I l'intensité du premier et I_0 celle du second.

On définit la densité optique de la solution à étudier par: $D = \log (I_0 / I)$, qui est toujours positive.

La densité optique D est proportionnelle à la longueur de la cuve et à la concentration molaire volumique du composé.

Le coefficient de proportionnalité s'appelle le coefficient d'extinction molaire ξ :

$$D = \xi \cdot l (cm) \cdot C (g/l) [20]$$

• **Matériel :**

Spectrophotomètre UV. Visible Perkin Elmer lambda 25

• **Méthode :**

Nous avons broyé 20 comprimés.

Dans 100ml d'eau purifiée, nous avons dissout 0,1g du broyat, à partir de la solution ainsi préparée nous avons effectué une dilution de 10^{-2} par le même solvant.

A l'aide d'un spectrophotomètre *UV-VISIBLE* l'absorbance a été mesurée à la longueur d'onde $\lambda = 232\text{nm}$ en prenant comme blanc l'eau purifiée.

• **Calcul :**

La teneur en *METFORMINE* est calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Met (mg)} = \frac{\frac{DO \text{ essai}}{DO \text{ spec}}}{P \text{ essai} \times \text{dilution}} \times \frac{MM}{100} \times \frac{\text{Pureté}}{100}$$

Avec :

DO essai : Densité optique de l'échantillon.

DO spec : Densité optique spécifique qui est(798).

Pureté de Metformine : 99,8%

MM : Masse moyenne.

II.8. Dosage des substances apparentées :

La technique utilisée dans notre étude est la chromatographie liquide haute performance « *HPLC* ».

- **Principe:**

L'échantillon à analyser est poussé par la phase mobile dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de granulométrie fine et régulière (quelques micromètres). Ceci présente l'avantage d'accroître la surface d'échange offerte par un même poids de phase et d'améliorer la résolution. Parallèlement, l'existence de pompes, capable de distribuer la phase mobile sous pression élevée vers la colonne, a permis d'augmenter les vitesses d'élution et de limiter les temps d'analyse.

La combinaison de ces attributs - rapidité et résolution élevées - conduit à l'appellation « *haute performance* », « *haute pression* » ou « *grande vitesse* ». [20]

• **Appareillage et fonctionnement:**

Représenté schématiquement dans la **figure N°12**, il comprend essentiellement: un ou plusieurs *réservoirs* de phase mobile; une *pompe*; un système d'introduction des échantillons; une colonne; un système de détection et d'enregistrement.

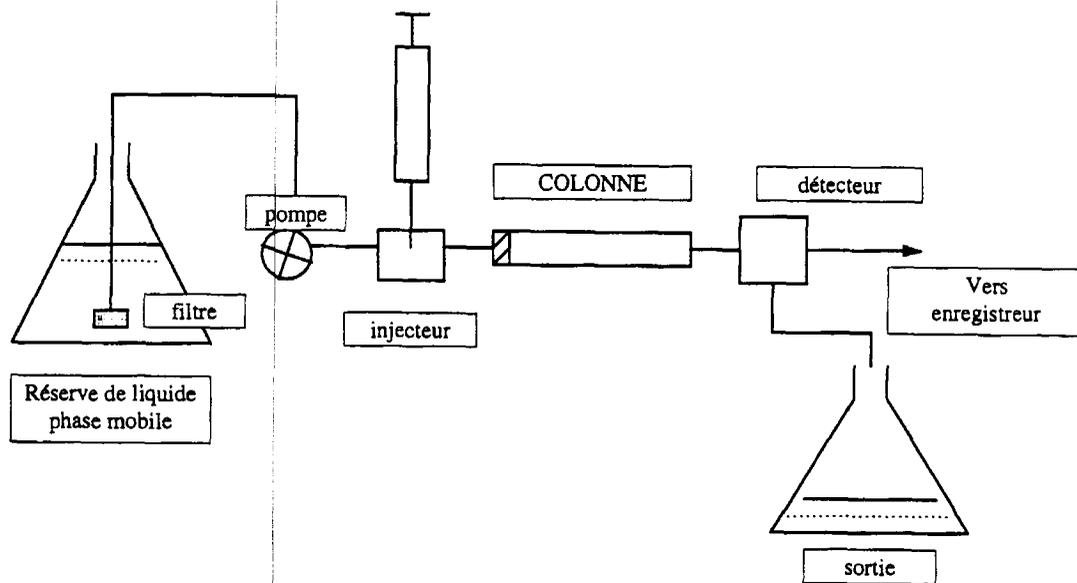


Figure N°12 :Principe de fonctionnement d'HPLC.

• **Réservoirs de phase mobile :**

Des vases closes d'un ou de deux litres équipent, en général, les appareils les plus courants. Ces réservoirs sont étanches afin d'éviter l'évaporation des solvants ou leur contamination par la vapeur d'eau de l'atmosphère. Ils sont généralement équipés de dispositifs (barbotage d'azote ou agitation magnétique) qui ont pour but de chasser les gaz dissous et en particulier l'oxygène. Ce gaz en effet moins solubles aux fortes pressions, formerait des bulles qui perturberaient la régularité de la chromatographie et des systèmes de détection. [20]

• Pompes et gradients d'élution :

La pompe pour un chromatogramme a pour rôle de provoquer dans la colonne un écoulement de la phase mobile compatible avec la séparation chromatographique.

Ces pompes doivent être très puissantes car la viscosité des solvants et les très fines granulométries des phases stationnaires entraînent une différence de pression ou perte de charge, entre le sommet et l'extrémité des colonnes qui peut parfois être importante (50 ou 100 bars).[20]

On utilise des pompes conçues pour maintenir un débit non pulsé et stable, même si la composition de la phase mobile varie. Ces pompes débimétriques comportent généralement deux pistons en série fonctionnant en opposition pour éviter les interruptions de débit dues au remplissage du cylindre.

Pour parfaire la régulation du débit, on intercale entre la pompe et l'injecteur un amortisseur de pulsations. [32]

✦ Gradient d'élution :

La pompe peut être programmée selon deux modes :

- a- *Un mode isocratique*, dans lequel la phase mobile conserve la même composition qualitative et quantitative (par conséquent le même pouvoir éluant) tout au long de l'analyse.
- b- *Un mode gradient*, qu'il s'agisse d'un gradient de polarité, de pH ou de force ionique ; la phase mobile (qualitativement identique) subit des modifications dans les proportions volumiques à intervalles de temps bien déterminés.

Il existe deux modalités d'application :

1-Gradient haute pression : Dans le cas où il y a autant de pompes que de solvants constituant la phase mobile. Les éluants sont mélangés après avoir été montés en pression.

2-Gradient basse pression : Dans le cas où il y n'a qu'une seule pompe et plusieurs solvants. C'est une électrovanne multivoie qui permet la réalisation du gradient en mélangeant les différents éluants avant la montée de pression.[10, 20]

• **Injecteurs :**

Les procédés utilisés dépendent des volumes de solutions et des pressions auxquelles s'effectuent les séparations. Ils peuvent être regroupés en deux catégories : procédés par injection et procédés par boucles.

✦ Procédés par injection directe :

Lorsque les quantités sont peu importantes et les pressions inférieures à 150 bars, il est possible d'introduire l'échantillon directement à l'aide d'une microseringue. Son aiguille traverse un septum, membrane en élastomère, et arrive directement au sommet de la colonne (injecteur à dépôt direct) ou dans une chambre de mélange dans laquelle circule la phase mobile qui l'entraîne sur la colonne (injection à entraînement).

✦ Procédés par boucles :

Ils permettent l'injection de volumes variables allant du microlitre au millilitre et peuvent fonctionner sous de fortes pressions.

L'échantillon est introduit à la pression ordinaire dans une boucle, petit volume tubulaire, qui peut être mis en communication par un système de vannes avec le réservoir de la phase mobile et avec la colonne. (Figure N°13).

Ce système évite les brusques variations de pression dans l'appareil et, en diminuant les irrégularités des injections, augmente la reproductibilité, la quantité introduite étant obligatoirement celle du volume de la boucle.[20]

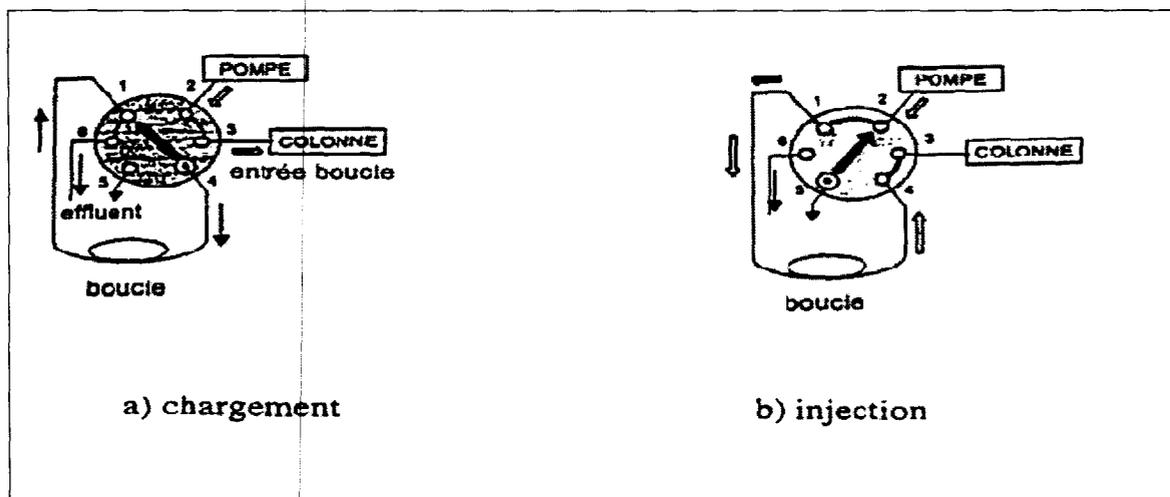


Figure N° 13 : Schéma d'un injecteur à boucle.

- **Colonne:**

Les colonnes utilisées en *HPLC* se caractérisent par leur géométrie et par la nature des phases qu'elles contiennent. Elles sont remplies par la phase stationnaire qui est parcourue par la phase mobile.

La colonne contenant la phase stationnaire est parcourue par la phase mobile.

- ✦ **La phase stationnaire :** Elle est essentiellement formée par des fines particules solides plus ou moins sphériques à la surface desquelles se feront les échanges.
- ✦ **La phase mobile :** Le choix de la phase mobile en dehors des considérations relatives à leur pouvoir d'éluion est guidé par un certain nombre de contraintes pratiques imposées par leur comportement vis-à-vis des solutés à chromatographier, des phases stationnaires et de l'appareillage utilisé. [20]

- **Détecteur :**

Quel qu'il soit, le détecteur doit réunir un certain nombre de qualités :

- Donner pour chaque composé détecté une réponse proportionnelle à sa concentration instantanée ;
- Etre sensible et avoir peu de bruit de fond ;
- Etre stable dans le temps.

Les modes de détection les plus courants reposent sur les propriétés optiques des composés : absorption, fluorescence et indice de réfraction.

Il y'a trois détecteurs d'usage courant :

- ✦ **Détecteur spectrophotométrique :**

Mesure l'absorbance du soluté à une ou plusieurs longueurs d'onde dans l'UV ou le visible.

✦ **Détecteur spectrofluorimétrique :**

Mesure l'énergie de fluorescence d'un soluté excité par une radiation monochromatique autant que possible. La mesure de la lumière émise est faite dans un plan perpendiculaire à la direction du faisceau incident.

✦ **Détecteur réfractométrique :**

Mesure de manière continue la différence d'indice de réfraction entre l'effluent (phase mobile +soluté) et la phase mobile circulant respectivement dans la cellule de mesure et la cellule de référence.[27, 30, 42]

• **Enregistreur :**

En intégrant les données du détecteur, l'enregistreur permet le suivi permanent de la séparation à travers un chromatogramme.

La ligne de base représente la phase mobile, chaque pic représente un soluté séparé.

Dans les conditions chromatographiques données « *le temps de rétention* », temps au bout duquel un composé est élué de la colonne et détecté, caractérise qualitativement une substance.

