

2m11.2442.1

Université de Montréal

Pharmacocinétique et effet hypoglycémiant
du glyburide chez le volontaire sain

par

Bruno Gagnon

Faculté de Pharmacie

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M. Sc.)
en Sciences Pharmaceutiques

Août 1995

© Bruno Gagnon, 1995



qv

705

U58

1996

v. 005

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

Pharmacocinétique et effet hypoglycémiant du glyburide chez le volontaire sain

Présenté par:

Bruno Gagnon, B. Pharm.

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Président-rapporteur

Président du jury

Directrice de recherche

Codirecteur

Membre du jury

Jean-Guy Besner

France Varin

Jean-Pierre Villeneuve

Nobuharu Yamaguchi

Mémoire accepté le:

22 mars 1996

Sommaire

Le glyburide est un hypoglycémiant oral utilisé dans le traitement du diabète de type II. La pharmacocinétique de cette molécule est connue comme étant très variable, et le profil de dissolution capricieux est en partie responsable de ce phénomène. Les conséquences sur la pharmacodynamie sont inconnues. D'un autre côté, les études de bioéquivalence sont souvent compliquées par la nécessité d'administrer du glucose pour prévenir les effets secondaires reliés à l'hypoglycémie. Dans cette étude, l'effet d'une perfusion continue de glucose I.V. sur la pharmacocinétique du glyburide a été évaluée.

Sept volontaires sains (5 hommes, 2 femmes) ayant un âge moyen de 37 +/- 6 ans ont participé au projet après avoir donné leur libre consentement. Cette étude en chassé-croisé comprenait deux périodes, dont l'ordre d'apparition était assigné de façon aléatoire: une période traitement (glyburide, 5 mg, p.o.) et une période contrôle. Pendant les deux périodes, les volontaires recevaient une perfusion de glucose durant 6 heures ainsi qu'une charge orale de glucose (75 g) une heure après l'administration du médicament à l'étude. Des échantillons sanguins furent collectés à intervalles fréquents et réguliers jusqu'à 24 heures après le début du test.

Pour chaque échantillon sanguin recueilli, la mesure des concentrations plasmatiques suivantes était effectuée: glyburide (mesurée par HPLC avec détection en fluorescence), insuline et peptide C (méthode radioimmunologique disponible commercialement) et glucose (méthode automatisée de glucose oxydase). Les surfaces sous la courbe de ces concentrations en fonction du temps furent ensuite mesurées de 0 à 4 heures. Pour chaque paramètre, l'effet net fut calculé en soustrayant la surface sous la courbe obtenue durant la période contrôle de la surface sous la courbe obtenue durant la période traitement et divisée par la surface sous la courbe de la période traitement (AUC glyb - AUC contrôle / AUC glyb).

Les paramètres suivants ont été dérivés par analyse pharmacocinétique non compartimentale (moyenne \pm SEM): $T_{1/2}$: 2.6 ± 0.2 h; T_{max} = 3.9 ± 0.7 h; Cl_o = 0.24 ± 0.02 L/h.kg; AUC_{0-4} = 119 ± 40 ng.h/mL.

Durant la période traitement, une bonne corrélation ($r = 0.892$, $p = 0.007$) fut observée entre l'effet hypoglycémiant ($\Delta AUC_{glucose}$) et la surface sous la courbe du glyburide.

En conclusion, durant l'administration d'une perfusion continue de glucose I.V., nous avons démontré une corrélation significative entre l'effet du glyburide et sa concentration plasmatique chez des volontaires sains.

Mots-clés

glyburide

hypoglycémifiants oraux

pharmacocinétique

pharmacodynamie

glucose

Pharmacocinétique et effet hypoglycémiant du glyburide chez le volontaire sain

TABLE DES MATIÈRES

Sommaire	ii
Table des matières	v
Liste des tableaux	viii
Liste des figures.....	ix
Liste des abréviations.....	x
Remerciements.....	xii
Chapitre 1. REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	1
1.1 Introduction.....	1
1.1.1 Historique	1
1.1.2 Le diabète sucré non-insulino dépendant.....	4
1.2. Mécanismes d'action des sulfonylurées.....	5
1.2.1 Au niveau de la sécrétion d'insuline des cellules β du pancréas	6
1.2.2 Au niveau de la sensibilité des tissus à l'action de l'insuline.....	8
1.2.3 Modification de la production et de l'élimination du glucose et de l'insuline au niveau hépatique.....	10
1.3. Pharmacocinétique	11
1.3.1 Libération	11
1.3.2 Absorption	13
1.3.3 Distribution	17

1.3.4 Métabolisme	19
1.3.5 Excrétion	21
1.4 Études pharmacocinétique/pharmacodynamie.....	25
1.5 Aspects cliniques.....	33
1.6 Objectifs de la présente étude.....	36
Chapitre 2. MATÉRIEL ET MÉTHODE.....	39
2.1 Méthodes déjà publiées.....	39
2.2 Matériel et méthodes	41
2.2.1 Solvants et réactifs.....	41
2.2.2 Solutions standards	41
2.2.3 Préparation de la courbe d'étalonnage	42
2.2.4 Extraction du plasma.....	42
2.2.5 Description du système chromatographique	42
2.3 Résultats.....	43
2.3.1 Spécificité.....	43
2.3.2 Sensibilité.....	45
2.3.3 Droite d'étalonnage et linéarité	45
2.3.4 Reproductibilité	45
2.3.5 Pourcentage de récupération.....	47
2.3.6 Exactitude.....	47
2.3.7 Stabilité	47
Chapitre 3. PROTOCOLE CLINIQUE	48
Article: " <i>Hypoglycemic effect and pharmacokinetics of glyburide in healthy volunteers receiving an I.V. glucose perfusion</i> "	
Abstract	49
Introduction	51
Methods.....	53

<i>Patients</i>	53
<i>Clinical Protocol</i>	54
<i>Sample Analysis</i>	55
<i>Data Analysis</i>	56
<i>Statistical Analysis</i>	58
Results	59
<i>Pharmacokinetic Parameters</i>	59
<i>Pharmacodynamic Parameters</i>	59
Discussion.....	62
References.....	71
Chapitre 4. DISCUSSION ET CONCLUSION GÉNÉRALES	80
4.1 Discussion	80
4.2 Conclusion.....	93
BIBLIOGRAPHIE.....	95

Liste des tableaux

Tableau I	Gyburide pharmacokinetic data	p. 69
Tableau II	Glyburide pharmacodynamic data	p. 70

Liste des figures**Chapitre 1**

Figure 1	Structure chimique des sulfonylurées	p. 2
Figure 2	Mécanisme d'action au niveau cellulaire	p. 7
Figure 3	Métabolisme du glyburide par le foie	p. 20
Figure 4	Excrétion du glyburide dans l'urine et dans la bile	p. 23
Figure 5	Exemple de relation PK/PD	p. 31

Chapitre 2

Figure 1	Chromatogramme	p. 44
Figure 2	Droite d'étalonnage du glyburide dans le plasma	p. 46

Chapitre 3

Figure 1	Mean plasma levels of glyburide in 7 healthy subjects after administration of oral glyburide 5 mg.	p. 77
Figure 2	Mean blood glucose, insulin and C peptide plasma levels in 7 healthy subjects during the treatment and during the baseline period.	p. 78
Figure 3	Pharmacokinetic / pharmacodynamic correlation between individual glucose Δ AUC from 0 to 4 hours and glyburide AUC from 0 to 4 hours	p. 79

Chapitre 4

Figure 1	Courbes de concentrations plasmatiques décrivant un "effet de nez"	p. 83
Figure 2	Concentrations moyennes de glucose pour 2 préparations de glyburide	p. 86

Listes des abréviations

Δ (delta):	différence de deux résultats
ADH:	Anti Diuretic Hormone
ADP:	adenosine diphosphate
AUC:	Area Under the (plasma concentration) Curve
AUMC:	Area Under the Moment Curve
B.P.:	British Pharmacopea
conc.:	Concentration
C.V.:	Coefficient de variation
cAMP:	AMP cyclique.
Cl _o :	Clairance orale
C _{max} :	Concentration maximale
F.D.A.	Food and Drug Administration
G.-I.:	Gastro-intestinal
GC:	Gaz Chromatography
HGO:	Hypoglycémiants oraux
HPLC:	High Performance Liquid Chromatography
I.V.:	Intra-veineux
IDDM:	Insulin Dependant Diabetes Mellitus
K _{el} :	Constante d'élimination

MRT:	Mean Residual Time
NIDDM:	Non Insulin Dependant Diabetes Mellitus
pH	Potentiel d'Hydrogène (concentration d'hydrogène dans une solution)
p.o.:	per os, par la bouche
PD:	Pharmacodynamie
PK:	Pharmacocinétique
RIA:	Radio Immunologic Assay
SEM:	Standard Error of the Mean (Erreur Type)
SSC:	Surface sous la courbe (concentrations plasmatiques)
$T_{1/2}$:	Temps de demie-vie d'élimination
TLC:	Thin Layer Chromatography
T_{max} :	Temps requis pour atteindre la concentration maximale
Vd_{ss} :	Volume de distribution à l'équilibre (ss = steady state)
Vd:	Volume de distribution apparent

Remerciements

Je tiens avant-tout à remercier mon directeur de recherche, Dr France Varin, mon co-directeur, Dr Jean-Pierre Villeneuve, M. The Minh Tu, pour ses précieux conseils au laboratoire et son support technique ainsi que mes collègues étudiants gradués.

Merci au Dr Raymond Lepage pour son aide lors du dosage de glucose, peptide C et insuline à l'hôpital St-Luc. Merci au Dr Daphna Fenyves pour avoir supervisé des volontaires lors de l'essai clinique. Merci à Madame Suzanne Bélanger, infirmière de recherche.

Finalement merci à mes superviseurs chez Marion Merrell Dow Canada pour leur support financier, leur enseignement et leur confiance. Merci à Louise pour son encouragement quotidien depuis le début.

Chapitre 1

Revue de la littérature

1.1. INTRODUCTION

Le glyburide fait partie de la classe thérapeutique des hypoglycémiants oraux. C'est une sulfonylurée de seconde génération beaucoup plus puissante que les produits de première génération (figure 1). Le glyburide (qui porte le nom de glibenclamide ailleurs qu'en Amérique du Nord) est, depuis quelques années, l'hypoglycémiant oral le plus prescrit au monde seul ou en combinaison (Prendergast, 1984; Spraul et al., 1989).

1.1.1 Historique

Découverte durant la Deuxième Guerre Mondiale, la classe des sulfonylurées connut un développement régulier jusqu'à l'apparition des secondes générations vers 1970, ce qui accéléra le rythme des recherches et mena à la synthèse d'une myriade de principes actifs différents. C'est en 1939 qu'un groupe de chercheurs français dirigé par Marcel Janbon découvrit

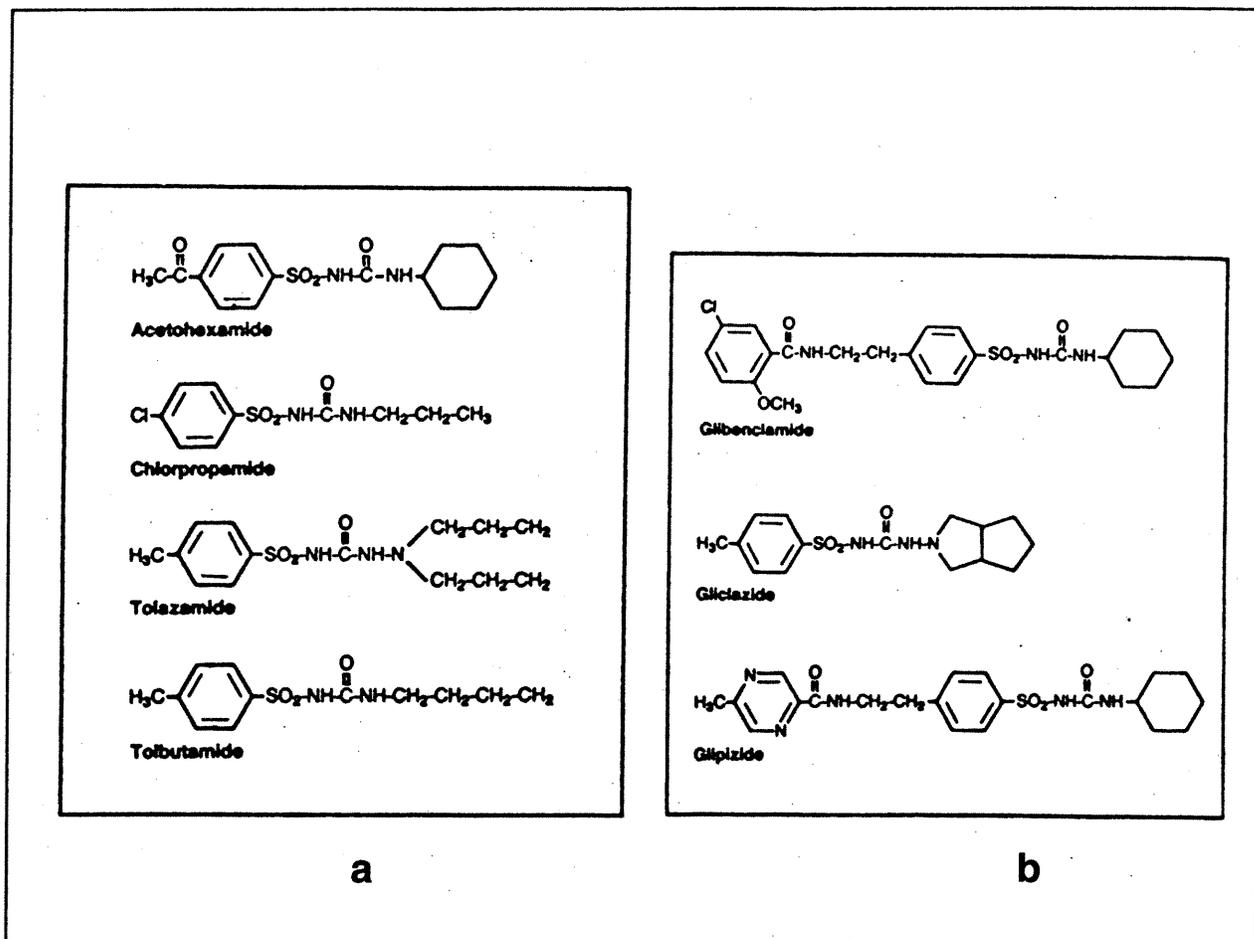


Figure 1: Structure chimique des sulfonylurées

- a) quelques sulfonylurées de 1ère génération
- b) quelques sulfonylurées de seconde génération
(incluant le glyburide ou glibenclamide).

par hasard que les dérivés sulfamidés (antibactériens utilisés alors pour combattre la fièvre typhoïde) induisaient une importante hypoglycémie chez certains patients (Boyd et al, 1990; Feldman, 1985; Gerich, 1989; Janbon, 1942). Par la suite, August Loubatière, un physiologiste de Montpellier (France), démontra clairement l'activité hypoglycémiante de ces composés chez le chien (Loubatière, 1944). Une longue série d'investigations sur les dérivés de la molécule menèrent, en 1956, au développement de la carbutamide, la première sulfonylurée. Un an plus tard, la tolbutamide apparut sur le marché, suivie, sur une période de 10 ans, de l'acétohexamide, de la tolazamide et du chlorpropamide (Feldman, 1985; Gerich, 1989). Entre 1969 et 1973, des molécules plus actives furent lancées sur le marché européen. Elles furent qualifiées de "seconde génération" et il s'agissait du glyburide et du glipizide (qui ne firent pourtant leur apparition sur le marché américain qu'en 1984)(Jaber et al., 1990; Karam, 1987; Shank et al., 1986). Les études pharmacologiques se sont poursuivies à bon rythme dans l'espoir d'éclaircir le mécanisme d'action de cette classe thérapeutique, ce qui mena à la synthèse de plusieurs sulfonylurées de seconde génération dont quelques-unes furent commercialisées dernièrement. Le gliclazide est la plus récente molécule à avoir été mise en marché au Canada, ceci en 1990 (Badian et al., 1992). D'autres hypoglycémiants oraux de cette classe sont présentement en développement comme par exemple, le glimépiride (Badian et al, 1992) et le glisoxepide (Fuckel et al, 1992). Les sulfonylurées étant une classe pharmacologique utilisée à travers le monde dans le traitement du diabète non-

insulino dépendant, le glyburide permet de développer un modèle représentatif de pharmacocinétique et de pharmacodynamie pour ce champ thérapeutique.

