



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE CONSTANTINE 3 SALAH BOUBNIDER

FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en
Pharmacie

Intitulé :

Suivi thérapeutique des médicaments à marge thérapeutique étroite :
Défis analytiques.

Réalisé par :

- Benkahoul Hadjer
- Bensettoul Nour Djihane
- Benzerafa Romaïssa
- Bougueffa Eutamene Ramzi

Encadré par :

- Dr. Tehami Soumia

Co-encadré par :

- Pr. Bouzid Djallel

Jury d'évaluation :

- Docteur I. Cherchar
- Docteur A. Kerrada

Année universitaire : 2023-2024

Table des matières

Table des matières

Liste des figures	I
Liste des tableaux.....	II
Liste d'abréviations	III
RÉSUMÉ.....	IV
ABSTRACT	IV
ملخص	IV
Introduction	1
CHAPITRE I.....	3
REVUE DE LITTÉRATURE.....	3
I.1. Histoire de la ciclosporine	3
I.2. Formes galéniques.....	5
I.3. Propriétés physico-chimiques de la ciclosporine.....	5
I.3.1. Structure de la SCA	5
I.3.2. Propriétés physico-chimiques	6
I.4. Pharmacocinétique.....	7
I.4.1. Absorption	7
I.4.2. Métabolisme.....	8
I.4.3. Distribution.....	11
I.4.4. Élimination	13
I.4.5. Facteurs influençant la pharmacocinétique	15
I.5. Pharmacologie de la ciclosporine.....	16
I.5.1. Indications cliniques	16
I.5.2. Mode d'action.....	17
I.5.3. Interactions médicamenteuses	18
I.6. Toxicité de la Ciclosporine	21
I.6.1. Néphrotoxicité	21
I.6.2. Hépatotoxicité.....	22
I.6.3. Neurotoxicité.....	23
I.6.4. Toxicité cardio-vasculaire	24
I.6.5. Facteurs influençant la toxicité.....	24
I.7. Suivi thérapeutique de la ciclosporine	30
I.7.1. Intérêt du suivi thérapeutique de la ciclosporine.....	30

I.7.2. Prélèvements.....	32
I.7.3. Méthodes analytiques de dosage des immunosuppresseurs.....	33
CHAPITRE II.....	40
Matériel et méthode.....	40
II.1 Matériel et produits chimiques utilisés.....	40
II.1.1 Matières premières.....	40
II.1.2 Réactifs	40
II.1.3 Appareillage et équipements	41
II.1.4 Verreries.....	42
II.2 Méthodes	43
II.2.1 Type d'échantillons.....	43
II.2.2 phase pré-analytique	43
II.2.3 Optimisation des conditions chromatographiques	44
II.2.3.1 Choix de la phase stationnaire	44
II.2.3.2 Choix du débit de la phase mobile.....	44
II.2.3.3 Choix du volume d'injection	44
II.2.3.4 Choix de la longueur d'onde	45
II.2.3.5 Choix de phase mobile et la température du four.....	45
II.2.4 Validation de la méthode HPLC	49
II.2.4.1 préparation des solutions standards	49
II.2.4.2 Etude des paramètres de validation	50
CHAPITRE III	52
Résultats et discussion.....	52
III.1.Optimisation de la phase mobile et de la température	52
III.1.1.Modèle cubique spécial.....	56
Le tableau N° 15 représente les Coefficients d'ajustement global pour le modèle cubique spécial.....	56
III.1.2.Optimisation des réponses.....	57
III.1.3.Estimation du rendement d'extraction	59
III.2.Résultats et discussion de validation de la méthode	60
III.2.1. Résultats dans le méthanol.....	61
III.2.2. sur sang	69
Conclusion générale.....	74
Bibliographie.....	75
Annexes.....	V