L'amplitude d'un pic ou encore l'aire limité par le pic et la prolongation de la ligne de base permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté.[27, 30, 42]

****Grandeurs fondamentales :**

La distribution thermodynamique d'un soluté entre la phase stationnaire et la phase mobile est supposée être régulière et indépendante des quantités des substances présentes.

L'équation générale est de forme linéaire : $C_S = K_D C_M$.

C_S, C_M : expriment respectivement les concentrations du soluté à l'équilibre dans les phases stationnaire et mobile.

K_D : le coefficient de distribution(ou de partage) d'une substance entre la phase mobile et la phase stationnaire.

• **Grandeurs de rétention:**

Plusieurs paramètres permettent de rendre compte de la rétention d'un soluté sur une colonne :

- **Temps de rétention (T_r):** le temps écoulé entre l'introduction du soluté dans la colonne et le moment où il en sort à la concentration maximale.
- **Volume de rétention (V_r):** le volume de phase mobile nécessaire pour amener la substance à sa concentration maximale.

Si D est le débit, maintenu constant, de la phase mobile, on définit le volume de rétention:

$$V_r = T_r \cdot D$$

• **Efficacité d'une colonne :**

Le nombre de plateaux théoriques permet de comparer entre elles les caractéristiques des différentes colonnes à condition bien entendu que la phase stationnaire, la substance étudiée et les conditions chromatographiques soient identiques. L'efficacité d'une colonne est d'autant plus grande que le nombre de plateaux est lui-même plus important :

$$N \approx 16 \cdot (T_r / \omega)^2 = 5,54 \cdot (T_r / \delta)^2$$

ω : largeur du pic à la base ;

δ : largeur du pic à mi-hauteur.

À partir de nombre de plateaux peut être calculé la hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT ou H), qui permet de comparer des colonnes de longueurs différentes :

$$H = L/N$$

Avec L : longueur de la colonne.

- **Facteur de sélectivité : (α_s)**

Il dépend essentiellement de la différence existant entre les coefficients de distribution, exprimant l'affinité des substances vis-à-vis des phases. Ce facteur est utilisé pour caractériser la distance séparant les sommets de deux pics consécutifs **1** et **2**, il est défini

par le rapport :
$$\alpha_s = \frac{Tr_2 - T_0}{Tr_1 - T_0}$$

Tr_1 et Tr_2 correspondent aux temps de rétention des composés **1** et **2** respectivement ;

T_0 correspond au temps de rétention nul.

- **Résolution : (R_s)**

C'est l'aptitude que possède un système chromatographique à séparer les constituants d'un mélange.

Elle est définie par la relation :

$$R_s = 2. \frac{Tr_2 - Tr_1}{\omega_2 - \omega_1}$$

ω_1 et ω_2 , étant les largeurs des pics à la base. [11, 20, 32, 33]

➤ **Dosage pratique des substances apparentées:**

- **Equipement et petits matériels :**

- Appareil chromatographie liquide haute performance de marque Perkin Elmer muni de :
 - ✦ pompe Perkin Elmer
 - ✦ injecteur Perkin Elmer
 - ✦ détecteur UV Perkin Elmer
- Colonne DiscoveryHS : C₈ de dimension (250 mm × 4.8 mm × 5μ).

✦ **Réactifs :**

Phosphate ammonium monobasique Sigma Aldrich

Acide phosphorique Merck

Méthanol Sigma Aldrich

✦ **Méthodes :**

• **Préparation de solutions :**

✦ ***Solution tampon :***

Dissoudre 51,75g de phosphate ammonium monobasique dans 3000 ml d'eau distillée et ajuster au pH 3 avec l'acide phosphorique.

✦ ***Phase mobile :***

Mélangez 60 volumes de solution tampon avec 40 volumes de méthanol.

Une fois cette solution est préparée un passage aux ultrasons est nécessaire.

✦ ***Standard metformine :***

Dissoudre 500mg de metformine dans 100 ml de la phase mobile. Prélever 1ml de cette solution dans 50ml du même solvant.

Prélever 1 ml de cette dernière solution dans 20 ml du même solvant.

✦ ***Standard des impuretés:***

Pour chaque impureté, dissoudre 20 mg dans 200 ml d'eau purifiée.

Prélever 10ml de cette solution et compléter à 100 ml avec la phase mobile.

✦ ***Mixture de standard :***

Mélanger des volumes égaux (5ml) de chaque standard d'impureté et de standard de metformine.

✦ ***Solution à examiner:***

Dissoudre 530mg de poudre de Glucophage dans 100ml de la phase mobile.

✦ Conditions chromatographiques:

- * Débit de la phase mobile: 1ml/min.
- * Température: ambiante.
- * Volume d'injection: 20 µl.
- * Colonne : C8 : 250 mm × 4.8 mm × 5µ.

✦ Mode opératoire :

Un volume égal (environ 1ml)de mixture de standards et de solution à examiner est injecté séparément dans le chromatographe, des chromatogrammes sont enregistrés et les réponses des pics principaux sont mesurées.

✦ Calcul de la teneur en impureté :

Il existe 4 impuretés pour la metformine :

- * *L'impureté A:* Cyanoguanidine.
- * *L'impureté B:* Guanyl mélamine.
- * *L'impureté D:* Mélamine.
- * *L'impureté E:* Mono méthyl biguanide.

La teneur pour cent «*P*» de chaque impureté de la metformine chlorhydrate dans la solution à examiner est calculée à l'aide de la formule suivante :

Pour l'impureté A :

$$P = \frac{SEch(M)}{SStd} \times \frac{PStd}{PEch} \times 0,5 \times \frac{MM}{dosage}$$

Pour les impuretés B, D, E :

$$P = \frac{SEch(M)}{SStd} \times \frac{PStd}{PEch} \times 0,1 \times \frac{MM}{dosage}$$

Avec :

S Ech(M) : moyenne de surface de pic de chaque impureté obtenue avec la solution à examiner.

S Std : surface de pic de metformine HCl standard obtenue avec la solution témoin.

P Ech : poids de l'échantillon à examiner.

P Std : poids de standard.

✦ **Calcul de la teneur totale des impuretés:**

La teneur totale pour cent « P_T » des impuretés de la metformine chlorhydrate dans la solution à examiner est calculée à l'aide de la formule suivante:

$$P_T = \sum P_i$$

Ou :

P_i : la teneur de chaque impureté de la metformine chlorhydrate.

Critères d'acceptabilité :

La teneur de l'impureté A n'est pas supérieure à **0,02%**.

La teneur de chaque impureté (B, D, E) n'est pas supérieure à **0,1%**.

La teneur totale des impuretés ne dépasse pas **0,5%**.

III. CONTRÔLE MICROBIOLOGIQUE DU PRODUIT FINI :

La qualité microbiologique des produits pharmaceutiques, constitue un élément déterminant dans l'acceptabilité ou non d'un produit, compte tenu de l'absence, de la présence, du nombre de certains microorganismes et/ou de la qualité de leur toxines. (1994).[25]

La présence de certains microorganismes dans des préparations non stériles peut réduire voir annuler l'activité thérapeutique du produit, et constitue un danger potentiel pour la santé du patient. Les fabricants sont donc tenus d'assurer une faible charge microbienne dans les formes pharmaceutiques finis, par la mise en œuvre des textes en vigueur sur les bonnes pratiques de fabrication, de la conservation et de la distribution des préparations pharmaceutiques. [28]

Le tableau suivant donne des critères d'acceptation applicables aux produits pharmaceutiques non stériles sur la base du dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) et du dénombrement des moisissures / levures totales (DMLT). [28]

Ces critères d'acceptation reposent sur des résultats moyens lorsque l'on effectue plusieurs dénombrements (réplicas). [28]

Tableau N°11: Critères d'acceptation de la qualité microbiologique des formes pharmaceutiques non stériles.

<i>Voie d'administration</i>	<i>DGAT (UFC/g ou UFC/ml)</i>	<i>DMLT (UFC/g ou UFC/ml)</i>	<i>Microorganismes Spécifiés</i>
Voie orale : préparations non aqueuses	10 ³	10 ²	Absence d'Escherichia coli (1g ou 1 ml)

Afin d'apprécier la qualité microbiologique de la metformine chlorhydrate : un contrôle microbiologique est effectué sur le produit fini.

Le contrôle microbiologique à porter sur la recherche des germes suivants :

- **Dénombrement des germes viables totaux :**

- **But :** Le dénombrement des germes viables totaux sert à évaluer le nombre de microorganismes contaminant.

- **Principe :**

Le dénombrement est réalisé sur le milieu Trypticase Soja Agar (*TSA*) qui permet le développement de toutes les bactéries qui peuvent se multiplier dans un intervalle de température de 30-35 °C.

Le dénombrement des levures et moisissures est effectués sur un milieu sélectif qui permet seulement le développement des levures et moisissures à une température de 20-25°C par l'inhibition des bactéries sous l'action de l'antibiotique (Chloramphénicol) : Milieu Gélose Sabouraud Chloramphénicol (*SCA*).

- **Mode opératoire :**

- ✦ **Préparations des échantillons :**

- ✦ **L'échantillon 1 :** (dilution 10^{-1})

Dans 90 ml du milieu eau peptonnée tamponnée, introduire 10g de l'échantillon à contrôler (Glucophage 500 mg exactement pesée).

- ✦ **L'échantillon 2 :** (dilution 10^{-2})

Dans un tube à essai contient 9ml du milieu eau peptonnée tamponnée, ajouter 1 ml de l'échantillon 1 (dilution 10^{-1}).

- ✦ **L'échantillon 3 :** (dilution 10^{-3})

Ajouter 1 ml de l'échantillon 2 (dilution 10^{-2}) à 9ml du milieu eau peptonnée tamponnée contenu dans un tube à essai.

✦ **Recherche des germes aérobies viables totaux :**

Utiliser deux boîtes de Pétri par milieu dans chaque dilution.

Prélever 1ml de chaque dilution préparé, introduire pour chaque dilution dans 4 boîtes de Pétri.

Rajouter 15-20 ml du milieu gélosé *TSA* adapté à la recherche des bactéries pour

2 boîtes de pétri pour chaque dilution et le milieu *SCA* pour le dénombrement des levures et moisissures pour les 2 boîtes restantes pour chaque dilution.

Les milieux gélosé sont déjà liquéfiés et refroidis à 45°C.

Laisser les boîtes se solidifier à température ambiante.

Incuber les boîtes du milieu *TSA* à 30-35°C pendant 3 jours et les boîtes du milieu *SCA* à 20-25 °C pendant 5 jours.

• **Lecture :**

Le dénombrement des bactéries, levures et moisissures se fait par la formule suivante :

$$N^{\circ} \text{ d'UFC} = \frac{X}{2} \times \frac{1}{V} \times \frac{1}{d}$$

X/2 = Le nombre moyen de colonies compter dans la boîte 1 et 2.

V = Volumeensemencés 1ml.

d = Dilution (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³).

- **Recherche des germes spécifiés :**

- **RECHERCHE D'ESCHERICHIA COLI**

Prélever 10 ml de la dernière dilution préparée, introduire dans 100 ml du milieu liquide *TSB*, homogénéiser et incuber à 35-37 °C pendant 18-48 h.

Agiter le récipient ensuite transférer 1 ml de son contenu pour ensemencer 100 ml du milieu liquide Mac-Conkey.

Incuber à 43-45 °C pendant 18-24 h.

Effectuer des subcultures sur milieu gélose Mac-Conkey, incuber à 35-37 °C pendant 18-72 h.

- **Lecture :**

La croissance de colonies indique une présence possible d'Escherichia Coli.

A confirmer par des tests biochimiques appropriés dans le tableau suivant :

<i>Germe</i>	<i>Aspect macroscopique</i>	<i>Aspect microscopique</i>	Caractères biochimiques
Escherichia coli	Colonies rouge non mucosées	Bacille Gram négatif	Oxydase – Catalase +

RESULTS
ET
DISCUSSION

I. IDENTIFICATION ET CONTROLE DE LA MATIERE PREMIERE :

I.1. CARACTERES DE LA MATIERE PREMIERE :

I.1.1. Caractères organoleptiques :

Nous avons observé une poudre cristalline blanche qui est inodore.