1.1.2 Le diabète sucré non-insulino dépendant

Le diabète sucré non-insulino dépendant ou diabète de type II représente environ 80% à 90% des 15 millions d'Américains atteints de diabète (Gerich, 1985; Kennedy et al., 1988). La grande majorité des personnes atteintes (60 à 90%) sont également obèses (Rodger, 1991). La maladie est caractérisée par une déficience au niveau de la sécrétion de l'insuline ainsi que par une résistance des tissus à cette dernière (Chanson, 1991; Lebovitz, 1990; Gerich, 1985).

L'insulinosécrétion en réponse à l'administration de glucose est diminuée de façon caractéristique chez les patients diabétiques mais ce seul mécanisme ne suffit pas à expliquer la pathogénèse (De Fronzo et al., 1983; Groop et al., 1986; Nair et al., 1993). Lorsqu'on aborde le thème de la résistance à l'insuline, on fait souvent la distinction entre ce qui se passe au niveau du foie et ce qui se passe aux tissus périphériques comme par exemple, les muscles (Caro, 1990). On a démontré que le foie "diabétique" continue à produire du glucose malgré une glycémie élevée. De plus, la captation hépatique du glucose, qui est la voie d'élimination primaire du glucose, est fortement diminuée, ce qui contribue à l'hyperglycémie (De Fronzo, 1988). Sur le plan moléculaire, on a localisé ces phénomènes à trois niveaux: transport

membranaire du glucose, l'enzyme glycogène synthétase et la pyruvate déshydrogénase (ces 2 enzymes étant responsables du stockage et de l'oxydation du glucose) (Chanson, 1991).

La première étape du traitement de cette affection est non médicamenteuse. Le patient doit se soumettre aux conditions suivantes: perdre du poids, suivre un régime à teneur réduite en hydrates de carbone et faire de l'exercice (Rodger, 1991; Tal, 1993; The 11th International Immunology and Diabetes Workshop, 1991). Ces mesures permettent d'améliorer la tolérance au glucose et d'augmenter la sensibilité à l'insuline (De Fronzo et al., 1983). Cette phase doit durer au moins 4 à 6 mois (Gerich, 1989). Si on échoue à régulariser la glycémie du patient à cette étape, on devra passer à un traitement pharmacologique: l'administration régulière d'un hypoglycémiant oral comme le glyburide (De Fronzo et al., 1983; Gerich, 1989; Kennedy et al., 1988; Marchetti et al., 1991).

1.2 MÉCANISMES D'ACTION DES SULFONYLURÉES

Même si les sulfonylurées sont utilisées pour contrôler le diabète de type II depuis les années soixante, leur mécanisme d'action détaillé ne commence à être élucidé qu'une quinzaine d'années plus tard. La complexité de la pharmacologie des sulfonylurées peut s'expliquer par l'existence simultanée de plusieurs mécanismes d'action: on leur attribue un effet direct sur le pancréas mais également une action extra-pancréatique, beaucoup plus difficile à cerner.

Finalement, des études ont démontré que, suite à l'usage chronique de ces médicaments, de nouveaux mécanismes d'actions s'ajoutaient et assuraient un effet thérapeutique soutenu.

1.2.1 Au niveau de la sécrétion d'insuline des cellules β du pancréas

Les sulfonylurées ont comme effet immédiat de libérer l'insuline des cellules pancréatiques. C'est le premier des mécanismes d'action à avoir été identifié (Feldman 1985; Gerich 1989; Kahn et al., 1990). Il a été prouvé à plusieurs niveaux et est reconnu de façon unanime par la communauté scientifique, du moins comme explication de base à la diminution de la glycémie suite à une dose unique de glyburide (O'Meara et al., 1990; Sturgess et al., 1985). La synthèse de l'insuline n'est pas affectée comme telle mais le tissu pancréatique devient plus sensible au message du glucose sanguin de sorte qu'une moins grande concentration stimule la sécrétion d'insuline (Garrel et al., 1987; Gerich, 1989; O'Meara et al, 1990).

Au niveau cellulaire, cette première action s'explique de la façon suivante (figure 2):

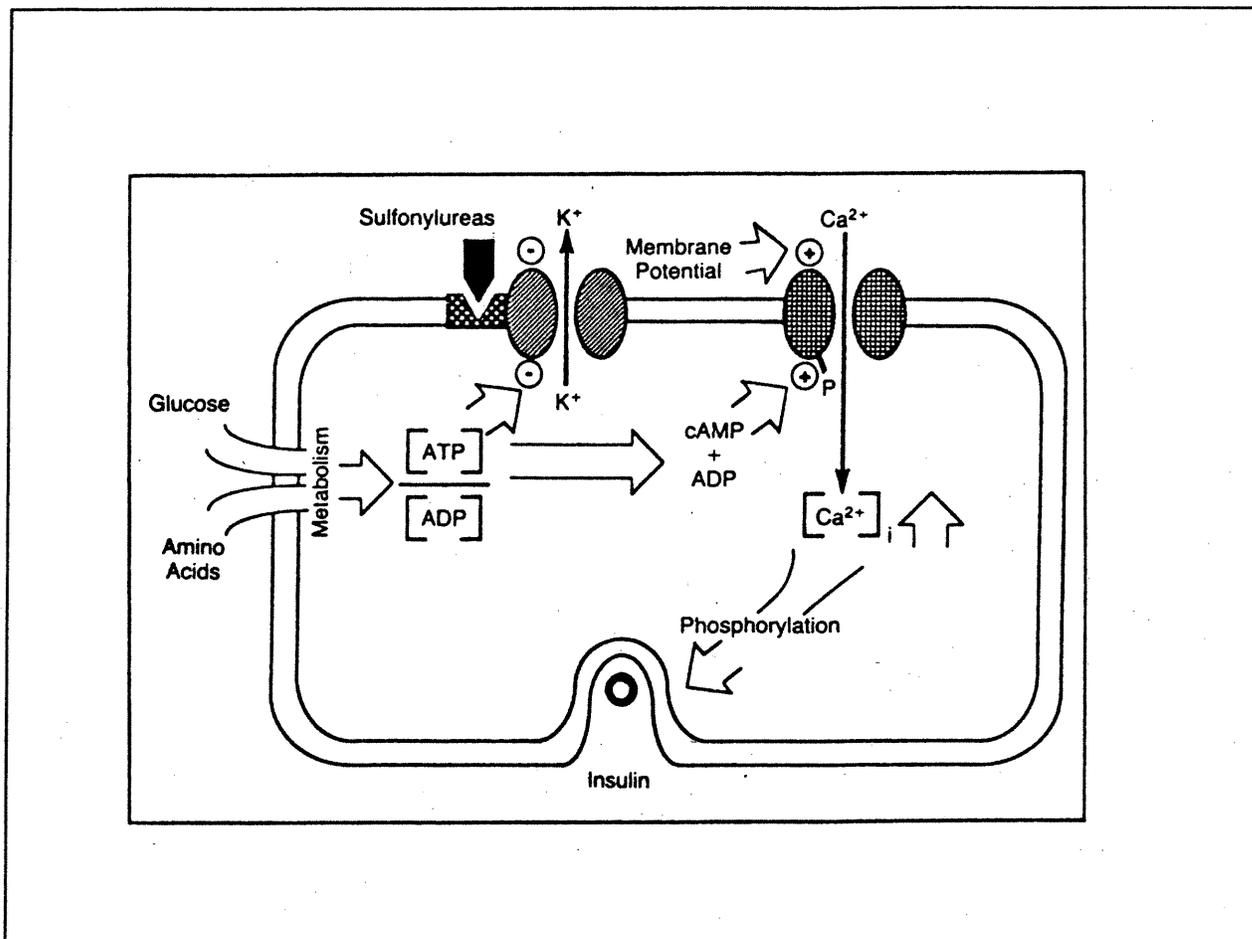


Figure 2: Mécanisme d'action au niveau cellulaire

- A) Le glyburide se lie au récepteur membranaire des cellules β des îlots de Langerhans
- B) Ceci interfère avec l'activité normale de la pompe ATP-K⁺ (par stimulation de l'adényl cyclase et inhibition de la phosphodiesterase)
- C) Cette inhibition permet aux ions calcium (Ca²⁺) d'entrer dans la cellule
- D) Ce transfert donne un signal pour la libération de l'insuline

(Asmal et al., 1984; Boyd et al., 1990; Gavin, 1990; Karam, 1987; Kolterman et al., 1981; Melander et al. 1989; Simonson et al., 1984;).

Le récepteur serait étroitement associé aux canaux potassium sensibles à l'ATP. Les sulfonylurées peuvent s'y lier et produire une séquence d'événements similaire à celle produite habituellement par les nutriments (Lebovitz , 1990).

La *liaison* au récepteur pourrait expliquer la différence de puissance entre le glyburide, le glipizide et les sulfonylurées de première génération (Hellman et al., 1984). En effet, Melander et al. (1989), dans une récente revue de la littérature, suggèrent que les deuxièmes générations ont une plus grande spécificité pour le récepteur d'où leur pouvoir hypoglycémiant jusqu'à 1000 fois supérieur.

1.2.2 Au niveau de la sensibilité des tissus à l'action de l'insuline

C'est à ce stade que le mécanisme d'action comprend une composante extra-pancréatique. En effet, l'activité de l'insuline sur le transport du glucose aux muscles et aux tissus adipeux serait modifiée. Bien qu'il soit encore incertain s'il s'agit d'un effet direct du glyburide ou plutôt une conséquence de la diminution de la glycémie, il est démontré que l'insuline endogène verra son effet augmenté par la prise du médicament (Garrel et al., 1987; Melander et al., 1989). Une théorie suggérant une augmentation du nombre de récepteurs à l'insuline a suscité une certaine polémique (Groop et al., 1987). Une mise à jour récente sur l'usage chronique des sulfonylurées rapporte des résultats

contradictoires sur cette question et indique qu'il n'y a toujours pas de consensus à ce sujet (Lebovitz, 1990).

Selon Kolterman et al. (1981), il se produirait plutôt une augmentation de la *liaison* aux récepteurs et ceci, uniquement après une certaine durée de traitement (jusqu'à 18 mois selon leurs travaux). Ce groupe mentionne également que l'insuline agit plus fortement en périphérie sur un site post-pancréatique.

Enfin, Feldman (1985) et Kolterman (1981), dans leur revue de la pharmacologie des sulfonylurées, mettent l'accent sur le concept de ce mécanisme extra-pancréatique. Ils observent qu'après deux mois d'augmentation de la sécrétion d'insuline par le glyburide, les concentrations sanguines de l'hormone redeviennent similaires aux valeurs antérieures au traitement médicamenteux (Balant et al., 1975; Duckworth et al., 1972). Notons que ce phénomène se produit en dépit du maintien de l'effet hypoglycémiant (Groop et al, 1987). McGuinness et Cherrington (1990) observent également que l'augmentation de la sécrétion de l'insuline n'est pas soutenue. Bref, le fait que la glycémie puisse être contrôlée sans que l'insuline ne soit hypersécrétée suggère fortement que l'augmentation des concentrations plasmatiques d'insuline n'est pas le seul mécanisme d'action des sulfonylurées.

1.2.3 Modification de la production et de l'élimination du glucose et de l'insuline au niveau hépatique

Un troisième mécanisme expliquant l'activité du glyburide serait qu'il diminue la production endogène du glucose tout en augmentant son élimination au niveau du foie (Davidson et al., 1987; Feldman 1985; Groop et al., 1988; McGuinness et al., 1990; Simonson et al. 1984). Encore une fois, cet effet ne pourrait être discerné qu'après 3 mois d'usage chronique (Kolterman et al., 1981). On remarque donc, de nouveau, une progression des mécanismes d'action en fonction de la durée de traitement.

Cependant, tous les aspects de ce mécanisme ne sont pas totalement éclaircis: McGuinness et Cherrington (1990) expliquent la persistance du contrôle d'une glycémie normale par une action nouvelle et distincte du médicament sur le foie. Seules certaines études *in vitro* ont permis d'éclaircir le mécanisme postulé (Davidson et al., 1987; Elsenhans et al., 1986; White et al., 1988). Les résultats suggèrent que le glyburide possède la propriété d'inhiber la gluconéogenèse ainsi que la glycogénolyse par les cellules parenchymateuses hépatiques tout en augmentant la recaptation hépatique du glucose (Caro, 1990).

On suppose aussi que les sulfonylurées peuvent diminuer sélectivement le catabolisme de l'*insuline* au niveau des cellules endothéliales vasculaires du foie et ainsi favoriser sa biodisponibilité (Almer et al., 1982; Groop et al., 1988;

Scheen et al., 1984; Mulder et al., 1991). Il n'est pas déterminé si ce phénomène est relié ou non au catabolisme du glucose.

1.3 PHARMACOCINÉTIQUE

1.3.1 Libération

Les premières études de biodisponibilité du glyburide ont mis en évidence un problème de dissolution du médicament en milieu gastro-intestinal. La biodisponibilité variait entre 45% et 95%, selon la formulation (Balant et al., 1974; Birk et al., 1978; Chalk et al., 1986; Lewis AAG, 1970; Prendergast, 1984; Schmidt et Petrides, 1969; Takla 1981).

Entre 1969 et 1972, les études chez l'animal et chez l'homme ont été réalisées avec une formulation de glyburide qui est maintenant désuète (Heptner et al., 1969; Rupp et al., 1972; Takla, 1981; Neugebauer et al., 1985). Une nouvelle formulation galénique possédant un taux de libération plus élevé fut ensuite développée (Rupp et al., 1972). Ceci mena à une meilleure absorption intestinale, soit environ 70% (Haupt et al., 1984; Karttunen et al., 1985; Neugebauer et al., 1985; Pearson, 1985). En effet, la dissolution est dépendante de la grosseur des particules (Fucella et al., 1973). Un Coulter Counter a servi à donner une évaluation quantitative des spécifications requises: 90% des particules de glyburide doivent avoir un diamètre inférieur à 20 μ dont 55% d'entre elles inférieures à 10 μ (Fucella et al., 1973). Deux formulations comportant des surfaces spécifiques différentes ont été

comparées dans une étude de pharmacocinétique: le produit affichant une surface spécifique de 1,5 m²/g avait, tel que prévu, une meilleure absorption gastro-intestinale que le produit ayant une valeur de 0,88 m²/g. En fait, les concentrations plasmatiques de glyburide avaient presque doublé (Balant et al., 1974).

Malgré le fait que, depuis plusieurs années, on jugeait la biodisponibilité du glyburide satisfaisante (Ferner et al., 1987), des publications récentes mentionnent que l'absorption peut encore être améliorée (Meyer et al., 1989). En effet, une formulation contenant 3,5 mg de glyburide issue d'une technologie différente serait bioéquivalente au classique comprimé de 5 mg distribué sur le marché mondial (Molz et al., 1989; Neugebauer et al., 1985). La biodisponibilité absolue, telle que définie par le ratio de l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques en fonction du temps (p.o. vs I.V.), était totale: le taux d'absorption atteint était de 102% pour la nouvelle formulation orale (Neugebauer et al., 1985). Cette formulation n'est toujours pas disponible en Amérique du Nord. Le glyburide non-micronisé demeure l'agent hypoglycémiant oral le plus prescrit aux États-Unis et au Canada.

Cependant, il faut concéder que la dissolution *pourrait* être une étape limitante dépendamment de la source de glyburide (Sartor, 1980; Takla, 1981). Selon une lettre à l'éditeur d'un périodique sud-africain, des tests de dissolution in vitro comparant du glyburide en comprimé venant de 2 sources de matière

première différentes ont mené à des problèmes de bioéquivalence. La différence venait du fait que la matière première (la poudre de glyburide pur) était disponible en deux formes: micronisée et non-micronisée. La forme non-micronisée a été dissoute à 85% en 60 minutes tandis que la micronisée avait déjà atteint 100% de dissolution en 30 minutes (Mavrandonis, 1989).

En bref, il est important de souligner que différentes formulations de glyburide puissent démontrer différents taux de dissolution. Ceci a pour conséquence clinique de modifier la vitesse et, possiblement, le degré d'absorption du comprimé lorsqu'ingéré par un patient. Même l'effet hypoglycémiant du glyburide pourrait s'en trouver changé (Meyer et al., 1989) La comparaison entre les études devraient toujours tenir compte des différences potentielles entre la formulation des comprimés.