RÉSUMÉ

La transplantation d'organes solides, telle que les reins, le cœur et le foie, est une solution vitale pour les patients souffrant d'insuffisance fonctionnelle chronique, et le suivi thérapeutique est crucial pour assurer l'efficacité et la sécurité des traitements médicamenteux, particulièrement dans le cadre des greffes rénales où la ciclosporine, un immunosuppresseur inhibiteur de la calcineurine, est essentielle pour prévenir le rejet du greffon. Vu l'importance de ce suivi et les défis analytiques rencontrés lors du dosage de la ciclosporine, nous avons choisi d'optimiser une méthode HPLC-UV. Pour cela, nous avons utilisé un plan d'expérience de mélange pour cette optimisation. La méthode a ensuite été validée conformément aux normes ICH Q2A pour garantir sa fiabilité et sa reproductibilité. Les conditions optimales déterminées sont une température de 75°C et une phase mobile constituée de 70% d'acétonitrile, 11% d'eau et 18,9% de méthanol, le débit de la phase mobile, le volume d'injection et le type de colonne étaient fixés dans la pré-optimisation.

L'optimisation et la validation de cette méthode permettent un dosage précis et fiable de la ciclosporine, crucial pour le suivi thérapeutique des patients greffés rénaux.

Mots clés : Suivi thérapeutique, *Ciclosporine*, HPLC-UV, Plan d'expérience de mélange, Optimisation de méthode, Validation de méthode, Normes ICH Q2A ...

ABSTRACT

Solid organ transplantation, such as kidneys, heart, and liver, is a vital solution for patients suffering from chronic functional failure. Therapeutic monitoring is crucial to ensure the efficacy and safety of medication treatments, particularly in the context of kidney transplants where cyclosporine, an immunosuppressant calcineurin inhibitor, is essential to prevent graft rejection. Given the importance of this monitoring and the analytical challenges encountered during the dosage of cyclosporine, we chose to optimize an HPLC-UV method. For this purpose, we used a mixture design experiment for the optimization. The method was then validated according to ICH Q2A standards to ensure its reliability and reproducibility. The optimal conditions determined are a temperature of 75°C and a mobile phase consisting of 70% acetonitrile, 11% water, and 18.9% methanol. The flow rate of the mobile phase, injection volume, and column type were fixed in the pre-optimization.

The optimization and validation of this method allow for a precise and reliable dosage of cyclosporine, crucial for the therapeutic monitoring of kidney transplant patients

Keywords: Therapeutic drug monitoring, Cyclosporine, HPLC-UV, Mixture design Method, optimization Method validation, ICH Q2A guidelines ...

ملخص

تعد زراعة الأعضاء الصلبة، مثل الكلى والقلب والكبد، حلاً حيويًا للمرضى الذين يعانون من الفشل الوظيفي المزمن، وتعتبر المراقبة العلاجية أمراً بالغ الأهمية لضمان فعالية وسلامة العلاجات الدوائية، وخاصة في سياق زراعة الكلى حيث تعد السيكلوسبورين، وهي مثبط مناعي لمثبطات الكالسينورين، ضرورية لمنع رفض الزرع. نظراً لأهمية هذه المراقبة والتحديات التحليلية التي تمت مواجهتها أثناء قياس جرعة السيكلوسبورين، اخترنا تحسين طريقة HPLC-UV. لهذا الغرض، استخدمنا تصميم تجربة مزيج من أجل التحسين. ثم تم التحقق من الطريقة وفقاً لمعايير ICH Q2A لضمان موثوقيتها وقابليتها للتكرار. تم تحديد الظروف المثلى عند درجة حرارة 75 درجة مئوية ومرحلة متحركة تتكون من 70% أسيتونيتريل، 11% ماء و 18.9% ميثانول. تم تثبيت معدل تدفق المرحلة المتحركة، حجم الحقن، ونوع العمود في مرحلة ما قبل التحسين. يسمح تحسين وتحقق هذه الطريقة بقياس دقيق وموثوق لجرعة السيكلوسبورين، وهو أمر حاسم للمراقبة العلاجية للمرضى الذين خضعوا لزراعة الكلى.