Cet aspect est conforme à la pharmacopée européenne 7^{ème} édition.

I.1.2. Solubilité :

Notre matière première examinée est facilement soluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol et le méthanol, pratiquement insoluble dans l'acétone.

Ces caractères sont conformes à la pharmacopée européenne 7^{ème} édition.

I.1.3. Mesure de pH :

LepH de la solution aqueuse à 1% de metformine mesuré à température égale à 25°C est de 6.59. Ce résultat obtenu est conforme avec les données présentées dans la pharmacopée européenne.

I.2. IDENTIFICATION DE LA MATIERE PREMIERE :

I.2.1. Point de fusion :

Le point de fusion obtenu est de 223.6°C. Il est conforme aux normes qui se situent, selon la pharmacopée européenne 7^{ème} édition, entre 222 et 226°C.

I.2.2. Caractérisation par des méthodes Spectroscopiques :

➤ Spectrométrie Infrarouge (IR) :

La spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge correspond en position et en démentions relatives à ceux du spectre de référence dont les principales liaisons caractérisant la metformine sont :

- Les bandes à 3369.73 cm^{-1} et 3292.14 cm^{-1} correspondent à la vibration d'élongation de la liaison N- H de l'amine primaire.
- La bande à 3172.68 cm^{-1} correspond à la vibration d'élongation de la liaison C- H.
- La bande 1583.07 cm^{-1} correspond à la vibration d'élongation de la liaison N- H de l'amine secondaire.
- La bande 1060.30 cm^{-1} correspond à la vibration de valence de la liaison C-N.

Les spectres IR sont représentés sur les figures N°14et15.

L'analyse par infrarouge de la matière première a permis de donner grossièrement les différents éléments constitutifs de cette molécule à travers les vibrations des liaisons caractéristiques aux nombres d'ondes correspondants.

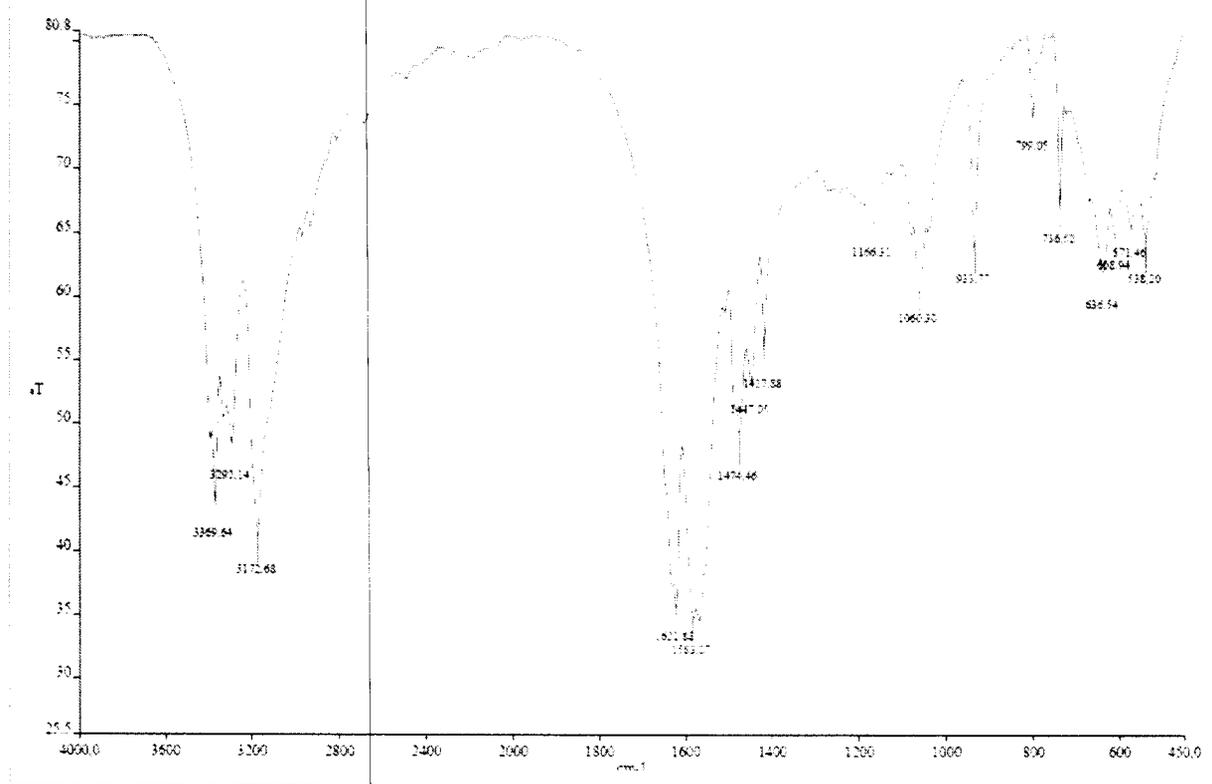


Figure N° 14 : Spectre infrarouge de référence.

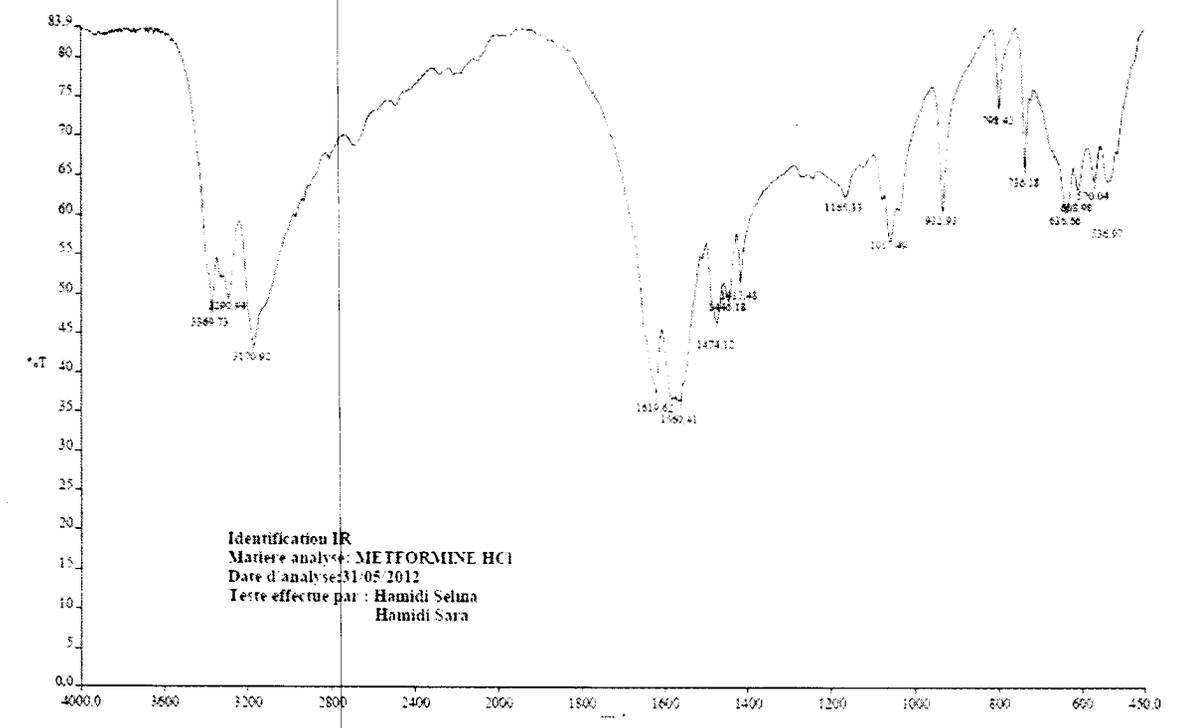


Figure N°15 : Spectre IR réalisé de la metformine.

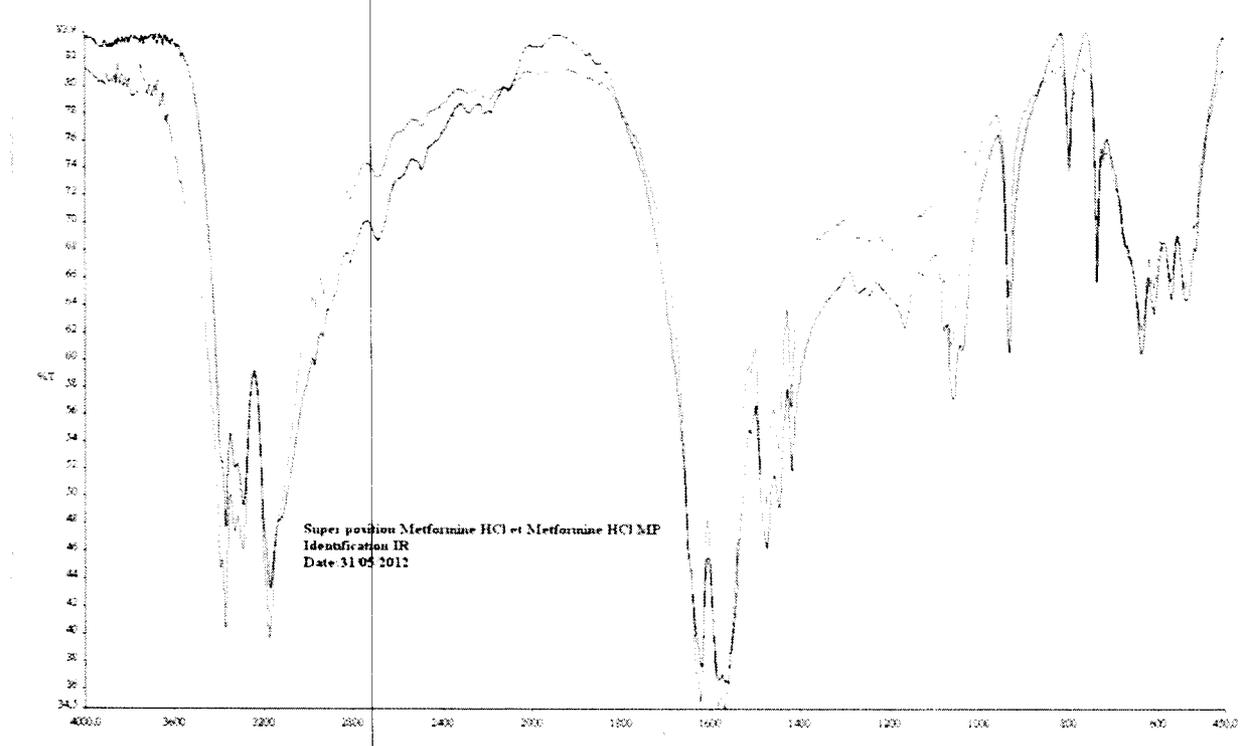


Figure N° 16: Superposition du spectre IR de référence et le spectre réalisé de la metformine.

I.2.3. Réactions des chlorures :

Nous avons observé un précipité blanc caillebotté ; qui se dissout facilement après l'ajout de 1.5 ml d'ammoniaque R.

** La metformine répond à la réaction des chlorures, ce qui est tout a fait logique puisque elle se trouve se forme chlorhydrate.

I.3.LES ESSAIS LIMITES DE LA MATIERE PREMIERE:

I.3.1.Les métaux lourds:

La solution de référence donne une couleur légèrement brune par rapport à la solution blanc.

La solution S à examiner est transparente comme celle de la solution blanc; donc la solution *satisfait* à l'essai limite A des métaux lourds.

I.3.2.Les cendres sulfuriques :

Les résultats de manipulations et de calculs sont présentés dans le tableau suivant :

<i>Poids de creuset remplis (g)</i>	17.7320
<i>Poids de creuset vide (g)</i>	17.7314
<i>Prise d'essai (g)</i>	1.0276
<i>Cendres sulfuriques (%)</i>	0.058
<i>Norme</i>	< 0.1%

D'après la formule déjà citée :

$$\text{Cendres sulfuriques (\%)} = \frac{\text{P creuset remplis} - \text{P creuset vide}}{\text{PE}} \times 100$$

$$\text{Cendres sulfuriques (\%)} = \frac{17.7320 - 17.7314}{1.0276} \times 100$$

$$\text{Cendres sulfuriques (\%)} = 0.058\%$$

Le résultat obtenu de pourcentage des cendres sulfurique est dans la norme décrite dans la pharmacopée européenne 7^{ème} édition (< 0.1%).