1.3.2 Absorption

Il est difficile de comparer la biodisponibilité du glyburide des études récentes avec les résultats des premières études puisqu'on décrit rarement le protocole expérimental (e.g. les heures d'administration, la prise concomitante d'aliments) (Balant, 1981). Cependant, l'absorption au niveau gastro-intestinal du glyburide semble jouer un rôle dans la pharmacocinétique capricieuse de ce médicament. La plupart des auteurs observent de grandes variations inter et intra-individuelles (El Sayed et al., 1989; Balant 1981; Schmidt et al., 1973) pour les concentrations maximales (C_{max}) et le temps requis pour atteindre ces

valeurs (T_{max}). Suite à la prise orale d'un comprimé de glyburide, le C_{max} varie entre 120 et 360 mg/L selon les études tandis que le T_{max} se situe entre 2 et 6 heures (Balant, 1989; Ings et al., 1982; Melander et al., 1989; Takla, 1981). Notons qu'on a aussi mesuré le T_{max} suite à l'administration d'une solution orale: comme on peut s'y attendre, l'absorption est plus rapide car le T_{max} est atteint en 30 minutes (Ferner et al., 1987).

Certains facteurs contribuent à influencer l'absorption et mènent aux variations observées. Ces facteurs peuvent même influencer de façon significative l'effet clinique (El Sayed et al., 1989). Il en est ainsi du taux et du pourcentage de dissolution tel que discuté précédemment. Le nouveau comprimé de glyburide micronisé développé par Hoechst en Europe démontrait une absorption plus rapide: le C_{max} était atteint en 1,5 h comparativement à un délai atteignant jusqu'à 4 h pour leur comprimé standard (Haupt et al., 1984). Ceci avait des répercussion sur les profils de glycémie. La formulation a donc une grande influence sur l'absorption gastro-intestinale du médicament.

Une autre variable importante influençant la pharmacocinétique du glyburide est le type de population chez qui on a testé le médicament. Les critères d'éligibilité varient d'une étude à l'autre. Ceci a pour conséquence de fournir des groupes de sujets différents les uns des autres. Des volontaires sains (Appel et al., 1994; Ayanoglu et al., 1983; El Sayed et al., 1989; Hartman et al., 1990; Molz et al., 1989; Neuvonen and Kivisto, 1991;

Schwinghammer et al., 1991; Spraul et al., 1989), des patients diabétiques (Balant et al., 1977; Coppack et al., 1990; Haupt et al., 1984; Hoffman et al., 1994; Sartor et al., 1983;), des gens âgés (Schwinghammer et al., 1991) ou mêmes des patients souffrant d'insuffisance rénale (Balant et al., 1975) ont tous été impliqués dans des essais cliniques avec le glyburide. La population qui utilise cet hypoglycémiant peut donc avoir certaines répercussions sur l'absorption. Les malades souffrant de neuropathie diabétique ou de retard de la vidange gastrique sont susceptibles de présenter un retard important dans l'absorption du médicament (Gwilt et al., 1991; Ikegami et al., 1986). Une pathologie ou une médication concomitante influençant le pH gastrique changera également le profil d'absorption car en tant qu'acide faible, le glyburide voit sa solubilité améliorée par un pH plus élevé (Fleishaker, 1991; Hartman et al., 1990; Kivisto, 1993; Perti et al., 1991; Schwinghammer et al., 1991).

La prise d'un repas avec le glyburide n'influence pas de façon cliniquement significative sa biodisponibilité totale (Balant, 1981; Kolterman et al., 1981; Prendergast, 1984). Aucune modification du profil des concentrations n'a été remarquée après la co-administration de glyburide et d'un repas standard (400 mL de lait partiellement écrémé, 2 tranches de pain, 5 g de beurre et un café noir non sucré pour un total de 1800 kJ) (Sartor et al., 1980). Par contre, une étude notait que les niveaux plasmatiques de glyburide augmentaient rapidement lors de l'administration d'un repas 4 heures post-dose. (Ikegami et

al., 1986). L'explication fournie pour expliquer ce phénomène était que la motilité gastrique, augmentée par la nourriture, accélérât l'absorption du médicament. Il faut cependant prendre note que la consommation simultanée de fibres alimentaires avec la prise du glyburide diminuerait de 50% le C_{max} de l'hypoglycémiant. C'est du moins ce que remarquent Shima et al. (1983) en combinant la prise d'un comprimé de glyburide, d'un déjeuner et de 3,9 g de glucomannan, une fibre alimentaire prescrite au Japon. Dans la pharmacothérapie nord-américaine et européenne, la littérature ne fait pas mention de restriction alimentaire pour l'utilisation du glyburide.

Finalement, il est difficile d'évaluer l'influence de l'horaire d'administration sur l'absorption du médicament. Il n'existe vraisemblablement pas de consensus sur cette variable. On administre le glyburide le plus souvent après un jeûne nocturne de 10 à 12 heures entre 7h00 et 8h00 A.M. (Ayanoglu et al., 1983; Balant, 1974; El Sayed et al., 1989; Sartor et al., 1980).

Bref, que ce soit dû aux propriétés physico-chimiques de la formulation orale ou aux conditions patho-physiologiques associées aux sujets à qui l'on administre le produit, il est évident que l'absorption est une des variables majeures responsables des importantes variations inter-individuelles dans la pharmacocinétique du glyburide.

1.3.3 Distribution

Le volume de distribution apparent du glyburide est relativement petit, variant entre 9 et 40 L, soit de 0.13 à 0.57 L/kg pour un homme de 70 kg (Asmal et al, 1984; Feldman, 1985; Prendergast, 1984; Rogers et al., 1982; Takla, 1981). Ceci est caractéristique d'un médicament fortement lié aux protéines plasmatiques (Balant, 1981; Labaune, 1988; Rogers et al., 1982; Wagner, 1993). Le pourcentage de liaison est de 97 à 99% et l'albumine est la principale protéine fixatrice (Prendergast, 1984; Rogers et al., 1982; Takla, 1981). Le glyburide ne se lie pas de façon significative aux cellules sanguines (Takla, 1981). La concentration plasmatique de protéines, et en particulier de l'albumine, pourrait influencer les propriétés pharmacocinétiques du glyburide puisque celui-ci y est fortement lié (Schwinghammer et al., 1991; Winter, 1988). Ceci demeure controversé car les sites de liaison aux protéines plasmatiques sont difficilement saturables en raison de leur très grand nombre (Fucella et al, 1973; Notari, 1980).

Les études de pharmacocinétique sur le glyburide ont utilisé différents modèles de distribution, soit mono-compartmental (Chalk et al., 1986; Neugebauer et al., 1985; Rupp et al., 1969;) ou bi-compartmental (Coppack et al., 1990; Rogers et al., 1982; Shima et al., 1983). Vingt-quatre heures après une dose orale unique de 5 mg de glyburide, aucune accumulation dans le sang ne se produit (Ferner et al., 1987). Rogers et al. (1982) ont aussi démontré qu'après

une dose I.V. de 1 mg, la cinétique du glyburide suivait un modèle de cinétique mono-compartimental.

Un modèle particulier de distribution dans un compartiment dit "profond" a aussi été décrit (Balant et al. 1975, 1977; Ferner et al., 1987; Feldman, 1985; Rupp et al., 1972). Balant (1977) a émis l'hypothèse que l'augmentation de la demi-vie du glyburide après 15 jours d'administration quotidienne était un signe de l'existence du compartiment profond. Il considère qu'après une certaine durée de traitement l'accumulation dans ce compartiment atteint un état d'équilibre et est plus facilement détectable. Cette dernière notion est difficile à prouver à cause du manque de sensibilité des méthodes de dosage (Pearson et al., 1986; Coppack et al., 1990). Rappelons que plusieurs spécialistes considèrent qu'un problème de spécificité croisée entre le glyburide et ses métabolites apporte un degré d'erreur supplémentaire lors de l'utilisation du RIA (Coppack et al., 1990; Ferner et al., 1987; Marchetti et al., 1989; Royer et al., 1976). La notion de compartiment profond pourrait être un exemple d'interprétation erronée causée par un problème d'analyse pharmaceutique. Le manque de spécificité de la méthode d'analyse entre la substance-mère et ses métabolites aurait conduit à l'élaboration de cette théorie. La controverse persiste mais beaucoup d'auteurs supportent ce manque de fiabilité de la méthode et mettent en doute la théorie d'accumulation du médicament dans ce compartiment (Coppack et al., 1990; Ferner et al., 1987; Pearson et al., 1986).

1.3.4 Métabolisme

Le glyburide, comme les autres sulfonylurées, est métabolisé de façon extensive au niveau du foie chez l'humain (Feldman, 1985; Karam, 1987; Takla, 1981; Willet et al., 1990). La voie métabolique majeure en est une d'hydroxylation de l'anneau cyclohexyl en position 3 et 4 (figure 3). Chez le volontaire sain, moins de 6% d'une dose orale est excrétée dans l'urine sous forme inchangée (Balant et al., 1975; Fuccella et al., 1973; Spraul, 1989).

Les 2 métabolites principaux sont le 4-trans-hydroxyglyburide et le 3-cis-hydroxyglyburide qui possèdent respectivement 0,25% et 2,5% de l'activité hypoglycémiant du glyburide chez le lapin (Balant, 1981; Feldman, 1985; Heptner et al., 1969; Takla, 1981;). Il existe un troisième métabolite non identifié, que l'on peut détecter sous forme de traces dans l'urine (Balant et al., 1975; Lewis, 1970).

Le métabolisme peut varier d'un sujet à l'autre suite aux variations inter-individuelles de l'activité du cytochrome P-450, enzyme responsable du métabolisme des sulfonylurées (Feldman, 1985). Ce phénomène est décrit pour d'autres agents comme la phénytoïne, la nortriptyline et les β -bloqueurs. Les isoenzymes sont différents de ceux impliqués dans l'hydroxylation de la débrisoquine et de la méphénytoïne (polymorphique) (Dahl-Puustinen et al, 1990). Les cytochromes P-450 responsables de l'hydroxylation (tout au moins

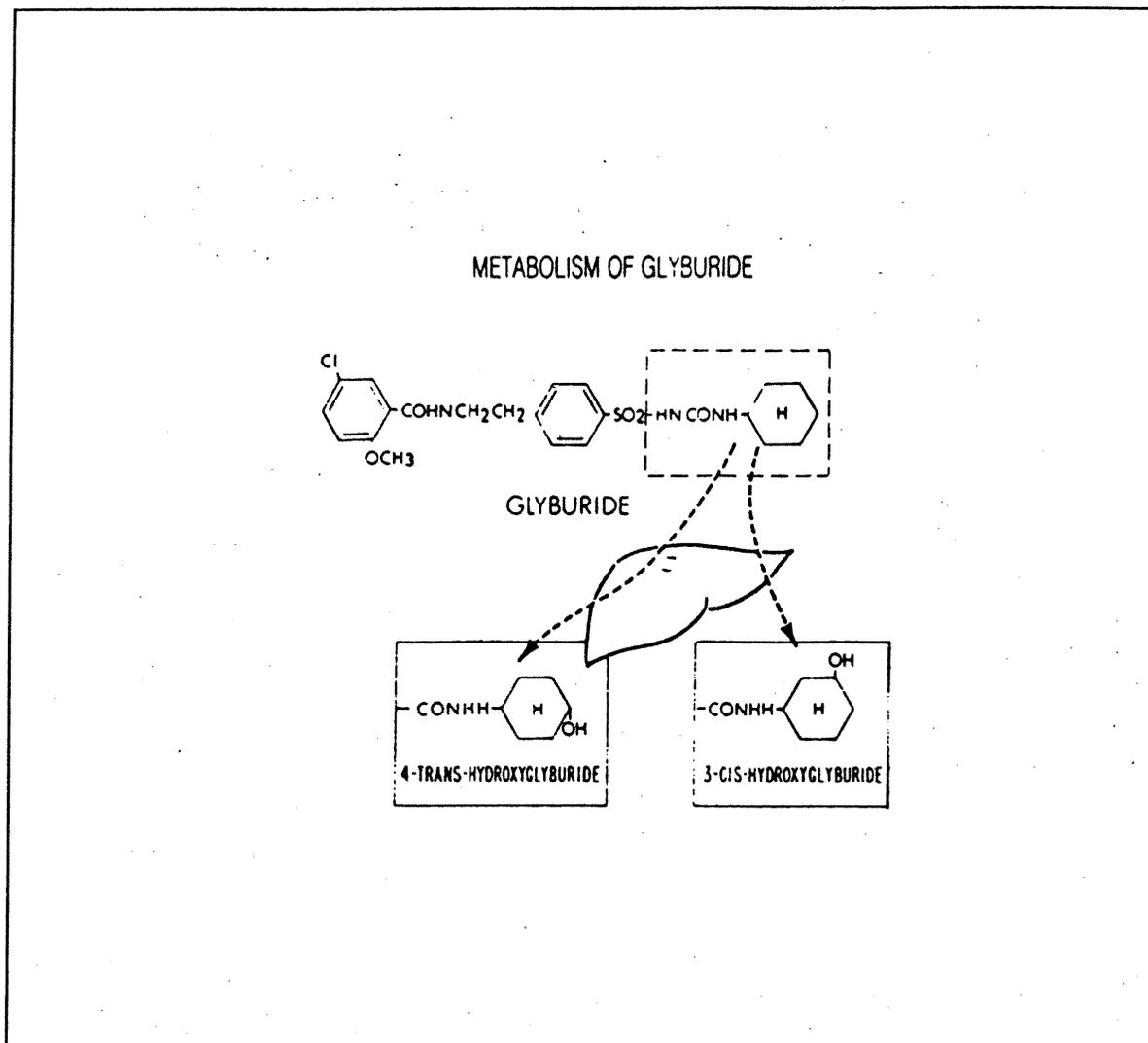


Figure 3: Métabolisme du glyburide par le foie

Tiré de Feldman, 1985

pour la tolbutamide) sont les 2C8, 2C9 et 2C10 qui sont tous étroitement liés (Murray, 1992).

Même s'il est documenté que des variations pharmacogénétiques influencent le métabolisme de la tolbutamide, aucune étude n'a pu démontrer ce phénomène pour le glyburide (Dahl-Puustinen et al, 1990; Darby et al., 1972; Peart et al., 1989; Spraul et al., 1989). Il n'existerait donc pas de polymorphisme génétique avec cette sulfonylurée et le mode d'élimination serait relativement uniforme (Peart et al., 1989; Spraul et al., 1989).

1.3.5 Excrétion

Même si le glyburide peut être utilisé, en pratique, comme dose unique quotidienne, sa demi-vie est relativement courte. Ainsi, après une seule dose intra-veineuse, les valeurs rapportées varient entre 1 et 2 heures (Feldman, 1985; Ings et al., 1982; Karam, 1987; Prendergrast, 1984; Rogers et al., 1982; Willet et al., 1990); alors que par voie orale une $T_{1/2}$ variant de 2 à 4 heures est rapportée (El-Sayed et al., 1989; Marchetti et al., 1989; Pearson, 1985; Pendergrast, 1984; Schwinghammer et al., 1991). Les différences observées entre les $T_{1/2}$ p.o. et I.V. sont probablement dûes à la dose administrée et à la sensibilité de la méthode d'analyse. Suite à une administration chronique, une certaine accumulation se produit avant d'atteindre le point d'équilibre (Balant et al., 1975; Prendergrast, 1984). La demi-vie se trouve alors augmentée jusqu'à 6 heures.

Il est à noter que si les premières publications, datant des années '70, révélaient des demi-vies de l'ordre de 7 à 10 heures, cela serait dû à une période d'absorption prolongée (un délai d'absorption) causée par une formulation inadéquate des comprimés (Prendergrast, 1984). En effet, un $T_{1/2}$ d'absorption retardé peut donner une fausse estimation du $T_{1/2}$ d'élimination.

Les métabolites du glyburide sont éliminés à 50% dans l'urine et 50% dans les fécès, via la bile (Balant et al., 1975; Feldman, 1985; Pearson et al., 1986; Spraul et al., 1989) (figure 4). Il serait pertinent de se questionner sur l'utilisation de cet agent dans le cas de maladies rénales et hépatiques. L'élimination de sulfonylurées de première génération chez des patients souffrant d'hépatite est documentée (Held, 1973) mais, à notre connaissance, aucune étude sur l'usage du glyburide chez le patient cirrhotique n'a été publiée. Puisque l'incidence et la sévérité des réactions indésirables de nature hypoglycémique sont plus élevées chez les patients atteints de maladies hépatique, la cirrhose du foie est une contre-indication relative à l'utilisation du glyburide (Marchetti et al., 1989). L'utilisation du glyburide chez le patient cirrhotique pourrait néanmoins s'avérer intéressante pour traiter l'intolérance au glucose rencontrée fréquemment chez cette population (Foster et al., 1980; Lebovitz, 1990; Muting et al., 1969; Salmela et al., 1980; Streda, 1975). Mais étant donné le métabolisme hépatique extensif il est logique d'exercer une grande prudence lorsqu'on traite des patients ayant une fonction hépatique

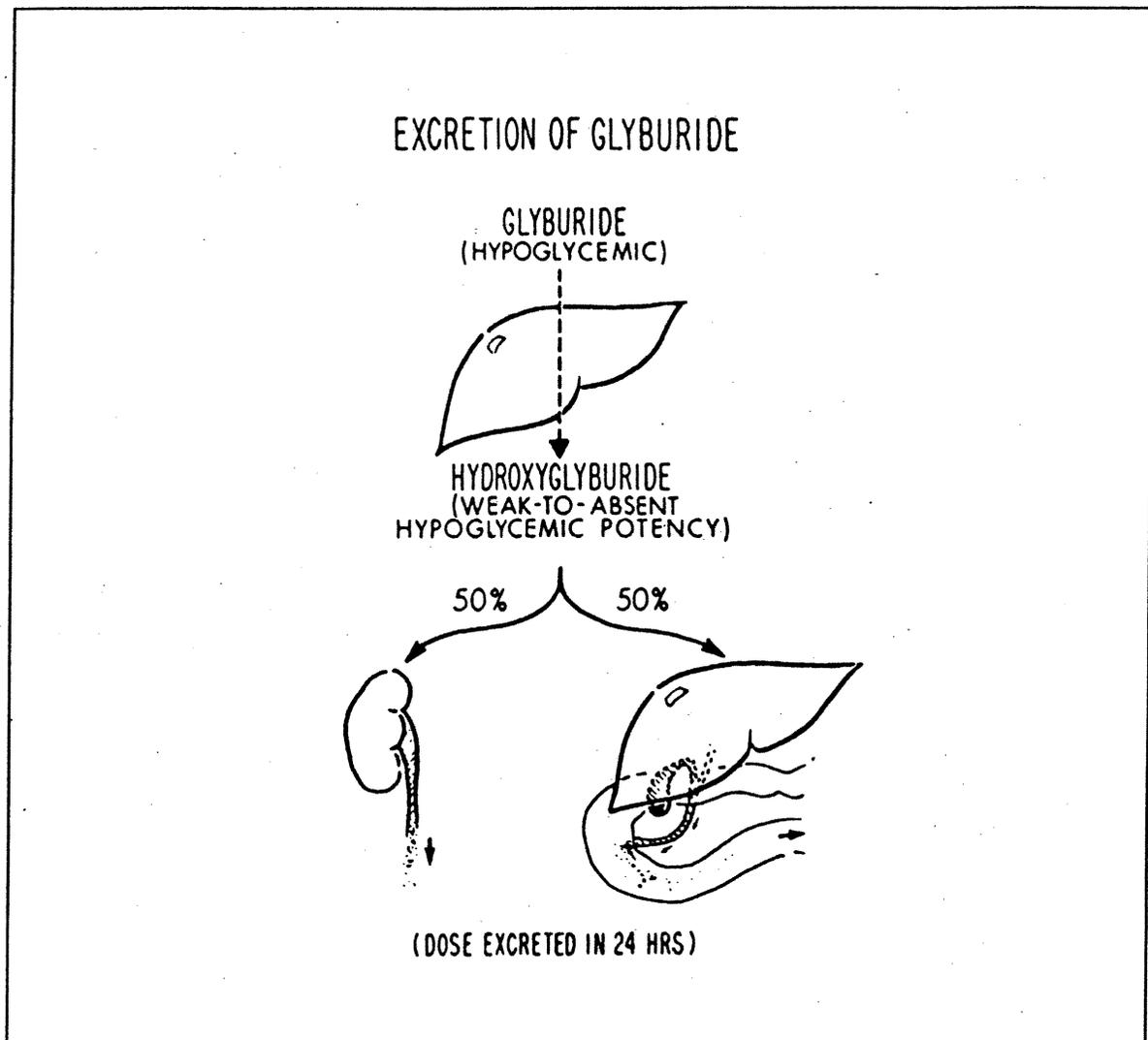


Figure 4: Excrétion du glyburide dans l'urine et dans la bile (féces)

Tiré de Feldman, 1985

endommagée. On suggère donc de débiter avec de petites doses et d'effectuer des dosages plasmatiques de façon régulière en début de traitement (Prendergast, 1984; Schwinghammer et al., 1991).

Il est préconisé de substituer la médication orale pour l'insuline sous-cutanée si les patients cirrhotiques développent une intolérance aux hypoglycémiantes oraux (Kingston, 1984). Feldmann (1985), dans son évaluation des sulfonylurées de seconde génération, recommande même d'éviter l'utilisation de ces agents chez les patients souffrant d'une importante maladie hépatique.

Il appert que l'insuffisance rénale légère à modérée serait, jusqu'à une certaine limite, un problème mineur lors d'une thérapie au glyburide et ne semble pas influencer ses propriétés pharmacocinétiques (Balant et al., 1975; Feldman, 1985; Pearson et al., 1986). Puisque le foie joue un rôle de première ligne pour transformer l'hypoglycémiant en composés quasi-inactifs, l'accumulation de ces métabolites dans le cas d'une clairance rénale diminuée ne devrait pas induire d'hypoglycémie ou de surdosage (Feldman, 1985). Balant (1975) rapporte que pour des taux de filtration glomérulaire supérieurs à 30 mL/min/1.7 m², aucune accumulation de métabolites ne se produit. Même chez les insuffisants rénaux, le temps de demi-vie d'élimination du glyburide n'était pas augmenté (Balant, 1981).

En résumé, l'élimination du glyburide et de ses métabolites n'est pas dépendante de la fonction rénale des patients, à moins d'être en présence de

cas d'insuffisance rénale sévère, ce qui n'est rapporté dans la littérature que de façon anecdotique (Pearson et al., 1986).

1.4 ÉTUDES PHARMACOCINETIQUE/PHARMACODYNAMIE

La pharmacodynamie est l'étude de l'effet pharmacologique d'un médicament en fonction du temps. C'est en quelque sorte la *cinétique de l'action* d'une drogue. On peut mesurer la réponse d'un médicament de façon directe ou indirecte. Par exemple, dans le cas du furosémide, on quantifie simplement la diurèse induite comme critère d'efficacité. Pour la plupart des molécules, par contre, c'est par l'entremise d'un marqueur que l'on calcule indirectement l'effet.

Dans le cas de la classe des hypoglycémifiants, les mécanismes d'action multiples exigent de mesurer l'effet à l'aide de marqueurs pharmacologiques variés. Lorsqu'on calcule les concentrations plasmatiques du glucose, on évalue en fait indirectement la sécrétion de l'insuline (un des mécanismes d'action primaire des sulfonylurées). Cette sécrétion d'insuline amène une chute de la glycémie qui est détectée par un dosage du glucose sanguin. La valeur d'insulinémie est donc, de toute évidence, un marqueur essentiel, mais n'est pas non plus la preuve directe de la réponse. En effet, l'insuline plasmatique ne correspond pas automatiquement à l'insuline *sécrétée* suite au stimulus induit par le médicament. L'insuline subit un métabolisme hépatique et, au moment où

on la dose, un certain pourcentage de la molécule a déjà été biotransformé. C'est pourquoi, il est fortement recommandé de mesurer également le peptide C dont le métabolisme hépatique est négligeable.. Cette molécule provient du scindage de la pro-insuline (elle-même est synthétisée aux cellules β) en deux sous-produits, le peptide C et l'insuline, tous deux sécrétés de façon équimolaire. Ces critères d'efficacité sont donc très répandus dans les études sur la pharmacodynamie des sulfonylurées.

L'activité pharmacologique des métabolites d'un produit peut également être responsable de son effet global. Différentes méthodologies ont été employées pour calculer l'activité des métabolites du glyburide chez l'homme. La vitesse de disparition plasmatique de la radioactivité correspondant au produit inchangé après administration du glyburide est bien documenté (Fucella et al., 1973; Pearson et al., 1986; Rupp et al., 1969). Balant et al. (1975) décrivent également comment, par une combinaison d'extractions et de chromatographies sur couches minces, mesurer l'activité de ces métabolites dans l'urine. L'analyse de ces études converge vers une conclusion simple mais importante: aux concentrations retrouvées dans le sang, les métabolites du glyburide ne possèdent aucune activité hypoglycémianté cliniquement significative.

Lorsque le devis expérimental le permet, il est possible de comparer la pharmacodynamie du glyburide entre les différentes publications. Certains

auteurs décrivent en détail la diète pour la journée d'expérimentation tandis que d'autres ne font que mentionner l'horaire des repas... Puisqu'il est évident que la prise de nourriture influence la concentration de glucose et d'insuline dans le sang, on saisit l'importance d'étudier en détail la composition et l'horaire des repas dans le but d'uniformiser le plus possible les études PK/PD (Neuvonen et al., 1990).

La différence obtenue entre la *période contrôle* et la *période traitement* est une pratique courante pour calculer l'effet net de l'agent hypoglycémiant. Outre les marqueurs mentionnés plus haut, les paramètres pharmacodynamiques évalués sont en général les mêmes que pour la pharmacocinétique: C_{max} , T_{max} , SSC_{0-t} et parfois la concentration minimale de glucose atteinte (C_{min}). Une autre approche consisterait à mesurer le ratio insuline/glucose pour chaque temps de prélèvement (Schwinghammer et al., 1991).

Certaines études avaient pour objectifs de caractériser uniquement la réponse à un agent hypoglycémiant. Mulder et al. (1991) observèrent un effet extra-pancréatique, soit une diminution du catabolisme de l'insuline au foie, après une dose unique de glyburide 5 mg chez des patients atteints de diabète non-insulinodépendant. Ils comparèrent une période contrôle et une période traitement. Un repas standard était consommé immédiatement après la prise du comprimé. Les résultats obtenus pour le C_{max} des

marqueurs sont de 16.8 mmol/L vs 12.9 mmol/L pour le glucose et 18.1 μ U/mL vs 56 μ U/mL pour l'insuline (contrôle vs traitement). Ils remarquèrent que les niveaux sériques d'insuline étaient soutenus plus longtemps que ceux de peptide C dans la séquence utilisant le glyburide, suggérant l'effet post-pancréatique. En visant à éclaircir le mécanisme d'action extra-pancréatique des sulfonylurées, d'autres auteurs ont également publié des résultats sur l'influence d'hypoglycémiant oraux sur la sécrétion d'insuline et de peptide C (Almer et al., 1982; Scheen et al., 1984).

Il existe également des études de bioéquivalence incluant une portion *pharmacodynamie*. Ayanoglu et al. (1983), par exemple, comparaient deux formulations de glyburide. Les paramètres de base rapportés après administration orale du comprimé standard de glyburide 5 mg chez des sujets sains sont des T_{max} de 0,50 h, 1,50 h et 1,88h pour le glucose, l'insuline et le peptide C respectivement. Les C_{max} étaient de 58,63 μ U/mL, 6,55 mmol/L et 6,20 ng/mL pour l'insuline, le glucose et le peptide C respectivement. Le devis expérimental ne comprenait pas de comparaison avec une période contrôle.

El-Sayed et al., (1989) utilisèrent également un devis où seule une période traitement était effectuée. Il n'était donc pas possible de déterminer l'effet net (comparaison entre périodes contrôle et traitement). Les auteurs

décrivirent une diminution prononcée du glucose entre 3 et 6 heures après l'administration du glyburide. Ceci correspond au C_{max} du glyburide, qui était de 4,2 h, mais un effet prolongé semble persister pendant quelques heures.

Dans une étude chez différents groupes de patients diabétiques, Coppack et al. (1990) ont tenté de mesurer l'effet suite à des doses uniques de 5, 10 ou 20 mg de glyburide. La courbe de concentration plasmatique du glucose en fonction du temps démontre une certaine relation entre la dose et l'effet. Chez ces patients, un déjeuner standard était administré au moment de la prise du comprimé. Malheureusement, la séquence des repas suivants n'est pas décrite et les fluctuations ultérieures de la courbe ne peuvent être interprétées. Les valeurs rapportées pour le glucose, soit la moyenne sur 24 heures des concentrations plasmatiques et la SSC de 0 à 24 h sont, de ce fait, inutilisables.

Une revue de la littérature indique que l'effet maximum sur la diminution du glucose apparaît entre 0.7 et 1 h post-dose et sera soutenu pendant au moins 3 heures (Ferner et al., 1987). En général, les variations induites par le glyburide sur les concentrations plasmatiques d'insuline sont plus importantes que celles sur les niveaux de glucose sanguin. On recommande donc de ne rien administrer d'autre qu'une charge orale de glucose (ou encore un déjeuner standard dont la quantité de sucre a été calculée de façon précise). Si on doit administrer du glucose pour des

raisons de sûreté, la pharmacodynamie sera altérée et des compromis seront nécessaires lors de l'analyse des résultats.

Bien qu'il existe un très grand nombre d'études sur les sulfonylurées, leur pharmacocinétique et leur effet pharmacologique, l'information sur la corrélation pharmacocinétique/pharmacodynamie de cette classe est très rare dans la littérature (Ferner et al., 1987; Marchetti et al., 1989; Pearson, 1985; Schwinghammer et al., 1991). La plupart des auteurs se contentent d'illustrer le profil temporel des concentrations de glucose, d'insuline et de médicament (figure 5). Quelques données sont disponibles sur le gliclazide. Par exemple, Campbell (1980) a trouvé une corrélation entre la chute de glucose plasmatique et la concentration du médicament lorsque la période de 0 à 4 heures était observée.

Sartor et al. (1980) furent infructueux en tentant d'établir une corrélation entre les concentrations de glyburide et les niveaux de glucose chez les sujets à jeûn, même après correction pour la masse corporelle.