I.3.3.Perte à la dessiccation :

Le tableau suivant présente les résultats de la manipulation effectuée :

<i>(Plateau vide + ECH) avant la dessiccation</i>	5g
<i>(Plateau vide + ECH) après la dessiccation</i>	4.98g
<i>Prise d'essai</i>	5g
<i>La perte a la dessiccation</i>	0.4%
<i>Norme</i>	<0.5%

D'après la formule déjà citée :

$$\text{Perte a la dessiccation (\%)} = \frac{VV - VA}{PE} \times 100$$

$$\text{Perte a la dessiccation (\%)} = \frac{5 - 4.98}{5} \times 100$$

$$\text{Perte a la dessiccation (\%)} = 0.4\%$$

Le résultat obtenu après la dessiccation de la matière première est inférieur à 0.5%, ce qui confirme que notre substance active est conforme à la production.

I.4. DETERMINATION DU TITRE DE LA METFORMINE PAR POTENTIOMETRIE :

Le volume versé de l'acide perchlorique 0.1 M est de 2.67 ml qui permet d'atteindre le point d'équivalence. Et selon l'équation, nous avons fait le calcul suivant :

Formule de calcul :

$$X(\%) = \frac{Vt \times T \times Eeq}{PE} \times 100$$

$$X(\%) = \frac{2.67 \times 1 \times 8.28}{\frac{60.1}{54} \times 20} \times 100$$

$$X(\%) = 99.32\%$$

Résultat :

Le chlorhydrate de metformine analysé contient donc **99.32%** de chlorhydrate de 1.1-diméthylbiguanide, calculé par rapport à la substance desséchée.

Le résultat obtenu répond aux normes de la pharmacopée européenne d'après les critères d'acceptabilité qui se situent entre **98.5%** et **101%**.

II. CONTROLE PHYSICO-CHIMIQUE DU PRODUIT FINI :

II.1 Caractères organoleptiques :

Nous avons observé des comprimés blancs pelliculés biconvexes, conformément aux exigences prescrites dans la pharmacopée britannique 2008.

II.2.Dureté :

<i>Comprimés</i>	<i>Dureté (N)</i>
1	86.0
2	125.6
3	131.8
4	132.0
5	137.9
6	41.7
7	94.7
8	125.4
9	96.3
10	110.6
moyenne	108.2
norme	>50 N

La dureté est de **108.2 N**. Ce résultat est conforme aux normes de la pharmacopée britannique 2008 qui doit être supérieur à **50 N**.

II.3.Masse moyenne (MM) :

La masse moyenne est de 530.7 mg. Elle est conforme aux normes qui se situent, selon la pharmacopée britannique 2008, entre **502.6** et **555.5mg**.

II.4.Uniformité de masse:

Après la pesée individuelle de chacun des 20 comprimés et le calcul de la masse moyenne. La vérification de l'homogénéité de la population se fait par l'équation : **MM± 5%** à condition que tous les comprimés situent dans cet intervalle.

Les résultats sont exprimés dans le tableau suivant :

Cp	Norme	Poids (g)
1	Min= 504,165 Norme : MM ± 5 Max= 557,235	0.5333
2		0.5260
3		0.5362
4		0.5207
5		0.5323
6		0.5284
7		0.5238
8		0.5268
9		0.5313
10		0.5368
11		0.5360
12		0.5261
13		0.5214
14		0.5372
15		0.5307
16		0.5416
17		0.5328
18		0.5326
19		0.5332
20		0.5268
Moyenne		0.5307
Min		0.5207
Max		0,5416

L'écart de la masse moyenne de 5% : [530.7mg± 26.535] <=> [504.165 mg- 557.235mg].

**** Calcul :**

$$\frac{530.7 \times 5}{100} = 26.535 \text{mg}$$

$$530.7 - 26.535 = 504.165 \text{mg}$$

$$530.7 + 26.535 = 557.235 \text{mg}$$

Ces résultats sont conformes aux normes selon les exigences du dossier technique du laboratoire.

II.5. Temps de désagrégation: (ou délitement):

Le produit est conforme car les 6 unités sont désagrégées. Les comprimés sont désagrégés dans un temps limite de 6 minutes, qui est inférieur à la limite supérieure 20 minutes décrite selon la pharmacopée britannique 2008. Les résultats sont exprimés dans le tableau suivant :

Cp	Cp ₁	Cp ₂	Cp ₃	Cp ₄	Cp ₅	Cp ₆	résultat
t (min)	5,45	5,50	5,58	6,02	6,10	6,14	6,00
Norme	0-20 (min)						

II.6. Dissolution in vitro:

N°	Abs Ech	Abs Std	PStd(mg)	Pureté	Dis %
1	0,2824	0,2789	250,60	100	101,5
2	0,2741	0,2789	250,60	100	98,5
3	0,2885	0,2789	250,60	100	103,7
4	0,2945	0,2789	250,60	100	105,8
5	0,2817	0,2789	250,60	100	101,2
6	0,2815	0,2789	250,60	100	101,2
Moyenne	≥75% (Q)				102,0
Max					105,8
Min					98,5

LOTS	STD0	DO Std
	STD1	0,2782
	STD2	0,2782
	STD3	0,2790
	STD4	0,2800
Moyenne		0,2789
Ecart type		0,0009
RSD %	<2	0,31

Exemple de calcul:

$$\% \text{ dissolution} = \frac{A \text{ Ech}}{A \text{ Std}} \times P \text{ Std} \times \frac{V \text{ de bol}}{V \text{ Std}} \times \frac{\text{dilution}}{\text{dosage}}$$

$$\% \text{ dissolution} = \frac{0.2824}{0.2789} \times 250.60 \times \frac{1000}{500} \times \frac{100}{500}$$

$$\% \text{ dissolution} = 101.49\%$$

Ces résultats sont conformes à la pharmacopée européenne 7^{ème} édition ou le % dissolution doit être $\geq (Q + 5\%)$.

II.7. Identification et Dosage de la metformine dans le produit fini :

II.7.1. Identification par spectrophotométrie IR :

La spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge correspond en position et en démentions relatives à ceux du spectre de référence. (FigureN° 17et 18)

II.7.2. Dosage de la metformine dans le produit fini par spectrophotomètre

UV. Visible :

Les résultats sont exprimés dans le tableau suivant :

<i>Essais</i>	DO	Pesée (g)	MM
Essai 1	0.7699	0.101	530.70
Essai 2	0.7734	0.101	530.70

Calcul :

$$\text{Moyenne « DO »} = \frac{0.7699 + 0.7734}{2}$$

$$\text{Moyenne « DO »} = 0.7716$$

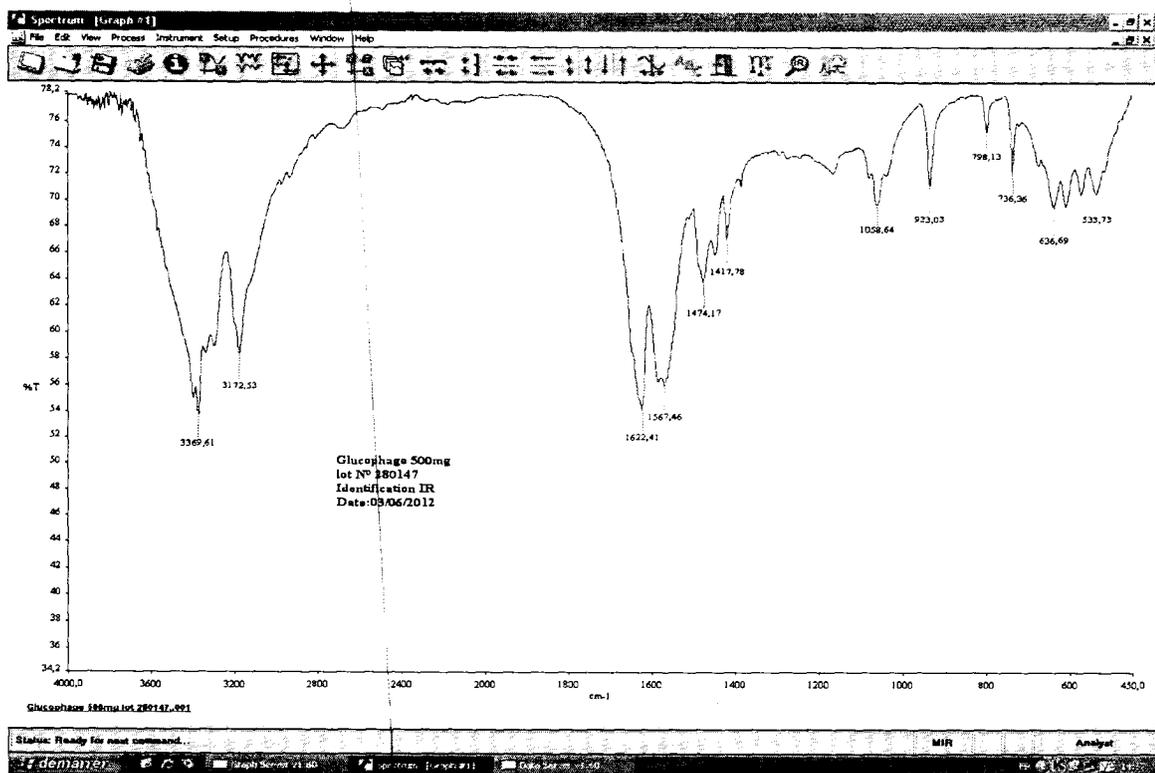
$$\text{Met (mg)} = \frac{\frac{\text{DO essai}}{\text{DO spec}}}{P \text{ essai} \times \text{dilution}} \times \frac{\text{MM}}{100} \times \frac{\text{Pureté}}{100}$$

$$\text{Met (mg)} = \frac{0.7716/798}{\frac{0.101}{100} \times \frac{10}{100} \times \frac{10}{100}} \times \frac{530.7}{100} \times \frac{99.8}{100}$$

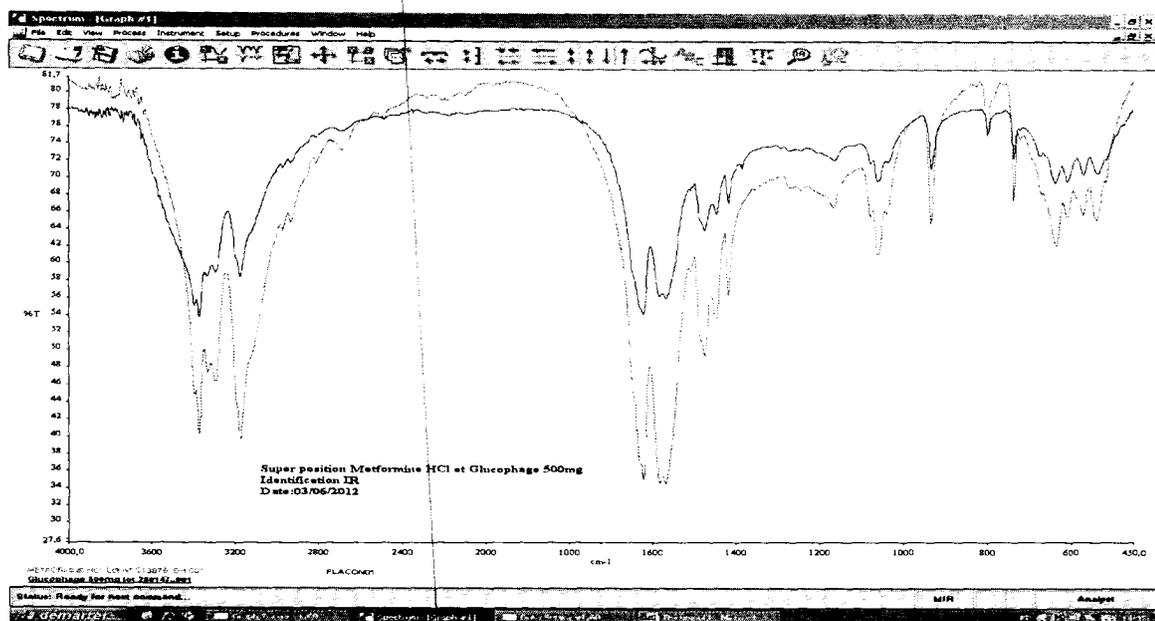
Met (mg) = 507.05mg/comprimé.