Coppack et Rodgers (1990) ont observé une certaine relation entre la dose de glyburide et la diminution du glucose plasmatique. Bien que ceci n'était

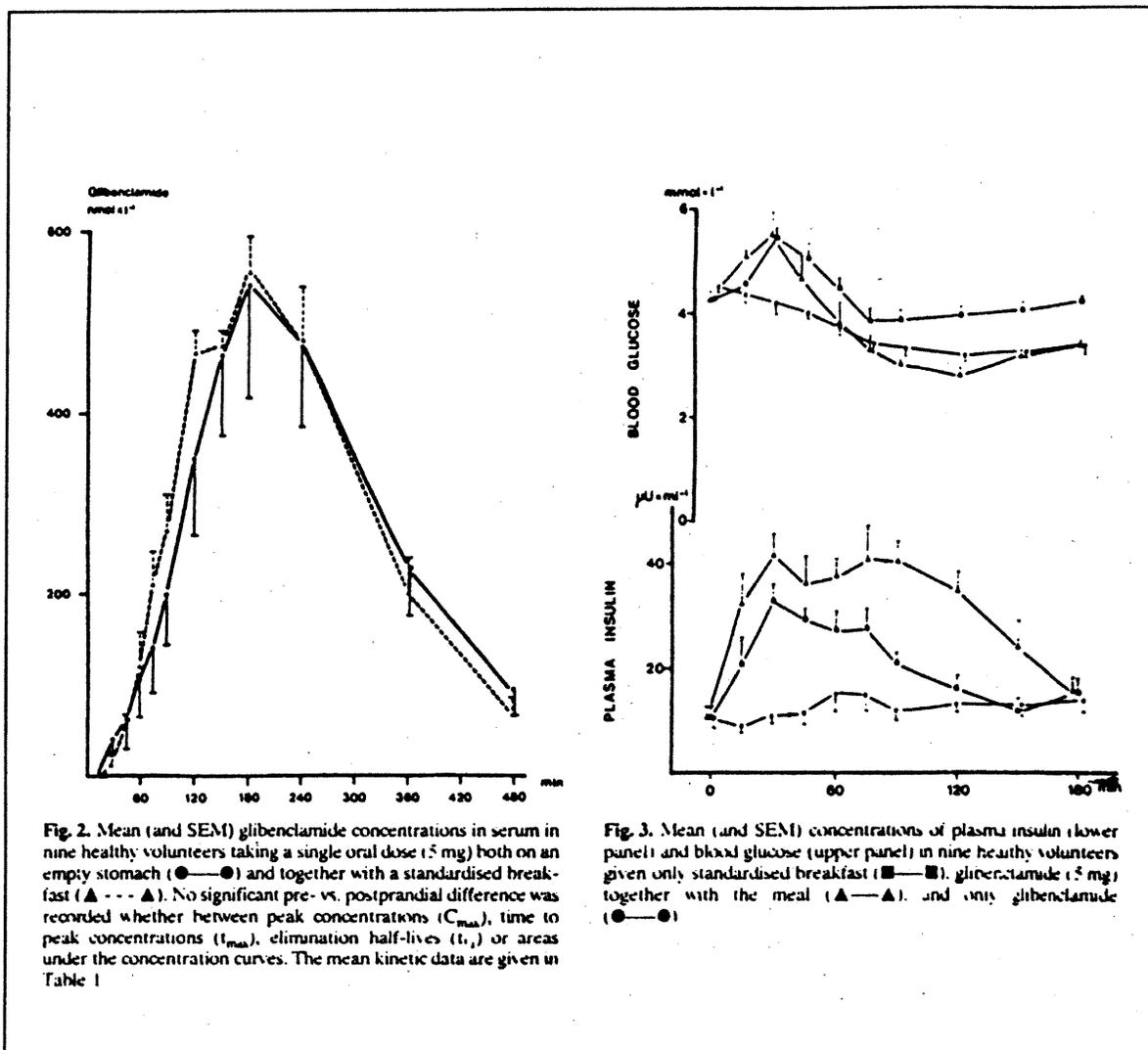


Figure 5: Exemple d'une relation pharmacocinétique/ pharmacodynamie en représentant graphiquement et de façon comparative les courbes de concentrations sériques de glyburide, du glucose et de l'insuline en fonction du temps (Tiré de Sartor et al., 1980).

malheureusement pas appuyé par une corrélation en utilisant la *concentration* plasmatique du médicament, ils concluent malgré tout que l'augmentation de la dose d'hypoglycémiant oral n'apporte que des changements marginaux dans le taux de diminution du glucose.

Enfin, c'est à une étude récente chez des sujets sains (agés vs jeunes) que l'on doit les meilleures évaluations de type PK/PD (Schwinghammer et al., 1991). Ce groupe a établi une analyse de régression linéaire entre $\Delta SSC_{\text{glucose}}$ et la $SSC_{1-4 \text{ glyburide}}$. Puisque les échantillons plasmatiques d'insuline et de glucose n'étaient pas collectés aux mêmes moments que ceux du médicament, il fut impossible de dériver avec succès une corrélation PK/PD directe. Pour le groupe de personnes âgées, des $SSC_{1-4 \text{ glyburide}}$ différentes ont amené une réponse différente, suggérant une corrélation significative. Aucune relation n'a pu être observée entre $\Delta SSC_{\text{glucose}}$ et la $SSC_{1-4 \text{ glyburide}}$ chez les sujets jeunes, ceci en raison des grandes variabilités à l'intérieur du groupe.

Suite à notre revue de la littérature, on remarque qu'il est difficile d'évaluer l'effet du glyburide pendant plus de 4 h: puisque les sujets finissent souvent par démontrer des symptômes d'hypoglycémie, l'administration de glucose peut s'avérer nécessaire. La relation PK/PD s'en trouve altérée et il devient impossible de l'interpréter.

1.5 ASPECTS CLINIQUES

L'utilisation d'hypoglycémiant oraux chez le volontaire sain et ce, à des fins de recherche scientifique, pose évidemment un problème d'éthique. De par la nature même de leur pharmacologie, il est normal de s'attendre à des effets indésirables. Les principales réactions adverses associées au glyburide sont reliées à l'hypoglycémie et peuvent se manifester par de la transpiration, des bouffées de chaleur, de la pâleur, de l'engourdissement, des frissons, de la faim, des tremblements, une élévation du rythme cardiaque, une élévation de la tension artérielle, des palpitations, des céphalées, des étourdissements (monographie du produit). De façon plus rare, le patient peut souffrir d'effets secondaires au niveau gastro-intestinal (nausées, réplétion épigastrique, pyrosis), hépatique, dermatologique (allergies cutanées, prurit, érythème, urticaire), hématologique (leucopénie, agranulocytose, thrombocytopénie, anémie) et métabolique (syndrome de sécrétion insuffisante de l'ADH).

La majorité des publications sur les hypoglycémiant oraux décrivent, pour quelques volontaires, des effets secondaires de cette nature (Foster et al., 1980; Hartmann et al., 1990; Jaber et al., 1990; Marchetti et al., 1991; Molz et al., 1989; Schwinghammer et al., 1991). Ces effets sont légers, habituellement transitoires et facilement réversibles par l'administration de carrés de sucre, de solution orale de glucose (Dahl-Puustinen et al., 1990; Jennings et al., 1989 ; Molz et al., 1989) ou d'injection de glucose par bolus

(Groop et al., 1987). Les céphalées sont également contrôlées sans complication avec de l'acétaminophène (Molz et al., 1989).

La plupart des auteurs reconnaissent l'importance de détecter rapidement les signes et symptômes d'hypoglycémie et d'agir dès que possible pour protéger le patient (Groop et al., 1987). Certains cliniciens ont développé des méthodes pour détecter les hypoglycémies trop marquées. Par exemple, des échantillons sanguins capillaires ont été obtenus pendant les 4 heures suivant la prise du comprimé de glyburide pour analyse immédiate de la glycémie par réflectomètre (Dahl-Puustinen et al., 1990). Tous les individus participants à cette étude ont développé des symptômes légers d'hypoglycémie (environ 2 mmol/L) ce qui fut corrigé facilement par une quantité suffisante de jus de fruits.

Jennings et al (1989) ont étudié la prévalence de symptômes hypoglycémiques chez des patients diabétiques traités avec des sulfonylurées ou de la metformine, un anti-hyperglycémiant appartenant à la classe des biguanides. Le glyburide a provoqué des effets secondaires reliés à l'hypoglycémie dans 31% des cas (la durée de traitement était de 5 ans, en moyenne). Ils admettent que cette proportion est élevée mais ils expliquent leurs résultats en disant que, dans les études antérieures, les patients n'étaient pas questionnés spécifiquement sur les symptômes d'hypoglycémie. Ceci a pu mener à une sous-estimation des cas.

Dans un contexte de recherche clinique, il faut tenir compte des facteurs pouvant précipiter l'hypoglycémie. La consommation d'alcool, les interactions médicamenteuses, l'insuffisance rénale ou hépatique. L'âge du patient doit également être considéré avec prudence: les aînés courant plus de risques d'expérimenter une hypoglycémie que l'ensemble de la population diabétique (Morley et al., 1987). En tenant compte des connaissances actuelles sur la pharmacodynamie des hypoglycémiant oraux, il serait prudent lors d'un essai clinique de s'assurer de la disponibilité de l'investigateur ou d'un médecin de garde pendant une période de quelques heures supérieures au T_{max} du médicament. Enfin, s'il est une chose à éviter à tout prix, c'est le coma hypoglycémique, complication rare qui peut s'avérer mortelle. Le chercheur clinique doit apprendre à prévenir l'hypoglycémie légère à modérée et toujours garder les ressources nécessaires à portée de la main en cas d'effet secondaire sérieux.

Les états physio-pathologiques fréquemment rencontrés lors de l'utilisation des hypoglycémiant oraux peuvent aussi altérer la réponse à ces agents. Le diabète sucré, par exemple, pourrait diminuer ou augmenter la réponse au glyburide, selon les situations (Gwilt et al., 1991; Hoffmann et al., 1994). Hoffmann et al (1994) observent que chez des sujets diabétiques, l'effet du glyburide sur la diminution du glucose sanguin est plus important lorsque le médicament est administré dans un état d'hyperglycémie (par opposition à un

état normoglycémique). Ceci pourrait expliquer la faible différence entre une période traitement et une période contrôle lorsqu'on veut mesurer l'effet du glyburide chez une population de sujets sains.

1.6 OBJECTIFS DE LA PRÉSENTE ÉTUDE

Les manuels de références traitant de la relation pharmacocinétique/pharmacodynamie ne contiennent aucune information sur les sulfonylurées. Bien que l'on trouve des chapitres admirablement bien documentés sur les analgésiques, les anesthésiques, les anticonvulsivants, les anti-hypertenseurs et même sur certains antibiotiques et anti-inflammatoires, aucune information sur la relation PK/PD des hypoglycémifiants oraux n'existe à notre connaissance. De toute évidence, il existe un besoin réel de modélisation pour cette classe.

Au moment où ce projet a été commencé, il n'existait aucune étude sur la relation entre la concentration plasmatique et la réponse du glyburide. Il semblait important de caractériser cette relation pour différentes raisons. D'abord, puisque l'indice thérapeutique du glyburide semble étroit, tel que suggéré par la grande incidence d'effets secondaires reliés à l'hypoglycémie (Jennings et al., 1989), une meilleure compréhension de la relation entre la concentration plasmatique de glyburide et l'effet désiré pourrait contribuer à optimiser les traitements. Une posologie adaptée en fonction des besoins de chaque patient aurait des bénéfices directs sur la qualité de vie de ces derniers.

Le traitement avec les sulfonylurées chez certains types de patients pour qui une contre-indication existe était aussi d'intérêt. Par exemple, les patients souffrant de cirrhose du foie, qui sont souvent des sujets intolérants au glucose, pourraient bénéficier d'une thérapie aux sulfonylurées. En caractérisant mieux la cinétique et la dynamique du glyburide, d'abord chez les volontaires sains, et éventuellement chez des populations spéciales, il serait envisageable de maximiser l'utilisation du produit chez un plus grand nombre de malades.

En 1991, Schwinghammer et son équipe publièrent les résultats d'une étude ayant des objectifs semblables à la nôtre, du moins au niveau de la corrélation PK/PD. L'approche adoptée pour interpréter nos résultats est similaire à celle de Schwinghammer, dans le but de mieux comparer les résultats des deux études. Il existe, encore aujourd'hui, très peu de publications de ce genre et un bon modèle de corrélation PK/PD est encore à développer. D'ailleurs, les nouvelles tendances réglementaires à la F.D.A. confirment l'importance d'établir des corrélations entre ces paramètres lors d'essais cliniques (Peck et al., 1992).

Bref, l'objectif principal de cette étude était de décrire la corrélation entre les concentrations plasmatiques de glyburide et l'effet hypoglycémiant chez des volontaires sains. Une nouvelle approche consistant à administrer une perfusion I.V. continue de glucose durant les périodes contrôle et traitement a été développée. L'objectif secondaire était d'étudier l'innocuité du médicament

chez cette population en évaluant l'incidence et la sévérité des effets secondaires reliés à l'hypoglycémie.

Chapitre 2

Matériel et méthode

2.1 MÉTHODES DÉJÀ PUBLIÉES

Depuis la commercialisation du glyburide, plusieurs méthodes analytiques ont été développées pour mesurer ses concentrations plasmatiques. La spécificité et la sensibilité de ces techniques varient considérablement. Il est clair que la méthodologie employée au cours des 20 dernières années a évolué et cette progression est en partie responsable des écarts entre les paramètres pharmacocinétiques.

La chromatographie en couche mince (TLC) (Uihlein et al., 1982), les essais radioimmunologiques ou RIA (Balant, 1977; Chalk et al., 1986; Haupt et al., 1984; Heptner et al., 1984;), la chromatographie liquide à haute performance ou HPLC (Adams et al., 1982; Emilsson et al., 1986; Neuvonen et al., 1991; Rydberg et al., 1991), la chromatographie gazeuse (Castoldi et al., 1979; Midha et al., 1976), sont autant de méthodes décrites dans la documentation scientifique. Chacune de ces méthodes compte quelques avantages et désavantages (Rydberg et al., 1991). Il est reconnu que ces méthodes ont une sensibilité adéquate (Emilsson et al., 1986; Takla, 1981). Certaines

études ont aussi utilisé la radioactivité totale suite à l'administration d'un comprimé contenant du glyburide marqué (Balant et al., 1975; Fucella et al., 1973; Pearson et al., 1986).

La méthode de RIA, qui est sensible et peut détecter des concentrations plasmatiques de glyburide inférieures à 10 ng/mL (Royer et al., 1976), a été critiquée pour son manque de spécificité entre la substance mère et les métabolites (Coppack et al., 1990; Royer et al., 1976). Les concentrations plasmatiques du glyburide avaient tendance à être surestimées par cette méthode suite au problème de sensibilité croisée. Ce phénomène a conduit à de fausses interprétations au sujet de l'existence d'un troisième compartiment pour la distribution du médicament: le compartiment profond (Balant et al., 1977; Ferner et al., 1987; Schwinghammer et al., 1991).

La chromatographie sur couche mince peut atteindre une grande sensibilité: une étude notait une limite de détection de 3 ng/mL (Uihlein et al., 1982). Par contre, bien qu'elle soit précise, cette méthode est très peu pratique en raison des manipulations laborieuses requises (Adams et al., 1982; Emilsson et al., 1986). La colorimétrie et la polarographie ont également été rapportées de façon anecdotique dans la documentation scientifique (Becker, 1977).

La chromatographie liquide à haute performance demeure l'outil de choix lorsqu'il est nécessaire de doser le glyburide dans une étude ou si une situation

clinique l'exige (Adams et al., 1982; Marchetti et al., 1989; Schwinghammer et al., 1991). Cette méthode ne nécessite pas de réactifs spéciaux, est facile à utiliser dans un environnement de laboratoire standard et sa spécificité est considérée supérieure au RIA car le problème de réactions croisées entre le glyburide et ses métabolites ne se présente pas (Rogers et al., 1982; Rydberg et al., 1991; Wilson, 1990) La limite de quantification se situe entre 5 et 10 ng/mL (Rydberg et al., 1991; Wilson, 1990).

2.2 MATERIEL ET METHODES

2.2.1 Solvants et réactifs

Les réactifs et les solvants de qualité HPLC provenaient de Fisher Scientific et Anachemia. Le glyburide B.P. a été fourni par Pharmascience (Montréal, Québec).

2.2.2 Solutions standards

Les solutions étalons de 1 mg/mL (glyburide et propranolol) ont été obtenues par dissolution des composés purs dans le méthanol. La solution de travail était une dilution 1:10 dans le méthanol pour le glyburide et dans l'eau pour le propranolol qui était le standard interne (soit 0.1 mg/mL).

2.2.3 Préparation de la courbe d'étalonnage

Cinq cents μL de solution étalon de glyburide (500 μg de glyburide) étaient pipetés dans un ballon jaugé et le volume était complété jusqu'à 5 mL avec du plasma préalablement centrifugé. Le mélange était agité au vortex pendant environ 1 minute. Des dilutions successives 1:1 avec du plasma étaient alors effectuées pour obtenir les concentrations suivantes: 400 ng/mL, 200 ng/mL, 100 ng/mL, 50 ng/mL, 25 ng/mL, 12.5 et 6.25 ng/mL. Le plasma enrichi de glyburide était redistribué dans des tubes de propylène et congelé immédiatement.

2.2.4 Extraction du plasma

Un mL de plasma de la courbe d'étalonnage ou d'un patient et 100 μL de standard interne étaient extraits avec 5 mL de chloroforme, par agitation horizontale à vitesse lente pendant 10 minutes, puis les tubes étaient centrifugés pendant 5 minutes à 25° C. Le surnageant était aspiré et la phase organique transvidée dans des tubes pour évaporation au Speed-Vac Concentrator (Savant Instruments inc., Farmingdale, N.Y., U.S.A.) pendant 45 minutes. Les résidus étaient remis en solution avec 200 μL de phase mobile, agités au vortex 10 secondes et transférés dans des vials d'injection.

2.2.5 Description du système chromatographique

Le système était constitué d'une pompe ConstaMetric 3000 (LDC Analytical, Rivera Beach, Fla), d'un injecteur Shimadzu SIL-9A (Shimadzu, Kyoto, Japon) et d'un détecteur de fluorescence Shimadzu RF-535 (Shimadzu, Kyoto, Japon) à longueur d'ondes d'excitation et d'émission

fixées respectivement à 240 et 350 nm. L'intégrateur Chromatopac C-R3A était également de marque Shimadzu. La colonne utilisée était une Spherisorb ODS1 5 μ (numéro de série 2386) de dimensions 12.5 cm X 4.9 mm i.d. (Hichrom, Reading, G.- B.).