Répond aux normes de la pharmacopée britannique 2008 d'après les critères d'acceptabilité :

(475 – 525)mg/comprimés. .



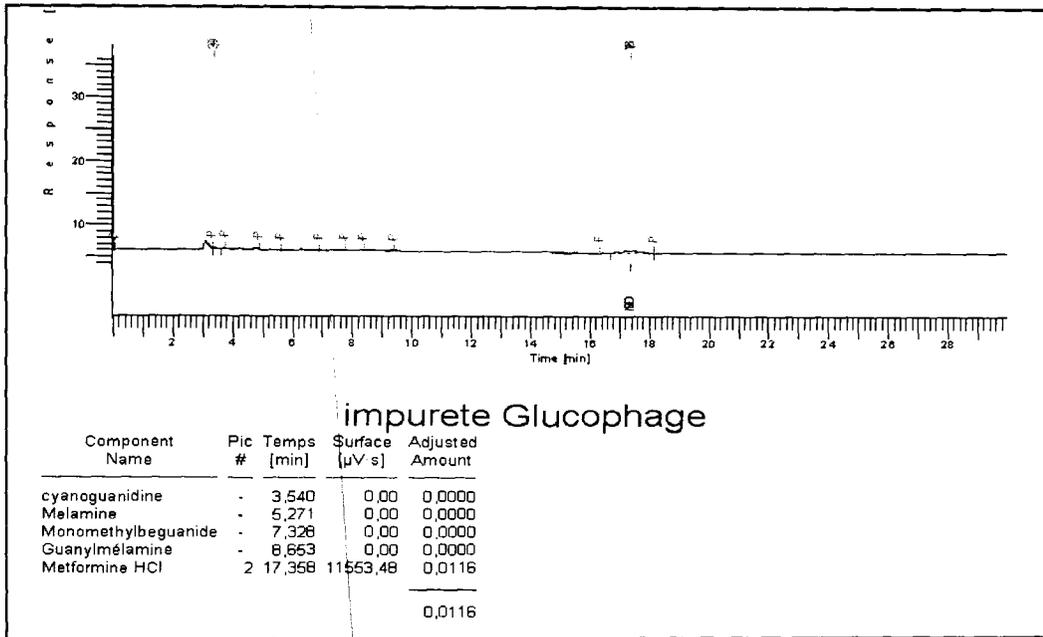
FigureN°17: Spectre IR réalisé du produit fini Glucophage 500 mg.



FigureN°18: Superposition du spectre IR de référence et le spectre réalisé du produit fini Glucophage 500mg.

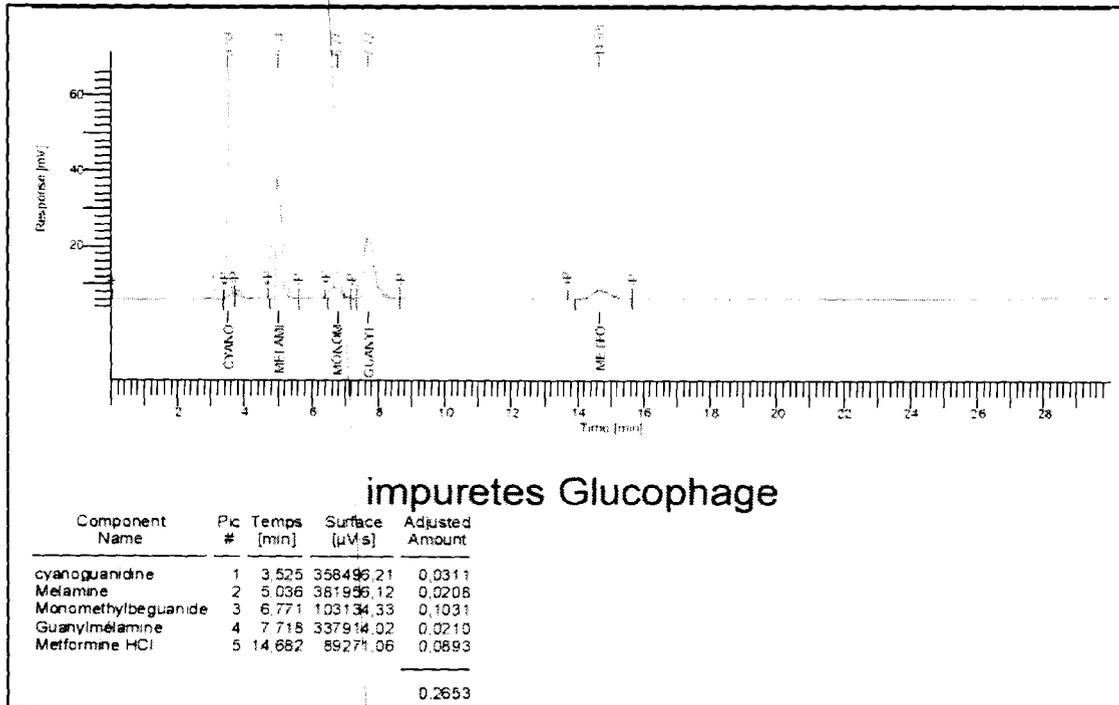
II.8. Dosage des substances apparentées :

Chromatogramme de la solution blanc :



N° de pic	Temps de rétention (min)	Surface de pic ($\mu V \cdot s$)
1	3,540	0,00
2	5,271	0,00
3	7,328	0,00
4	8,653	0,00
5	17,358	11553,48

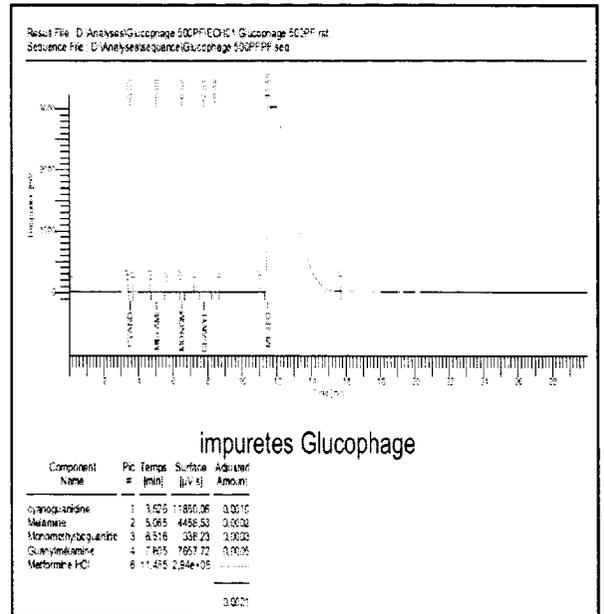
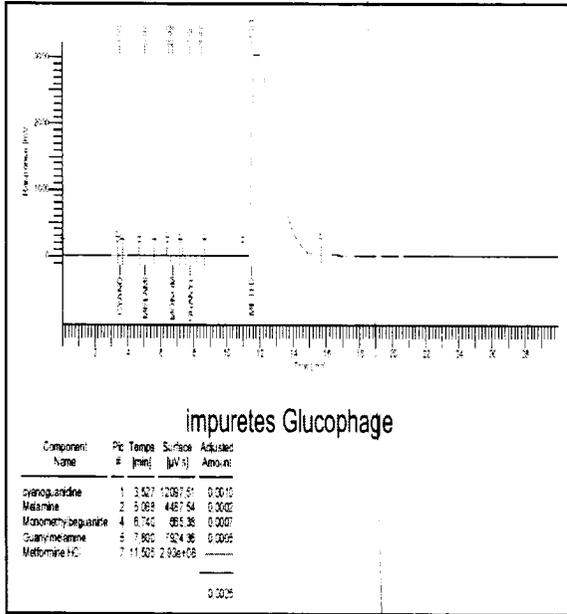
Chromatogramme de la metformine chlorhydrate (solution témoin) :



N° de pic	Temps de rétention (min)	Surface de pic (µV. s)
1	3,525	358496,21
2	5,036	381956,12
3	6,771	103134,33
4	7,718	337914,02
5	14,682	89271,06

Chromatogramme de la metformine chlorhydrate (solution à examiner) :

Injection1 :Injection 2 :



N° de pic	Injection 1		Injection 2		Moyenne de surface de pic
	Temps de rétention(min)	Surface de pic (µV. s)	temps de rétention(min)	Surface de pic (µV. s)	
1	3,527	12097,51	3,526	11880,08	11988,79
2	5,068	4487,54	5,065	4458,53	4473,04
3	6,740	665,38	6,516	338,23	501,81
4	7,800	7924,36	7,805	7657,72	7791,04
5	11,505	2,93e +08	11,485	2,94e +08	2,93e+08

La moyenne de surface de pic est calculée par la formule suivante :

$$SEch(M) = \frac{SEch1 + SEch2}{2}$$

Le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner présente cinq pics principaux correspondant à : l'impureté A, l'impureté D, l'impureté E, l'impureté B, la metformine HCl respectivement.

* Calcul de la teneur de chaque impureté :

Sachant que **P Ech**= 530mg et **P Std**=20 mg

- Calcul de la teneur en impureté A :

D'après la formule déjà citée :

$$P_A = \frac{S \text{ Ech}(M)}{S \text{ Std}} \times \frac{P \text{ Std}}{P \text{ Ech}} \times 0,5 \times \frac{MM}{\text{dosage}}$$

$$P_A = \frac{11988,79}{89271,06} \times \frac{20}{530} \times 0,5 \times \frac{530,7}{500}$$

$$P_A = 0,0027\%$$

-Calcul de la teneur en l'impureté D :

$$P = \frac{S \text{ Ech}(M)}{S \text{ Std}} \times \frac{P \text{ Std}}{P \text{ Ech}} \times 0,1 \times \frac{MM}{\text{dosage}}$$

$$P_D = \frac{4473,04}{89271,06} \times \frac{20}{530} \times 0,1 \times \frac{530,7}{500}$$

$$P_D = 0,0002\%$$

-Calcul de la teneur de l'impureté E:

$$P_E = \frac{501,81}{89271,06} \times \frac{20}{530} \times 0,1 \times \frac{530,7}{500}$$

$$P_E = 0,00002\%$$

-Calcul de la teneur en impureté B :

$$P_B = \frac{7791,04}{89271,06} \times \frac{20}{530} \times 0,1 \times \frac{530,7}{500}$$

$$P_B = 0,0003\%$$

* Calcul de la teneur totale des impuretés:

$$P_T = \sum P_i$$

$$P_T = 0,0027 + 0,0002 + 0,00002 + 0,0003$$

$$P_T = 0,0032\%$$

La teneur de chaque impureté et des totales des impuretés répond aux normes de la pharmacopée britannique 2008 d'après les critères d'acceptabilité :

La teneur de l'impureté **A** n'est pas supérieure à **0,02%**.

La teneur de chaque impureté (**B, D, E**) n'est pas supérieure à **0,1%**.

La teneur totale des impuretés ne dépasse pas **0,5%**.

III. CONTROLE MICROBIOLOGIQUE DU PRODUIT FINI :

Les résultats de l'analyse microbiologique de chlorhydrate de Metformine représentés par le tableau suivant indiquent que ce dernier est exempt des bactéries aérobies viables totales, de levures, de moisissures et d'Escherichia coli.

Le produit fini est donc conforme aux normes exigées par la pharmacopée, ce qui traduit sa bonne qualité microbiologique.

<i>Echantillon analysé</i> <i>Germes recherchés</i>	<i>Echantillon N° de lot</i>	<i>Normes</i>	<i>Résultats</i>
DBAT Dénombrement des bactéries aérobies viables totaux (UFC/g)	280 147	10^3	$940 < 10^3$
DMLT Dénombrement des levures et moisissures (UFC/g)	280 147	10^2	0
<i>Escherichia coli</i>	280 147	Absence d'Escherichia coli (1g ou 1 ml)	Absence de pousse sur gélose Mac-Conkey

Tableau N°12: Résultats d'analyse microbiologique de produit fini de MetformineHCl 500 mg (Glucophage).