La phase mobile était préparée à chaque journée d'expérimentation. Elle était constituée de H_3PO_4 0.02 M (50%), d'acétonitrile (45%) et de méthanol (5%). Du dibutylamine 0.5 M (pH= 2.5) était ajouté comme agent prévenant l'adsorption à raison de 50 μL par 200 mL de phase mobile. Cette dilution de dibutylamine était renouvelée à tous les mois (17 mL de dibutylamine, 9 mL de H_3PO_4 concentré dans un ballon que l'on complète jusqu'à 200 mL avec H_2O).

2.3 RESULTATS

2.3.1 Spécificité

Le glyburide était bien séparé du front de solvant. Le propranolol a été choisi comme standard interne parce qu' il n'interfère pas avec d'autres pics et est élué après le glyburide. Les temps de rétention des produits sont de 4.04 minutes pour le glyburide et 5.31 minutes pour le propranolol.

(figure 1).

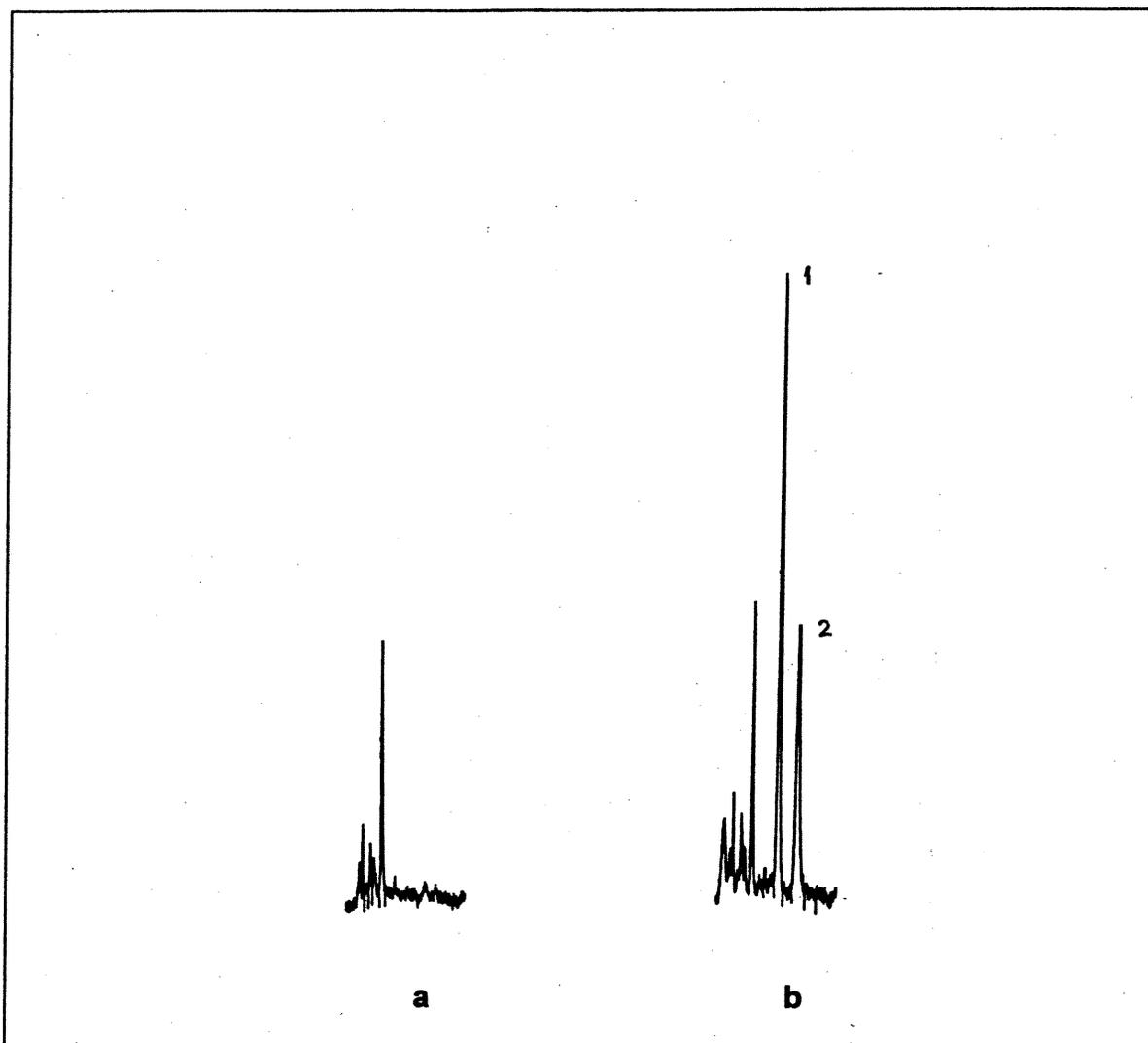


Figure 1: Chromatogrammes-types obtenus après extraction

- a) d'un plasma contrôle (*blank plasma*);
- b) de plasma enrichi de glyburide (pic 1) et de standard interne (pic 2, propranolol)

2.3.2 Sensibilité

La limite de quantification est de 6.25 ng/mL, si on utilise 1 mL de plasma, en considérant un pic équivalent à au moins 3 fois la hauteur du bruit de fond. Lorsque l'on injecte directement la solution *in vitro* on obtient une limite de détection d'environ 2 ng.

2.3.3. Droite d'étalonnage et linéarité

Six concentrations plasmatiques situées entre 6,25 et 400 ng/mL ont été étudiées. Six droites d'étalonnage furent effectuées. L'équation de la droite cumulative était de $y = 0.00735 x + 0.0297$

avec un coefficient de corrélation $r^2 = 0.9991$ (figure 2). Les concentrations plasmatiques de glyburide retrouvées après administration orale d'une dose unique de 5 mg se situent en général à l'intérieur des limites de la droite d'étalonnage (C_{\max} moyen = 250 ng/mL).

2.3.4 Reproductibilité

La variation inter-essai a été évaluée à partir des droites d'étalonnage et des standards injectés. Ces droites ont été réalisées lors de journées différentes. Le coefficient de variation moyen était de 5.90 %, le minimum étant de 5.13 % pour la concentration 100 ng/mL et le maximum de 6.52 % pour la concentration de 12.5 ng/mL.

La variation intra-essai, mesurée sur une seule concentration, soit 200 ng/mL, donnait un coefficient de variation de 3.9% (n = 4).

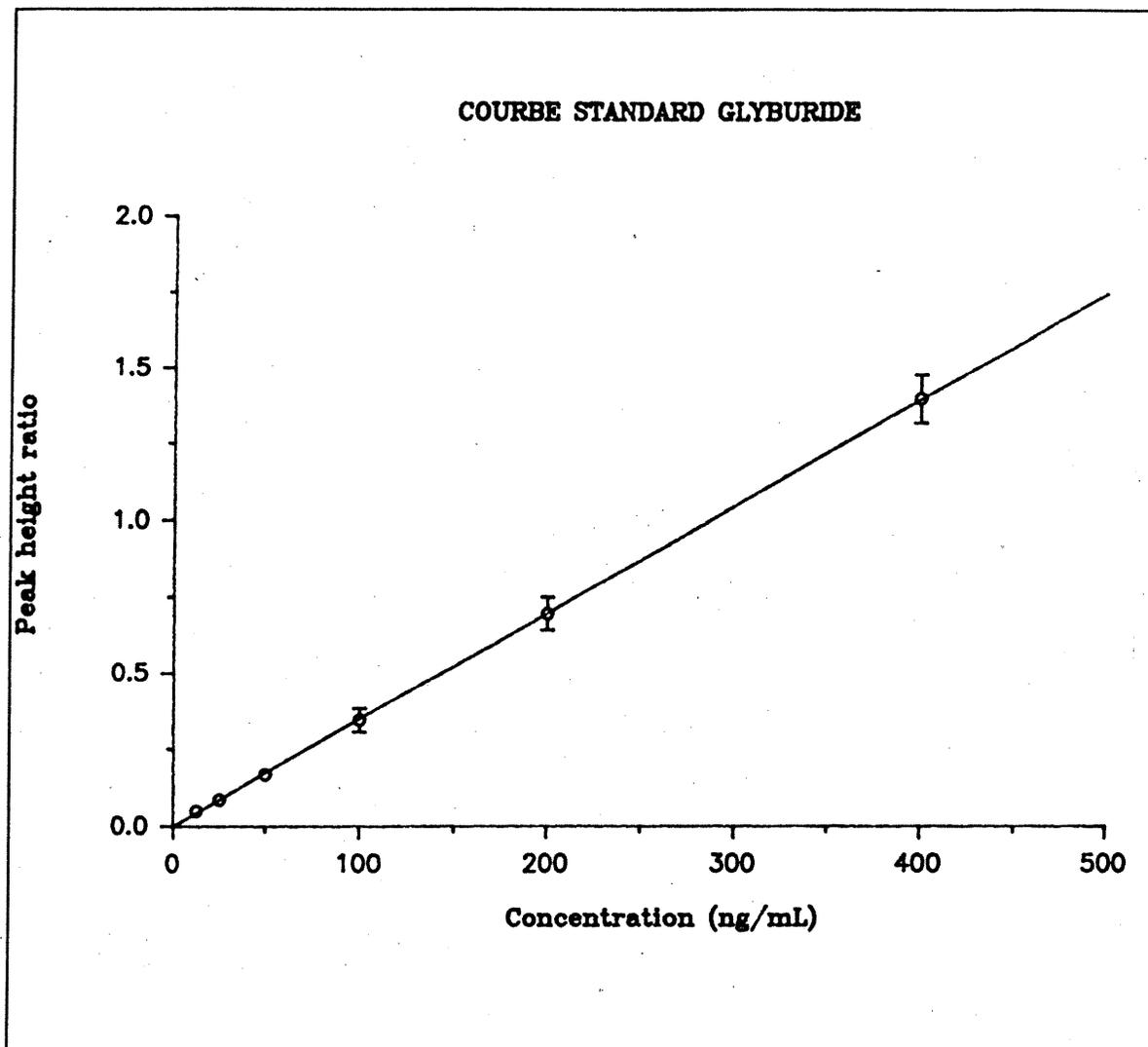


Figure 2: Droite d'étalonnage du glyburide dans le plasma

2.3.5 Pourcentage de récupération

Le pourcentage de récupération a été calculé pour 2 concentrations différentes. Les moyennes étaient de 90.2% (C.V. = 15.7%) pour la concentration 25 ng/mL (n = 3) et de 92.4% (C.V. = 6.49%) pour la concentration 200 ng/mL (n = 3).

2.3.6 Exactitude

L'exactitude de la méthode a été évaluée par l'analyse à l'insu de 10 concentrations inconnues de glyburide dans le plasma. Le pourcentage moyen de la concentration réelle était de 95 % (C.V. = 3.2%). Le minimum était de 70 % et le maximum de 98 % .

2.3.7 Stabilité

Pour les échantillons plasmatiques de glyburide conservés au congélateur (-20° C), les tests de stabilité n'ont montré aucune dégradation significative du glyburide (pas de variation statistiquement significative entre les rapports des hauteurs des pics). Ces tests ont été effectués pour des concentrations de 25 et de 200 ng/mL.

Chapitre 3

Protocole clinique

Hypoglycemic effect and pharmacokinetics of glyburide In healthy volunteers receiving an IV glucose perfusion

Bruno G. Gagnon, Jean-Pierre Villeneuve and France Varin

Article soumis pour publication dans la revue *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics* le 24 avril 1995.

Réponse de l'Éditeur de cette revue scientifique reçue le 9 août 1995. Le manuscrit ne peut être publié dans sa présente forme. Il est suggéré de le soumettre dans un périodique de recherche clinique. Les commentaires des réviseurs ont été intégrés dans ce texte et le manuscrit sera soumis pour publication dans la revue *Pharmacotherapy*.

“Hypoglycemic effect and pharmacokinetics of glyburide in healthy volunteers receiving an IV glucose perfusion”

Abstract

Introduction: Glyburide is an oral hypoglycemic agent used in the management of non-insulin dependent diabetes mellitus. Because of its poor dissolution profile, kinetic studies with this drug show heterogeneous results. However, the impact on pharmacodynamics is unknown. Furthermore, bioequivalence studies are often complicated by the fact that glucose administration is required to prevent severe hypoglycemia. In this study the correlation between the hypoglycemic response of glyburide and its plasma concentrations was characterised.

Methods: Seven healthy volunteers (5 males, 2 females) with a mean age of 37 ± 6 years participated in this study after giving written informed consent. This randomized, cross-over study included two phases: a treatment period (glyburide, 5 mg p.o.) and a control period. For both phases, the subjects were administered at time zero a 5 g/h IV glucose perfusion for 6 hours and received a 75 g oral glucose load one hour after administration of glyburide. Blood samples up to 24 hours were collected. For each sample, the following analysis were done: glyburide (HPLC method with fluorescence detection), insulin and C-peptide (radio immunologic assay commercial kits), and glucose

concentrations (automated glucose oxydase method). Then, their respective area under the plasma concentration-time curve from 0 to 4 hours (AUC) were measured. For each pharmacodynamic parameter, the differential effect (Δ AUC) was evaluated by subtracting the AUC during the control period from that obtained in the treatment period divided by the AUC obtained during the treatment period: $[(AUC_{glyb} - AUC_{ctrl}) / AUC_{glyb}]$.

Results: Non compartmental pharmacokinetic analysis was carried out and the following parameters were obtained (mean \pm SEM): T_{1/2}: 2.6 \pm 0.2 h, T_{max} 3.9 \pm 0.7 h, Cl_o: 0.24 \pm 0.02 L/h .kg, AUC₀₋₄ 119 \pm 40 ng . h/mL.

In the treatment period, the hypoglycemic effect of glyburide was demonstrated by a significantly lower change in glycemia from baseline compared with the control period (p=0.04). A good correlation (r= 0.892, p = 0.007) was observed between glyburide AUC and glucose Δ AUC.

Discussion: Using a continuous perfusion of IV glucose, it was possible to obtain a significant correlation between glucose Δ AUC and glyburide AUC in healthy volunteers.

Introduction

Glyburide, also known as glibenclamide, is a second-generation oral sulfonylurea used in the management of non insulin dependent diabetes mellitus (1,2,3). It reduces glycemia by various mechanisms: enhancement of insulin secretion from β cells (1,4), increase in tissue sensitivity to the action of insulin (1,5) and modification of hepatic catabolism of glucose and insulin (1,6,7,8). Accordingly, blood glucose and plasma insulin levels are often used as physiological surrogates of its effect (9,10,11). The measurement of C-peptide has also been used to evaluate the response to hypoglycemic drug (8,12,13) as it provides an indication of endogenous insulin secretion.

Studies on the pharmacokinetics of glyburide showed heterogeneous results (14, 15,16,17). It might be due to factors such as the galenic formulation (9,14,18), and in particular the presence or absence of micronization (16,19,20,21), differences in populations studied healthy volunteers (9,10,17,18,20,21,22) or diabetic patients (5,14,15), the influence of food intake (21,23) and the analytical method used (sensitivity, specificity) (21,24). For glyburide, differences in pharmacokinetics are not always associated with significant deviations in pharmacodynamics (18). However, there is evidence to suggest that sustained hypoglycemia is more likely to be observed in patients having high plasma concentrations (16).

There are few studies on the pharmacodynamics of second-generation sulfonylureas, glyburide and glipizide (12,13). It has been observed that the response to standard doses of sulfonylureas is somewhat more predictable and reproducible. However, information on glyburide dose-response relationship is still incomplete and this makes it difficult to optimize the dosage in diabetic patients(15).

The objective of this research was to study the correlation between glyburide plasma concentration and the hypoglycemic response in healthy volunteers. A novel experimental design involving simultaneous glucose perfusion has been developed in an effort to circumvent the adverse severe hypoglycemic reactions often observed with the utilisation of such potent sulfonylurea.

Methods

Patients

Research protocol and consent form were both approved by the institutional Ethics Committee (Hôpital Saint-Luc, Montreal, Quebec). All subjects gave written informed consent before being included in the study. Seven healthy volunteers (5 males, 2 females) were selected. Their mean age was 37 ± 6 years (range: 25 to 46 years). Their mean weight was 68.4 ± 8.9 kg (range: 56.7 to 85.5 kg).