NB :

Le dénombrement de bactéries aérobies viables totales (UFC/g) est fait sur les boîtes de dilution 10^{-1} et le calcul se fait selon l'équation déjà décrite :

Boite 1 : 92 colonies.

Boite 2 : 96 colonies.

CONCLUSION

La metformine, qui est un antidiabétique oral de la famille des biguanides, constitue un traitement du diabète type 2, en particulier en cas de surcharge pondérale, lorsque le régime alimentaire et l'exercice physique ne sont pas suffisants pour rétablir l'équilibre glycémique.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'analyse physico-chimique de la metformine matière première et de son dosage dans le produit fini ainsi que de ses substances apparentées.

Son identification a été réalisée par des méthodes physico-chimiques classiques telles que la mesure de point de fusion, la réaction des chlorures et par comparaison des spectres IR avec ceux de monographie officielle.

La metformine a été dosée dans le produit fini par la méthode d'absorbance spécifique dans le domaine UV-Visible, ce qui a conduit à un résultat conforme à la pharmacopée britannique 2008.

L'analyse par chromatographie liquide haute performance du produit fini a mis en évidence les principales substances apparentées qui a conduit à un résultat conforme aux normes en vigueur.

Les résultats de l'analyse microbiologique du produit fini ont montré que ce dernier est exempt de germes aérobies viables totaux, de levures, de moisissures et d'*Escherichia coli*.

Le produit fini est donc conforme aux normes exigées par la pharmacopée, ce qui traduit sa bonne qualité microbiologique.

BIBLIOGRAPHIE

1. A.EL HAJJI;S.ZAYDOUN.

U.M. V ; FSR/ Master sciences analytiques,M9. Cours de Spectroscopie Infrarouge.

2. ANAES.

Principes du dépistage du diabète de type II. février 2003.

3. ANTHONY C MOFFAT; M. DAVID; OSSELLTON and BRIAN WIDDOP.

Clark's analysis of drug and poisons in pharmaceuticals, body fluids and post-mortem materiel.3rd edition-volume2-pharmaceutical press, 2004, P 1228-1232.

4. BISMUTH, CHANTAL,

Toxicologie clinique, 5ème édition, année2000 (Paris Flammarion médecine sciences 2000), P 300-302.

5. BRITISH PHARMACOPEIA 2008.

6. CATHERINE MICHAUD : THESE DE DOCTORAT EN MEDECINE.

« Acidose lactique et Metformine à propos d'un cas », P 19-31.

**7. FEDERATION INTERNATIONALE DU DIABETE ; DIABETES ATLAS
RESUME, 2003.**

8. F.GIMENEZ – M.BRAZIER-J.CALOP-S.LIMAT-G.FERNANDEZ.

Pharmacie clinique et thérapeutique 3ème édition-Mars 2008.

9. F.GIMENEZ – M.BRAZIER-J.CALOP- TIDINE-L.TCHIAKPE.

Pharmacie clinique et thérapeutique 1ere édition- Mars2000, P 352.

10. FRANCIS ROUESSAC ; ANNICK ROUESSAC.

Analyse chimique; Méthodes et techniques instrumentales modernes 6^e édition-Dunod, 2007.

11.GIDDINGS G.C;DEKKER.M.

Dynamics of chromatography, New York, 1965.

12. GOODMAN A; GILMAN.

Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments 9^{ème} édition, 2006, Chapitre 60.



13. GRAHAM GURRELL.

«Analytical instrumentation». «Performance characteristics and quality». John Wiley and Sons, LTD. England. Copyright 2000.

14. GUERIB.A.

Chimiothérapeutique tome V, 1988.

15. INTERNATIONAL OENOLOGICAL CODEX. EDITION 2011.

16. J.D BRION - J.BUXERAUD - J.COUCHELET - J.M COUCHELET - M.CUSSAC - M.DEBART - J.P.FDURNIER - J.HUET - R.LACROIX - J.Y LARONZE - J.LARONZE- G.LEBAUT- P.LOISEAU- V.LOPPINET - J.PARIS - M.PLAT - J.POISSON - J.F.RUBERT -A.XICLUNA. AFECT (association française des enseignants de CHTH)

Traité de chimie thérapeutique : volume 4, médicament en relation avec des systèmes hormonaux, P 97-110.

17. JEAN MICHEAL PETIT- JEAN JACQUES ALTMAN- JEAN PAUL BELON.

Thérapeutique pour le pharmacien ; endocrinologie- diabétologie : III MASSON, Paris, 2005, P 47-61.

18. LAROUSSE: BIBLIOTHEQUE MEDICALE DE LA FAMILLE.

Les maladies des appareils digestifs et urinaires ; Septembre 1998, P 65-72.

19. LEON PERLEMUTER- GABRIEL PERLEMUTER.

Guide de thérapeutique 6^{ème} édition. Mars 2010 ; édition Masson, P 377- 395.

20. MAHYZIER.G; HAMON.M; FERRIER.D; PRONGNON.D.

Chimie analytique. Méthodes de séparation, 3^é édition – Tome 2; Masson, 2002, P 173-192.

21. MARC TALBERT ET GERARD WILLOQUET, ROSELYNE GERVAIS.

Guide pharmaco : étudiants et professionnels paramédicaux 7^{ème} édition ; 2006. Edition LEMARRE.

22. MARC TALBERT, GERARD WILLOQUET, ROSELYNE GERVAIS.

Le guide pharmaco-clinique 2, le moniteur des pharmaciens, 2009, P 366- 370.

23. MARYADELEJ; PATRICIA- HECKELMAN- CHERIE- KOCH- KRISTIN J.

The Merck index: An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals; Fourteenth edition copyright 2006.

24. MICHAEL NEAL.

En bref...Pharmacologie médicale 2^{ème} édition française ; traduction de la 4^{ème} édition anglaise par Livia Guirgea ; révision scientifique de Marie- Paule Mingeot, P 78-79.

25. MONIQUE LARPENT- GAROGAND. JEAN- PAUL LARPENT.

« Memento technique de microbiologie » 3^{ème} édition 1997.

26. ORCHORD.T.J- TEMPROSA.M- GOLDBERG.R- HAGGNER.S- RATNER.R- MARCOVINA.S- FOWLER.S- ANN- INTEM- MED. 2005. 142, 609.

27. PHARMACOPEE EUROPEENNE 6^{ème} EDITION, 2008.

28. PHARMACOPEE EUROPEENNE 7^{ème} EDITION, 2011.

29. PIERRE ALLAIN.

Pharmacologie « le médicament » 3^{ème} édition, P 210-213 et P 435.

30. PIERRE KAMOUN.

Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire. Flammarion, 1997.

31. RANE POIL PLANC ET FRANÇOIS CROSNIER.

« Spectromètre infrarouge et Raman ». Grenoble, 2006.

32. ROSSET.R ; CAUDE.M ; JARDY.A.

Manuel pratique de la chromatographie. Masson, 1990.

33. ROSSET.R ; CAUDE.M ; JARDY.A ; FOUCAULT.A.

Technique de l'ingénieur : chromatographie en phase liquide et supercritique.

34. SERGE KIRKIACHARIAN.

Guide de chimie thérapeutique ; faculté de pharmacie « Université de Paris -sud-»

35. SKOOG- WEST- HOLLER.

« Chimie analytique ». Traduction et révision de la 7^{ème} édition Américaine par Claudine Buess- Herman. De Boeck copyright 1997.

36. SKOOG. WEST. NIEMAN :

« Principe d'analyse instrumentale » traduction et révision scientifique de la 5^{ème} édition Américaine par Claudine Buess. Herman et FredayDumont ; de boeck. Copyright 2003.

37. SWISS PHARMACEUTICAL SOCIETY: INDEX MINIMUM 2004.

International drug directory -18th edition-

38. US PHARMACOPEIA.

«33^{ème} Edition;USP 33-NF28».2010.

39. VIDAL 2008.

40. VIDAL 2012.

41. WILDS- ROGLIC,G, GREENA ; SIGREE,R ; KING H.

Diabetes cares 2004.

42. YOST.R.W.COULON.R.D

Pratique de la chromatographie liquide.

ANNEXE

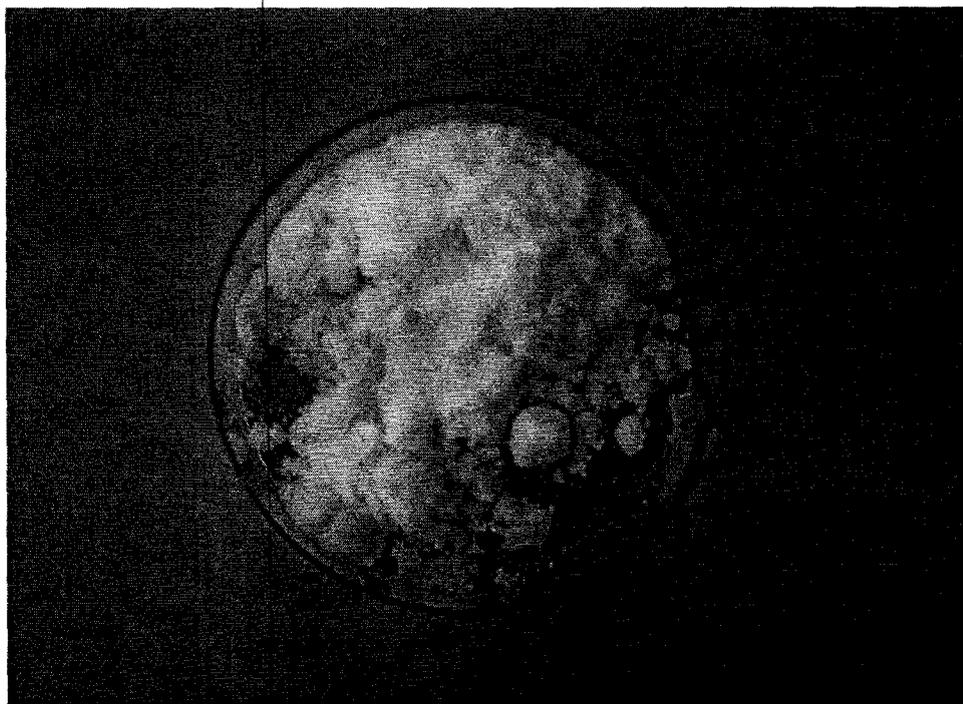


Figure N° 19 : Metformine chlorhydrate, matière première.

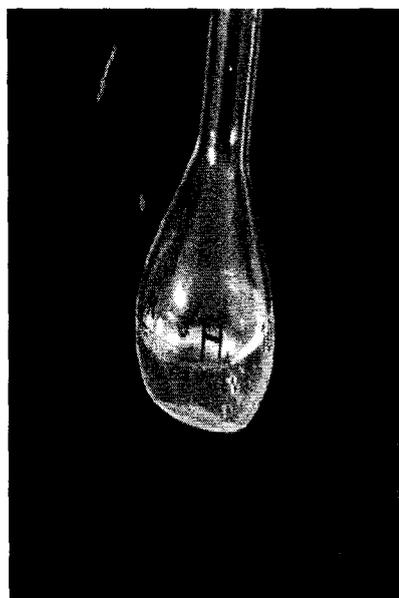
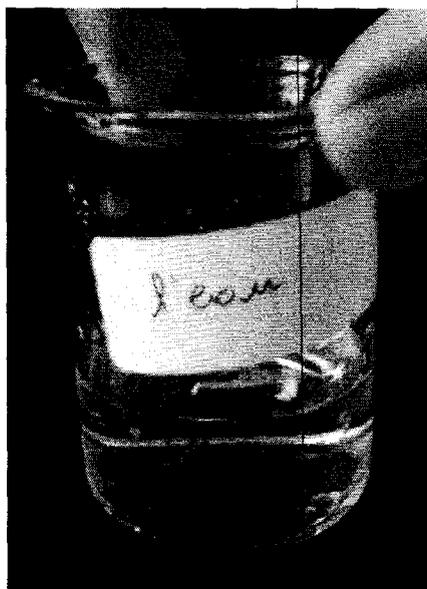


Figure N°20 : Solubilité dans l'eau et l'éthanol.