Each subject received a complete physical examination and the basic laboratory tests of hematologic, hepatic and renal functions. Subjects enrolled in the study had normal laboratory profiles and a normal fasting glycemia (normal range: 3.9 to 6.1 mmol/L). Criteria for exclusion were: history of allergy or intolerance to any sulfa-related drugs, use of any medication that modifies cytochrome P-450 activity within 15 days prior to participation in the study (e.g. phenytoin, rifampicin, phenobarbital, etc.). At screening time, all volunteers answered a questionnaire to document any use of concomitant medication.

Clinical Protocol

The study was performed in two periods, a treatment period and a control period which were executed according to a randomized sequence. These periods were separated from each other by a one-week wash out. The volunteers were instructed to abstain from any caffeine-containing food or beverage for 24h prior to the study days and were asked to remain fasted 8 hours before the beginning of the study at about 09:00 hours.

For the control period, at time zero, each volunteer received an IV glucose perfusion (5 g/hour). One hour later, an oral glucose load (Glucodex 75 g, Rougier) was also administered. The IV glucose perfusion was continued for 6 hours. All patients remained in a recumbent position either in a hospital bed or in an armchair. After six hours, the infusion was discontinued and the subjects were given a standardized snack (1900 kCal). They were not allowed to perform any activity requiring important physical effort until the end of the study day. A heparin lock was inserted in the antecubital vein of the forearm. Blood samples were taken for the measurement of plasma insulin, C-peptide and blood glucose levels. Samples were collected at time zero, 0.33, 0.66, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0, 10, 12, 16 and 24h. Venous blood samples (8 mL) were drawn with non-heparinized syringes. The samples were transferred to vacutainer tubes containing potassium oxalate and sodium fluoride and

were kept on ice until centrifugation. The tubes were then centrifuged, plasma was divided into 3 portions (approx. 1.5 mL each) in polystyrene tubes and stored at -80° C for separate analysis of glucose, insulin and C-peptide. A total of 128 mL of blood was taken.

The treatment period followed the same protocol with the exception that a single 5 mg oral dose of glyburide (Diabeta, 5 mg tablets, Hoechst, batch # 6526A) was given at time zero when the glucose infusion was started. An additional blood sample (8 mL) was drawn at each time point and transferred to a vacutainer containing heparin for the analysis of glyburide: thus, 256 mL of blood were taken in the treatment period. As an additional safety measure, glycemia was monitored every 30 minutes for the first 4 hours using a One-Touch reflectometer. In the event that a patient presented a glycemia lower than 3 mmol/L, a 25 g IV glucose bolus was immediately administered.

Sample Analysis

Glyburide concentrations were determined by a high-performance liquid chromatographic method with fluorescence detection. The liquid-liquid extraction was adapted from Addison *et al.* (1990). In brief, 100 μ L of internal standard (10 ng of propranolol) and 5 mL of chloroform were added to 1 mL of plasma sample. This mixture was extracted by horizontal agitation for 10 minutes, and then centrifuged at 3200 rpm for 5 minutes.

The organic layer was evaporated to dryness and the residue dissolved in 200 μ L of mobile phase (H_3PO_4 50%, acetonitrile 45%, methanol 5%, DBA) prior to injection into the HPLC system. The chromatographic separation was performed on a 5 μ ODS1-Spherisorb column (125 X 4.9 mm internal diameter, HiChrom, Reading, England). The mobile phase was delivered at a rate of 2.5 mL/min (ConstaMetric pump, LDC analytical, Rivera Beach, Fla., model CM-3000). Glyburide and propranolol were detected at excitation and emission wavelengths of 230 and 350 nm respectively using a fluorescence detector (Shimadzu RF-535, Shimadzu, Kyoto, Japan). The limit of quantification of the assay was 6.25 ng/mL with excellent linearity from 6.25 to 400 ng/mL ($r^2 = 0.9991$). Recovery was $92.4 \pm 6.5\%$ and the intra and inter assay precision of 3.9% and 5.9 % respectively. Accuracy was $95\% \pm 3.2\%$.

Glucose concentrations were determined by an automated glucose oxydase method using a Beckman-Astra-8 glucose analyzer. Insulin levels were measured by a radio-immunoassay kit [RSL ^{125}I -Insulin Kit, ICN Biomedicals, Costa Mesa, USA]. Plasma C-peptide levels were also measured with a RIA kit (RIA-coat C-Peptid, Byk-Sangtec Diagnostica, Dietzenbach, Germany).

Data Analysis

The maximum glyburide plasma concentration (C_{max}) and the time of C_{max} (T_{max}) were determined by observation of individual plasma concentration-

time profiles. A non-compartmental approach was used to derive pharmacokinetic parameters. The elimination rate constant (k_{el}) was estimated for each subject by least square linear regression analysis of the last 5-6 plasma concentrations. The elimination half-life ($T_{1/2}$) was calculated as 0.693 divided by the mean k_{el} . The area under the plasma concentration-time curve (AUC) was determined by the trapezoidal rule. The apparent oral clearance (Cl_o) was obtained by calculation of the dose divided by $AUC_{0-\infty}$.

The pharmacodynamic parameters were measured as follows: since the first 60 minutes studied in each subject represent baseline values for glucose and insulin concentrations a "before" measure was established using the mean glycemia and insulin for the first 4 blood samples. In brief, it is the average of the surrogate markers concentrations prior to the stimulus (oral glucose load). Accordingly, a "during" measure was created to represent the period where the maximum effect of the drug is expected (which is after the oral glucose load and very close to the glyburide T_{max}). A paired t-test was used to determine if the change from baseline (difference between the "before" and "during" measurements) in the glyburide period is significantly different from that of the control period. In addition, AUCs from 0 to 4 hours of glucose, insulin and C-peptide were calculated. This period of time was chosen to ensure that no subsequent glucose administration would bias the response to glyburide. Finally, to evaluate the net response to glyburide,

the differential effect (achieved by subtracting the AUC during the control period from that obtained in the treatment period) was divided by the AUC obtained during the treatment period: $[(AUC_{glyb} - AUC_{ctrl}) / AUC_{glyb}]$.

Statistical Analysis

Data for glucose, insulin and C-peptide in the treatment and baseline periods for each subject were compared using Student's t-test for paired data. Degree of correlation was obtained and its significance assessed using Fisher's test. Level of significance was set to be inferior to 0.05. All values are expressed as Mean \pm Standard Error of the Mean.

Results

Pharmacokinetic Parameters

The mean plasma concentration-time profiles of glyburide are shown in Figure 1. T_{\max} was generally reached at 3.5 hours and ranged from 1.5 to 6h. C_{\max} values ranged from 32 to 79 ng/mL and were within the linear range of our assay. Only one subject had glyburide concentrations above the limit of quantification at 16 h post-dose (8.4 ng/mL). Mono-exponential decline was observed after C_{\max} and therefore glyburide was treated as a one-compartment model. Pharmacokinetic parameters are summarized in Table I.

Pharmacodynamic Parameters

Mean blood glucose, plasma insulin and C-peptide profiles for the baseline period and the treatment period are illustrated in Figure 2. Basal values of blood glucose, insulin and C-peptide before either of the two periods were not significantly different within and between the seven subjects. During the baseline period, the oral glucose load was followed by a rapid increase in glucose blood levels. The maximum level reached was 9.09 ± 0.60 mmol/L at 1.5 hour. This was followed by an increase in insulin and C-peptide levels that rose to maxima of 127.8 ± 29.5 μ U/mL and 13.6 ± 3.0 ng/mL respectively. The insulin T_{\max} was 1.5 h and the C-peptide T_{\max} was 2.0 h. Glucose returned to its basal level 2 hours after the C_{\max} but the rise in

insulin and C-peptide plasma levels induced by the oral glucose load was more prolonged. A return to the baseline levels was observed at 5 hours.

During the glyburide period, the expected rise in blood glucose after the oral glucose load was noticeably reduced in comparison with the placebo period and the difference was significant at 1.5 h (26%, $p = 0.04$) and at 2 h (35%, $p = 0.01$). The change from baseline was significantly lower in the glyburide period than the control period ($p=0.039$) which support the assumption that the sulfonylurea reduces the hyperglycemia induced by the oral glucose load. The peak blood glucose was 7.24 ± 0.53 mmol/L at 1.5 hour. When the baseline glycemia was subtracted from each timepoint, the differences between glycemia variation (control vs treatment periods) was also significant at 1.5 h (37%, $p = 0.03$) and 2.0 h (62%, $p = 0.0008$). The rise in plasma insulin was comparable to that observed in the baseline period up to 1.5 h ($C_{\max} = 115.5 \pm 22.5$ $\mu\text{U/mL}$) but appeared higher thereafter. Differences between the two periods were significant only at 3.0 h (40%, $p=0.04$) and 3.5 h (48%, $p=0.05$). Similarly, the rise in C-peptide paralleled the baseline period, showing slightly higher levels; however, no significant difference was reached at any timepoint. The C_{\max} for this parameter was 15.2 ± 3.4 ng/mL. The response of insulin and C-peptide to glyburide appeared to be more sustained, in comparison to glucose, requiring more than 3 hours after T_{\max} to return to baseline.

When the area under the plasma concentration-time curves from 0 to 4 hours for glucose, insulin and C-peptide for the control and treatment periods were respectively compared for each subject, no significant differences were found (Table II). However, a significant correlation ($r = 0.892$, $p = 0.007$) was observed between individual glucose Δ AUC and glyburide AUC data as illustrated in Figure 3. The correlation between insulin and C-peptide Δ AUC and glyburide did not reach significance suggesting a greater inter-subject variability.

No serious adverse event was observed during the study. Most of the subjects experienced mild hypoglycemic symptoms (diaphoresis, headache, nausea). These events were transient and occurred within the first 6 hours. Three out of seven subjects experienced episodes of hypoglycemia (< 3 mmol/L) which were rapidly reversed by the administration of an IV glucose bolus. The bolus were all given more than 4 hours after the ingestion of the study drug. No adverse experience was observed during the baseline period.

Discussion

It is well established that there is a lack of consistency in the pharmacokinetic parameters of glyburide reported in different studies (9,14,15,18,22,25). Several factors must be taken into account to explain the high variability.

Drug formulation has been one of the major factors involved to explain kinetics variations. Since its introduction into the market, several preparations of glyburide have been used in clinical trials (9-11,18-21,23). Two dosages (3.5 and 5 mg) are used in current medical practice. In Europe, the micronized 3.5 mg tablet is the standard dosage form whereas, in North America, glyburide is only available as a non micronized 5 mg tablet. These two formulations have been shown to be bioequivalent (18). Micronization, by increasing the particle surface, increases the liberation and dissolution of the drug in the gastrointestinal tract. Since the absorption of glyburide is dissolution-dependent, the formulation will influence the rate and, in some instances, the extent of absorption (21). Increases in absorption rate are clinically important since they can lead to episodes of hypoglycemia (26).

Alternatively, the pharmacokinetics of glyburide may also vary according to the type of population studied: diabetic patients (11,14,15,23,27), elderly healthy volunteers (22) and young healthy volunteers (9,10,17,18,20,21,22,26,28,29). Pathologic states or physiologic differences are thought to alter the bioavailability of the drug (16,22,25,30). It has been postulated that diabetic

neuropathy would reduce the extent of absorption (22). Furthermore, some authors believe that patients suffering from gastro-intestinal diseases leading to a delayed absorption would be at greater risk of unexpected hypoglycemia due to the time discordance between the onset of drug response and food intake (25).

In this study, C_{max} values and AUCs for glyburide were consistently lower than those reported by several investigators (9,18). The apparent oral clearance of the drug is difficult to compare as it is rarely documented in earlier publications and one has to derive this variable from the AUC. A result very close to our Cl_o of 16.58 L/h (Table I: $Cl_o = 0.24 \pm 0.02$ L/h/kg) has been published before (26) but this is lower than what is expected (range: 7.0 to 8.6 L/h) (18,22,28). These differences could be accounted for by a smaller extent / rate of absorption or a higher first pass effect in our volunteers. In contrast, our T_{max} values are in agreement with the 3.5 to 4 h range reported in the literature. The results of glyburide pharmacokinetics observed in the present study are in agreement with those previously reported by most authors in young volunteers with a 5 mg non-micronized formulation (9,18,22,28). The elimination half-life of glyburide is within the 2.1 to 2.9 h range documented in these papers (9,18,22,28).

Finally, the analytical method used is another limiting factor when comparing glyburide plasma concentrations from different studies. Differences in the specificity or sensitivity of analytical techniques have certainly contributed to the lack of reproducibility but it is difficult to evaluate to what extent. This tendency was probably more important in studies prior to 1990 (31). Balant et al. (1977) estimated a longer apparent half-life after chronic use (13 h). Limited specificity of the radioimmunoassay resulted in confusion between the parent drug and its metabolites and in greater perceptible half-life (14,15). In contrast to most studies, Neugebauer et al. reported a rapid elimination half-life (1.5 h) after a 2.5 mg dose of glyburide which may be explained either by a lack of sensitivity of the assay or by the short duration of blood collection (10 h).

The lack of plasma concentration-response relationship with sulfonylurea drugs has often been attributed to large interindividual variations in patients. Nonetheless, an early study reported a good dose-response relationship in healthy subjects after an IV dose of glyburide (12). In a comparative study evaluating the effect of magnesium hydroxide on the kinetics of two glyburide oral preparations, it was demonstrated that co-administration of magnesium hydroxide leads to an increase in the bioavailability of glyburide in healthy volunteers (26). When the non-micronized formulation was used the increase was paralleled by an increased insulin secretion and glucose response. However, no pharmacodynamic changes were associated with the micronized

form. The rate of absorption might have a determinant influence in this finding. This reinforces the role of formulation in the outcome.

Many studies carried out in healthy volunteers assessed the kinetics and dynamics of glyburide (9,10,18,20,22). In these studies, methodological approaches varied widely and inappropriate design was often responsible for the lack of correlation between plasma levels and response. Neugebauer et al. (20) found no relationship between glyburide maximum concentration and glucose minimal blood levels in healthy volunteers. In another study, El-Sayed et al. (9) evaluated the pharmacokinetics and the pharmacodynamics of two oral dosage forms of glyburide in healthy volunteers under standard diet. The absence of a baseline period (standard diet alone, without administration of the drug) obscured the evaluation of the net hypoglycemic effect. Indeed, food administration was a confounding factor in the interpretation of these studies. Nevertheless, the authors observed an important decline in glucose concentration between 3 and 6 h after drug administration, coinciding with the peak concentration of glyburide. This finding is consistent with our data. Another group observed that clinical signs of prolonged hypoglycemia is more likely to happen in patients with higher plasma concentrations of glyburide.

A PK-PD approach similar to that reported herein was described by Schwinghammer et al. (1991) in young and elderly healthy volunteers with the following differences. First, a glucose tolerance test was the only

carbohydrate intake allowed in their design. Second, blood sampling schedule for glucose and insulin was different from that for glyburide. As a consequence, a direct concentration/effect correlation could not be derived. Finally, the fractional change in AUCs for insulin and glucose (Δ AUC) was calculated using AUC between 1 and 4 hours after the administration of glyburide. Therefore, the AUCs comprised between drug administration and the glucose tolerance test carried out 1 hour post-dose were not accounted for. The values for glucose and insulin C_{max} were similar to those reported in this study. When correction for the time of administration was applied to their data, peak levels of insulin and glucose were reached at similar times. We were also able to reach statistical significance for the difference between the change from baseline glycemia under glyburide and control periods. A significant relationship between glyburide AUC and Δ AUC of glucose was demonstrated in our study which was not observed in their group of young subjects.

In a study with diabetic patients, the response time-course for plasma insulin, C-peptide and blood glucose levels after glyburide administration was similar to that observed in our volunteers (8) .

In bioavailability studies, the hypoglycemic effect of glyburide has often been monitored, as a safety measure, without any attempt to correlate the concentration-effect relationship (18,25). However, there is a general

agreement that it is getting more and more imperative to assess hypoglycemic response in bioequivalence trials (9,11,18,20). The importance to determine a good PK/PD model is therefore justified. Besides, the new trends observed in drug development confirm the importance of establishing some correlations between these parameters (32).