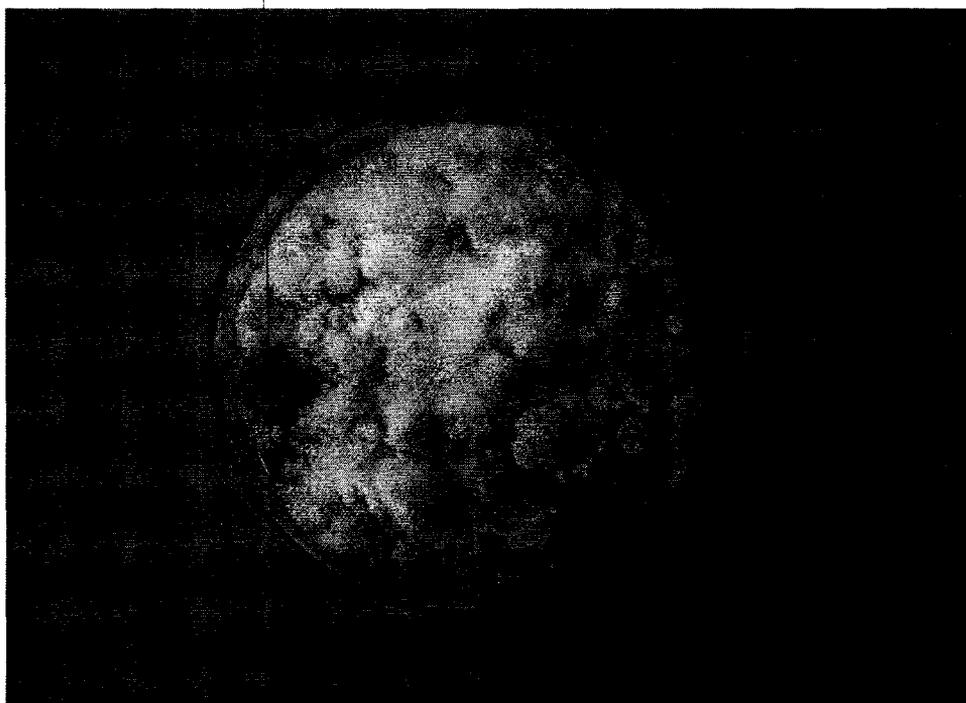


Figure N° 19 : Metformine chlorhydrate, matière première.

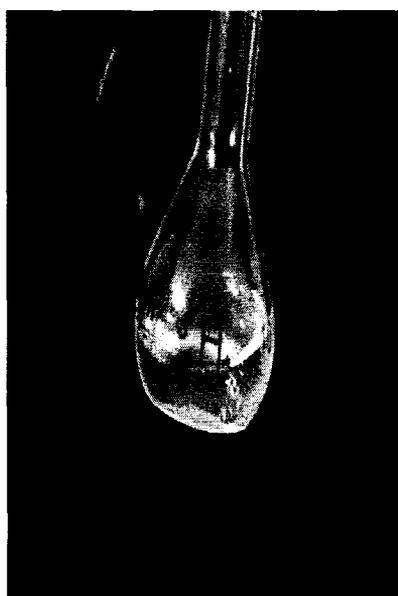
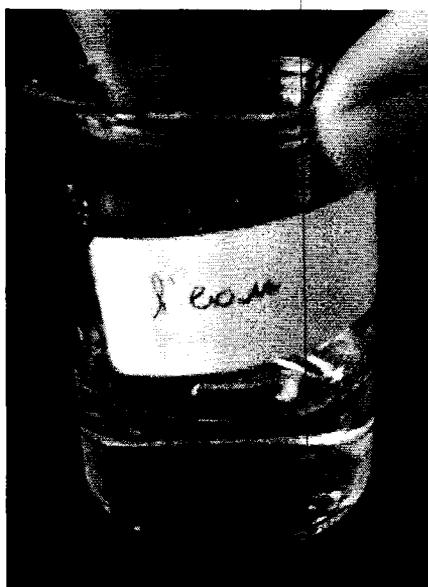


Figure N°20 : Solubilité dans l'eau et l'éthanol.

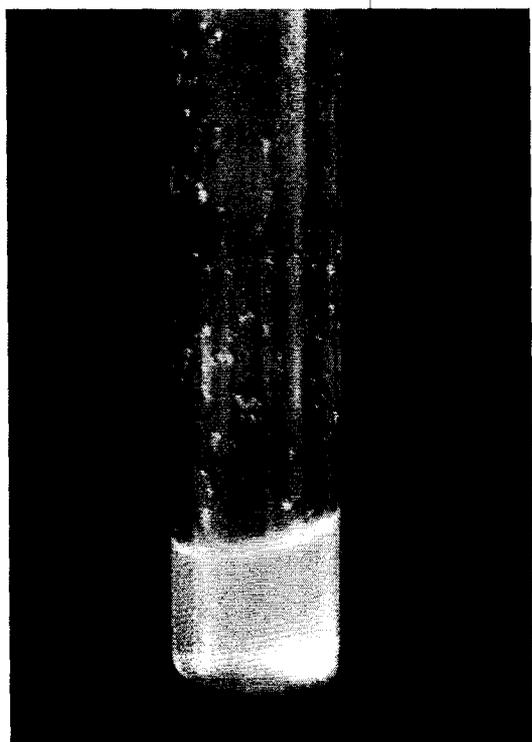


Figure N°21 : Réaction des chlorures.

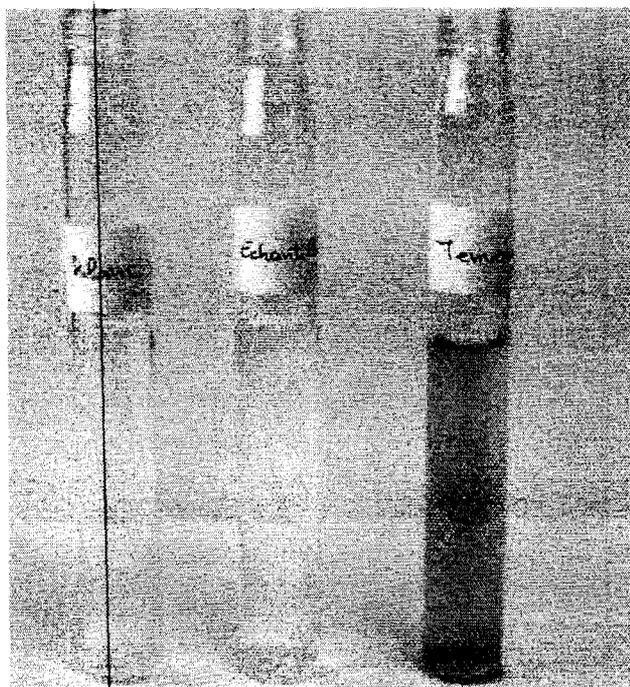


Figure N° 22: Recherche des métaux lourds.

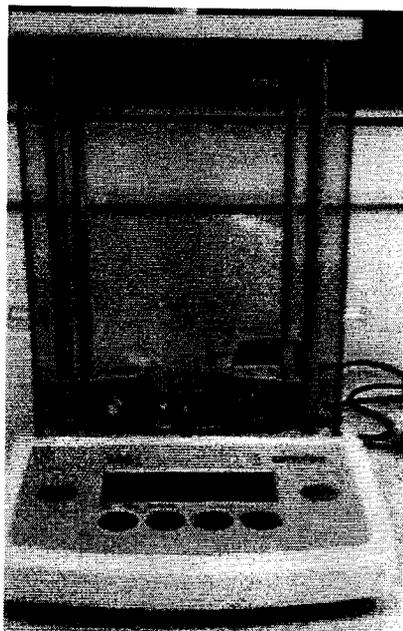


Figure N° 23 : Balance analytique. **Figure N°24** : Bain ultrason.
Marque : SARTORIUS.



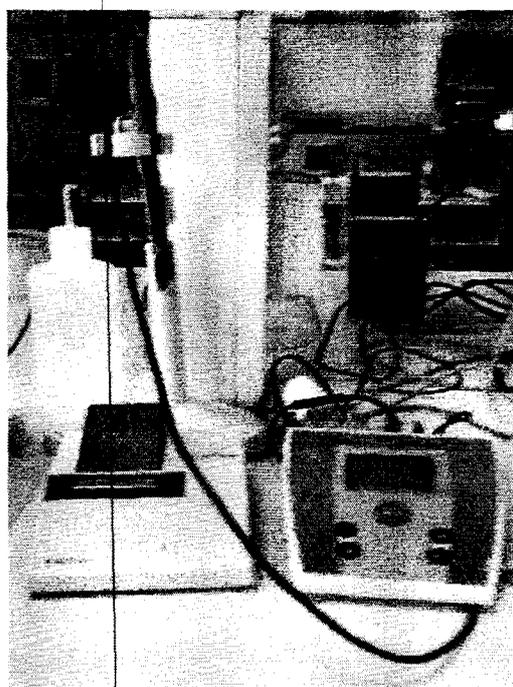
Marque : WVR.



Figure N°25 : Centrifugeuse.
Marque : HETTICH ROTOFIX 32A.



FigureN°26 : Appareil de point de fusion au tube capillaire.
Marque : BuchiMelting Point B. 545.



FigureN°27 : pH-mètre.
Marque : SAVEN EASY.

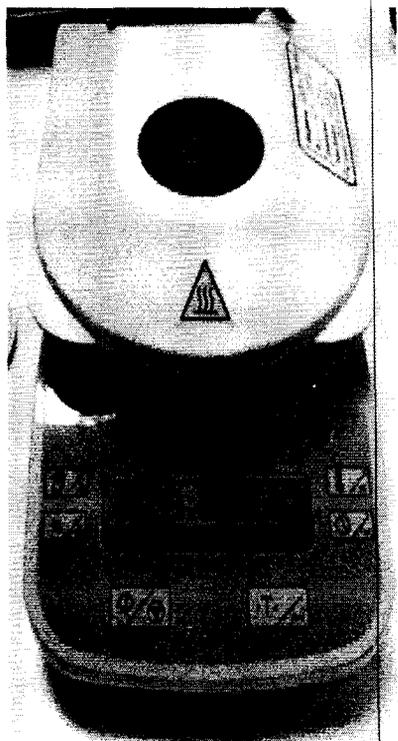


Figure N° 28: Balance dessiccateur. **Figure N° 29 :** Four à moufle.
Marque: CAS. Marque: NABERTHERM.
More than HEAT 30-3000°C

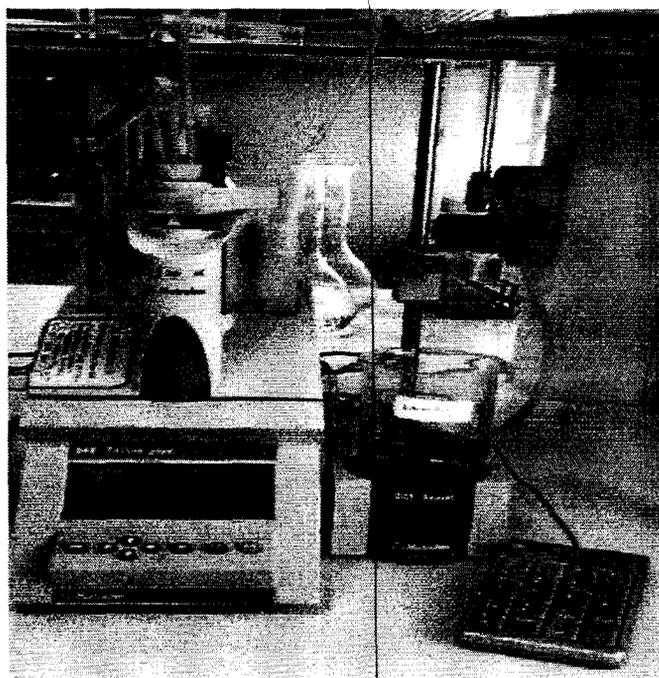


Figure N° 30: Potentiomètre. Marque : Tatrino Plus 848.

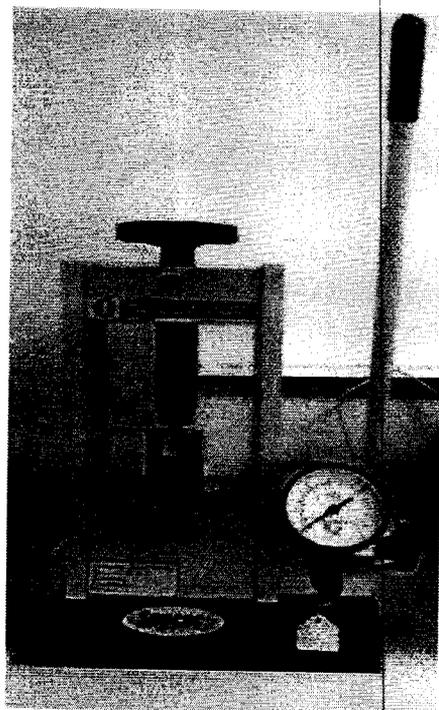


Figure N° 32 : La pastille de matière première.

Figure N° 31 : Pastilleuse. Marque : SPECAC



Figure N°33 : Spectrophotomètre IR.
Marque : PERKIN ELMER Spectrum 100.

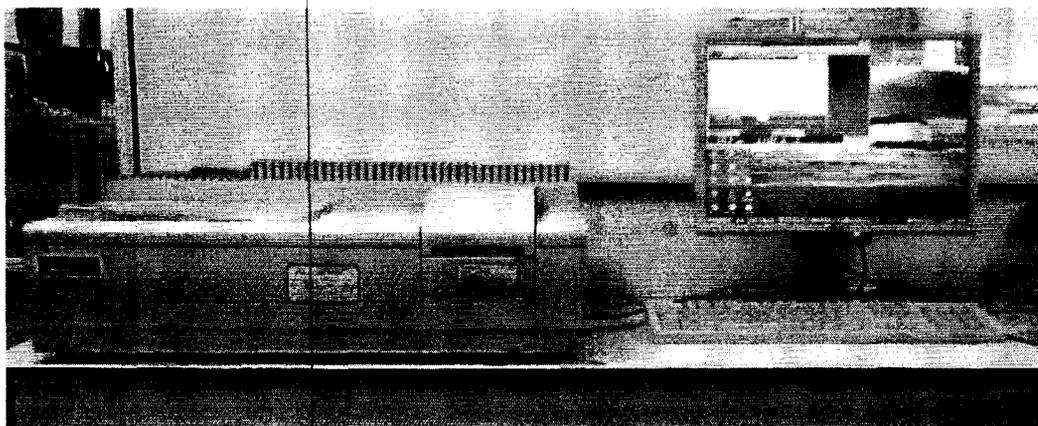


Figure N°34: Spectrophotomètre UV-VIS.

Marque : PERKIN ELMER Lambda 25.



Figure N°35: HPLC.

Marque : Perkin Elmer série 200.



Figure N°36: Dissolu test.

Marque : ELECTROLAB.

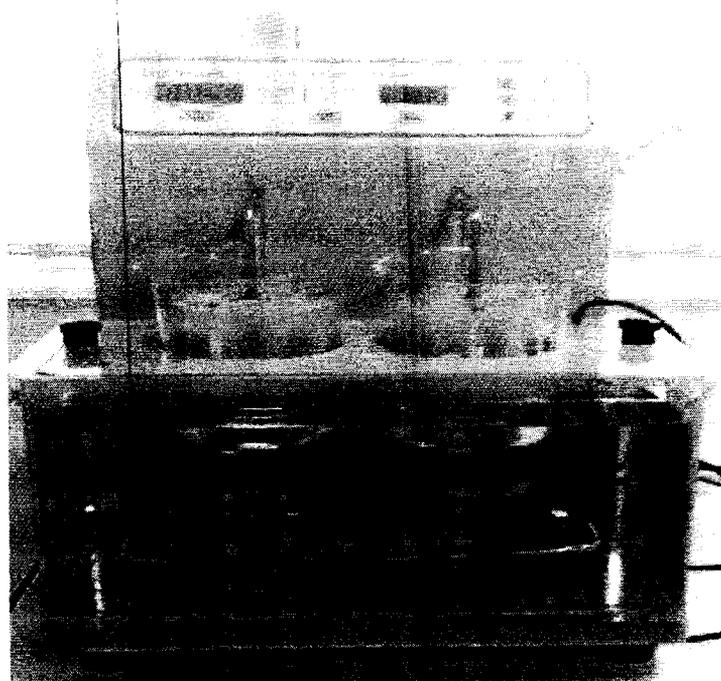


Figure N°37: Déli- test.

Marque : ELECTROLAB.

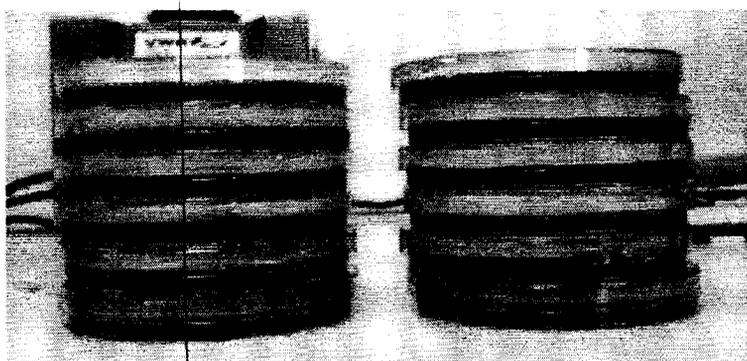


Figure N°38 : Les boîtes de pétriensemencées par profondeurs se gélifient à température ambiante (milieu TSA et SCA).

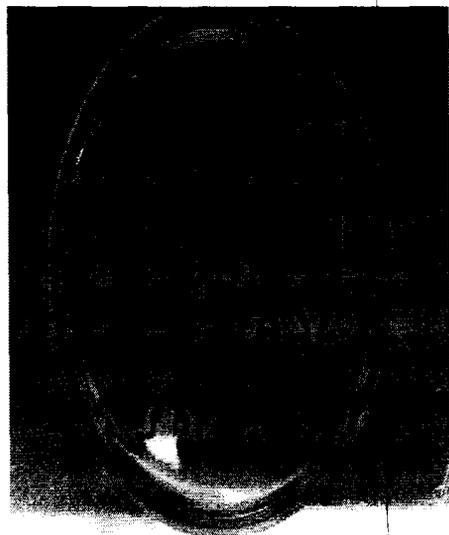


Figure N°39 : Milieu SCA après culture à 20-25°C pendant 5 jours.



Figure N°40 : Milieu TSA après culture à 30-35°C pendant 3 jours.

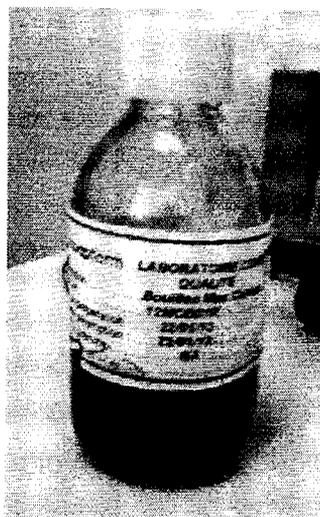
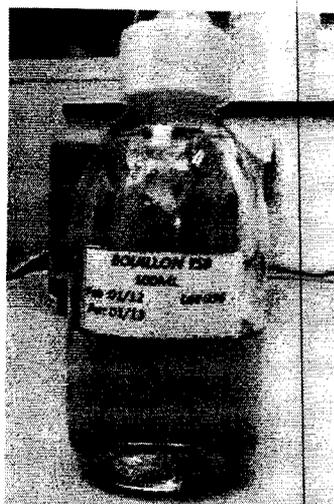


Figure N°41 : bouillon TSB. **Figure N°42** : bouillon Mac-conkey.

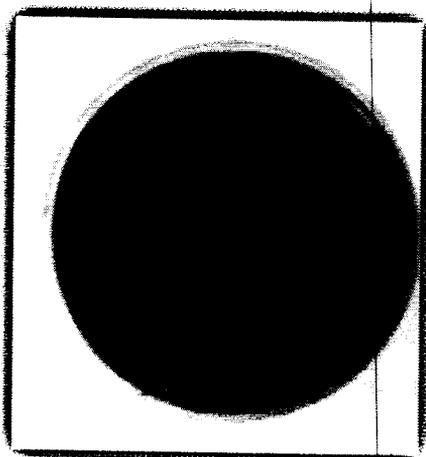


Figure N°43 : Milieu Mac-conkey avant
ensemencement.

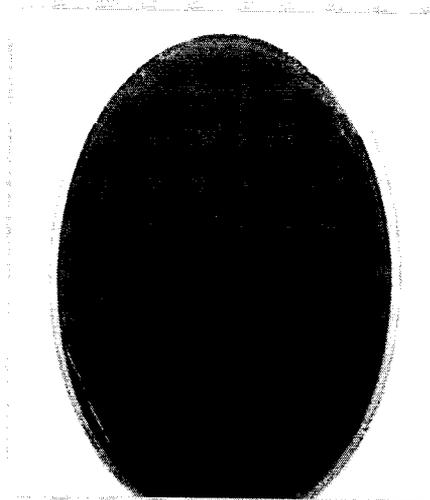


Figure N°44 : Milieu Mac-conkey après
ensemencement et incubation.

La composition de milieux de cultures utilisés

▪ *Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja (TSB) :*

Peptone pancréatique de caséine		17.0g
Peptone papaique de soja	3.0g	
Chlorure de sodium	5.0g	
Phosphate dipotassique	2.5g	
Glucose monohydraté	2.5g	
Eau purifiée		QSP 1000 ml

▪ *Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja (TSA) :*

Peptone pancréatique de caséine		15.0g
Peptone papaique de soja	5.0g	
Chlorure de sodium	5.0g	
Gélose	15.0g	
Eau purifiée		QSP 1000 ml

▪ *Milieu Sabouraud glucosé gélosé avec antibiotique :*

Peptone de viande et de caséine		10.0g
Glucose monohydraté	40.0g	
Gélose	15.0g	
Eau distillée		QSP 1000 ml

Ajouter **0.10g** de benzyl pénicilline sodique et **0.10g** de tétracycline par litre de solution stérile. Ces antibiotiques peuvent être remplacés par chloramphénicol à raison de **50mg** par litre de milieu. Le chloramphénicol est ajouté avant la stérilisation.

▪ *Milieu gélosé de Mac-conkey :*

Hydrolysa pancréatique de gélatine	17.0g
Peptone de viande et de caséine	3.0g
Lactose monohydrate	10.0g
Chlorure de sodium	5.0g
Sels biliaire	1.5g
Gélose	13.5g
Rouge neutre	30mg
Violet cristallisé	1 mg
Eau distillé	QSP 1000 ml

RESUME

Un médicament antidiabétique est un médicament utilisé pour traiter le diabète sucré. Les antidiabétiques agissent en général en abaissant la glycémie. Les antidiabétiques oraux ne sont utilisés que dans le diabète de type 2 où ils peuvent être parfois prescrits en association avec l'insuline.

La metformine est un antidiabétique oral de la famille des biguanides. Il est le médicament de première ligne de choix pour le traitement de diabète de type 2, en particulier en cas de surcharge pondérale, lorsque le régime alimentaire et l'exercice physique ne sont pas suffisants pour rétablir l'équilibre glycémique.

Notre travail a été divisé en deux parties :

La première partie consiste en un recueil bibliographique sur la molécule étudiée.

Dans la deuxième partie, nous proposons une identification et un contrôle de la matière première ainsi qu'un contrôle du produit fini.

L'analyse par chromatographie liquide haute performance du produit fini a mis en évidence les principales substances apparentées qui a conclu à un résultat conforme aux normes en vigueur.

La qualité microbiologique constitue un élément déterminant dans l'acceptabilité ou non d'un produit, compte tenu de l'absence ou la présence, du nombre de certains microorganismes et/ou de la qualité de leur toxines.