The potential risk for the volunteers of experiencing symptomatic hypoglycemia is also of special concern from an ethical point of view. Most of the studies with glyburide reported adverse events, although mild and easily reversible, secondary to the pharmacological action of the study drug. Reasonable action should be undertaken to protect these volunteers to suffer from adverse drug reactions. A number of reports have drawn attention to the high incidence of hypoglycemic adverse events in healthy volunteers after a single dose of glyburide (18), even when glucose is administered orally as a preventive measure. This concern has often been addressed by Institutional Review Boards and Regulatory Agencies. It is then common to include co-administration of glucose orally (solution or raw sugar) but no standards seem to exist. The continuous glucose perfusion used in this project did not interfere with the analysis and controlled the carbohydrate intake in all subjects.

In conclusion, notwithstanding a great inter-subject variability in kinetic and dynamic parameters, it was possible to obtain a significant correlation

between glucose Δ AUC and glyburide AUC in healthy volunteers receiving a continuous IV glucose perfusion.

TABLE I GLYBURIDE PHARMACOKINETIC DATA

Variable	mean \pm s.e.m.
C max (ng/mL)	57 \pm 7
T max (h)	3.9 \pm 0.7
AUC ₀₋₄ (ng . h/mL)	119 \pm 40
Cl o (L/h/kg)	0.24 \pm 0.02
T 1/2 (h)	2.6 \pm 0.2

TABLE II GLYBURIDE PHARMACODYNAMICS

	Control period	Treatment period
AUC 0-4h glucose	24 ± 1	20 ± 1
AUC 0-4h insulin	286 ± 67	340 ± 79
AUC 0-4h C-peptide	34 ± 8	38 ± 8
C _{max} glucose*	9.1 ± 0.6	7.2 ± 0.5
C _{max} insulin	127.8 ± 29.5	115.5 ± 22.5
C _{max} C-peptide	13.6 ± 3.0	15.2 ± 3.4

*Significant difference between control and treatment periods (p = 0.04)

References

1. Kahn CR and Shechter Y. Insulin, oral hypoglycemic agents, and the pharmacology of the endocrine pancreas. In: Goodman & Gilman The pharmacological basis of therapeutics, 8th edition, Pergamon Press, New York, 1990.
2. Feldman JM. Glyburide: A second generation sulfonylurea hypoglycemic agent. History, Chemistry, Metabolism, Pharmacokinetics, Clinical Use and Adverse Events. **Pharmacotherapy** 5:43-62. 1985.
3. Nair KS and Karki SD. Carbohydrate Metabolism *in* Smith CM and Reynard AM. **Textbook of Pharmacology**. W.B. Saunders Company, Philadelphia 741-771. 1992.
4. Gavin JR. Glyburide: New Insights into Its Effects on the Beta Cell and Beyond - Introduction **Am J Med** 89(suppl 2A): 1s-2s. 1990.
5. Koltermann OG, Gray RS, Shapiro G, Scarlett JA, Griffin J and Olefsky JM. The Acute and Chronic Effects of Sulfonylureas Treatment in Type II Diabetic Subjects. **Diabetes** 33:346-5. 1984.
6. McGuinness OP and Cherrington AD. Effect of Glyburide on Hepatic Glucose Metabolism. **Am J Med** 89 (suppl.):26-37. 1990.

7. Simonson DC, Ferrannini E, Bevilacqua S, Smith D, Barret E, Carlson R, De Fronzo RA. Mechanism of improvement in Glucose Metabolism After Chronic Glyburide Treatment. **Diabetes** 33:838-45. 1984.
8. Mulder H, Schopman W and Van der Lely AJ. Extrapropancreatic insulin effect of glibenclamide. **Eur J Clin Pharmacol** 40: 379-81. 1991.
9. El-Sayed YM, Suleiman MS, Hasan MM et al. Comparison of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of two commercial products containing glibenclamide. **Int J Clin Pharmacol Ther Tox** 27(11): 551-7.1989.
10. Ayanoglu G, Witte PU and Badian M. Bioavailability and pharmacodynamics of a sustained-release glibenclamide product in comparison to a standard tablet formulation. **Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol** 21:479-82. 1983.
11. Haupt E, Putshky F, Zultobrocki A and Schoffling K. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of two glibenclamide preparations in type II diabetes. Intra-individual double-blind comparison of Euglucon 5 (HB 419) and Euglucon N(HB 420). **Dtsch med Wschr** 109:210-3. 1984.
12. Haupt E, Koberich W, Beyer J, Schoffling K. Pharmacodynamic aspects of tolbutamide, glibenclamide, glibornuride and glisoxepide: 1; dose response relations and repeated administration in diabetic subjects. **Diabetologia** 7: 449-54. 1971.

13. Almer LO, Johansson E, Melander A and Wahlin-Boll E. Influence of Sulfonylureas on the Secretion, Disposal and Effect of Insulin. **Eur J Clin Pharmacol** 1982; 22: 27-32.
14. Balant L, Zahnd GR, Weber F, Fabre J. Behaviour of glibenclamide on repeated administration to diabetic patients. **Eur J Clin Pharmacol** 11:19-25. 1977.
15. Coppack SW, Lant AF, McIntosh CS and Rodgers AV. Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies of glibenclamide in non-insulin dependant diabetes mellitus. **Br J Clin Pharmacol** 29: 673-84. 1990.
16. Ferner RE and Chaplin S. The Relationship Between the Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Effects of Oral Hypoglycaemic Drugs. **Clin Pharmacokin** 12:379-401. 1987.
17. Spraul M, Streeck A, Nieradzick M and Berger M. Uniform Elimination Pattern for Glibenclamide in Healthy Caucasian Males **Arzneim. - Forsch/Drug Res** 39:1449-50. 1989.
18. Molz KH, Klimmek R, Dilger C et al. Bioequivalence and Pharmacodynamics of a modified Glibenclamide Formulation in Healthy Volunteers. **Arzneim Forsch/Drug Res** 39:1280-3. 1989.
19. Mavradonis A. . Bioavailability of three formulations of glibenclamide [letter] **S Afr Med J** 76:173-4. 1989.

20. Neugebauer G, Betzien, Hrstka V et al. Absolute bioavailability and bioequivalence of glibenclamide (Semi-Euglucon N). **Int J Clin Pharm Ther Tox** 23(9):453-60. 1985.
21. Meyer BH, Muller FU, Luus HG and Eckert HG. Bioavailability of three formulations of glibenclamide. **S Afr Med J** 76:146-7. 1989.
22. Schwinghammer TL, Antal EJ, Kubacka RT, Hackimer ME and Johnston JM. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide in young and elderly nondiabetic adults. **Clin Pharm** 10:532-8. 1991.
23. Sartor G, Melander A, Schersten B, Wahlin-Boll E. Serum glibenclamide in diabetic patients, and influence of food on the kinetics and effects of glibenclamide. **Diabetologia** 18:17-22. 1980.
24. Addison TE, Knuth DW and Hopkins NK. Determination of glyburide in human serum and plasma by HPLC with deuterium source fluorescence detection. **Pharm Res** 7 (suppl):S8. 1990.
25. Ikegami H, Shima K, Tanaka A, Tahara Y, Hirota M and Kumahara Y. Interindividual variation in the absorption of glibenclamide in man. **Acta Endocrinol** 111:528-32. 1986.
26. Neuvonen PJ and Kivisto KT. The effects of magnesium hydroxide on the absorption and efficacy of two glibenclamide preparations **Br J Clin Pharmac** 32: 215-20. 1991.

27. Hoffman A, Fischer Y, Gilhar D and Raz, I. Effect of hyperglycemia on glibenclamide pharmacokinetics and pharmacodynamics in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *in* Danhof M and Peck CC **Measurement and kinetics of in vivo drug effects**. Abstracts of lectures and free communications, Leiden University, Leiden/Amsterdam, 76. 1994.
28. Hartmann D, Korn A, Komjati M, Heinz G, Haefelfinger P, Defoin R and Waldhausl WK. Lack of effect of tenoxicam on dynamic response to concurrent oral doses of glucose and glibenclamide. **Br J Clin Pharmac** 30: 245-52. 1990.
29. Appel S, Kallay Z, Tetzloff W and Kutz K. Investigation of potential *in vivo* pharmacokinetic-pharmacodynamic interactions between a HMGCoA-reductase inhibitor and an oral antidiabetic: fluvastatin and glibenclamide. *in* Danhof M and Peck CC **Measurement and kinetics of in vivo drug effects**. Abstracts of lectures and free communications, Leiden University, Leiden/Amsterdam, 1994:
30. Shargel L and Yu ABC. **Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics**, 3rd edition. Appleton & Lange, Norwalk. 1993.
31. Rydberg T, Whalin-Boll E and Melander A. Determination of glibenclamide in human serum and urine by column liquid chromatography **J Chromatogr** 564:223-33. 1991.

32. Peck CC, Barr WH, Benet LZ, Collins J, Desjardins RE, Furst DE, Harter JG, Levy G, Ludden T, Rodman JH, Sanathanan L, Schentag JJ, Shah VP, Sheiner LB, Skelly JP, Stanski DR, Temple RJ, Viswanathan CT, Weissinger J and Yacobi A. Opportunities for integration of pharmacokinetics, pharmacodynamics, and toxicokinetics in rational drug development. **Clin Pharmacol Ther** 51:465-473. 1992.

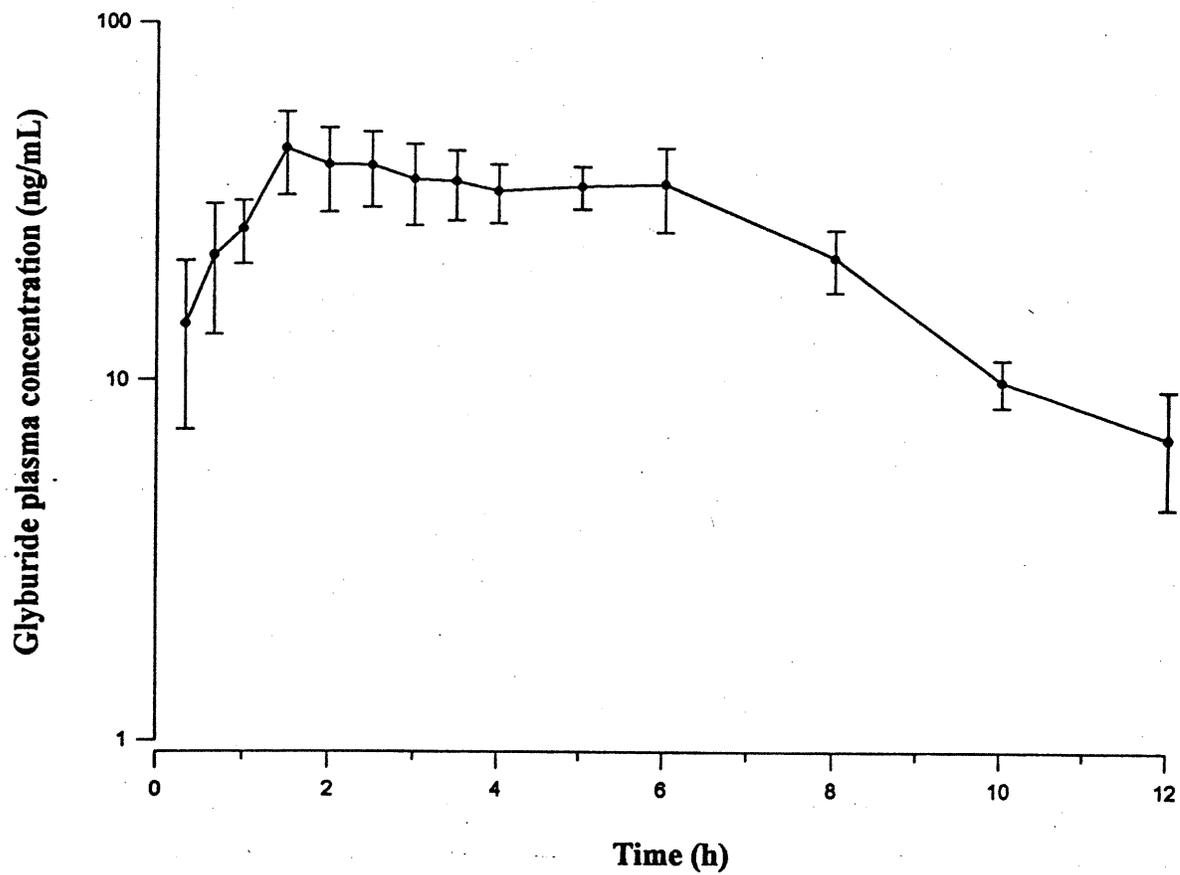


Figure 1 Mean plasma levels of glyburide in 7 healthy subjects after administration of oral glyburide 5 mg. Error bars indicate SEM.

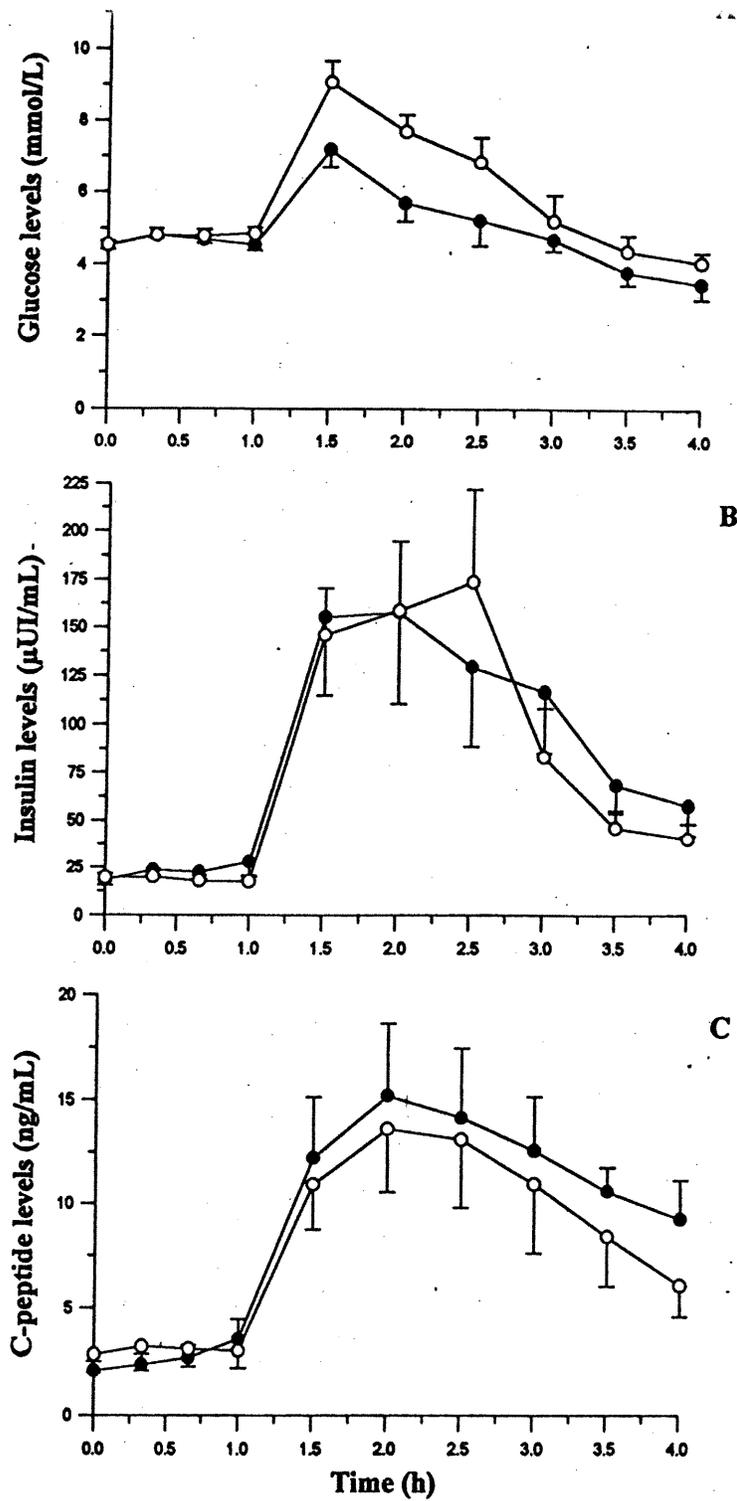


Figure 2 Mean blood glucose, insulin and C peptide plasma levels in 7 healthy subjects during the treatment period, administration of oral glyburide 5 mg (--●--), and during the baseline period (--o--). An oral glucose load was given at 1 hour. Error bars indicate SEM.

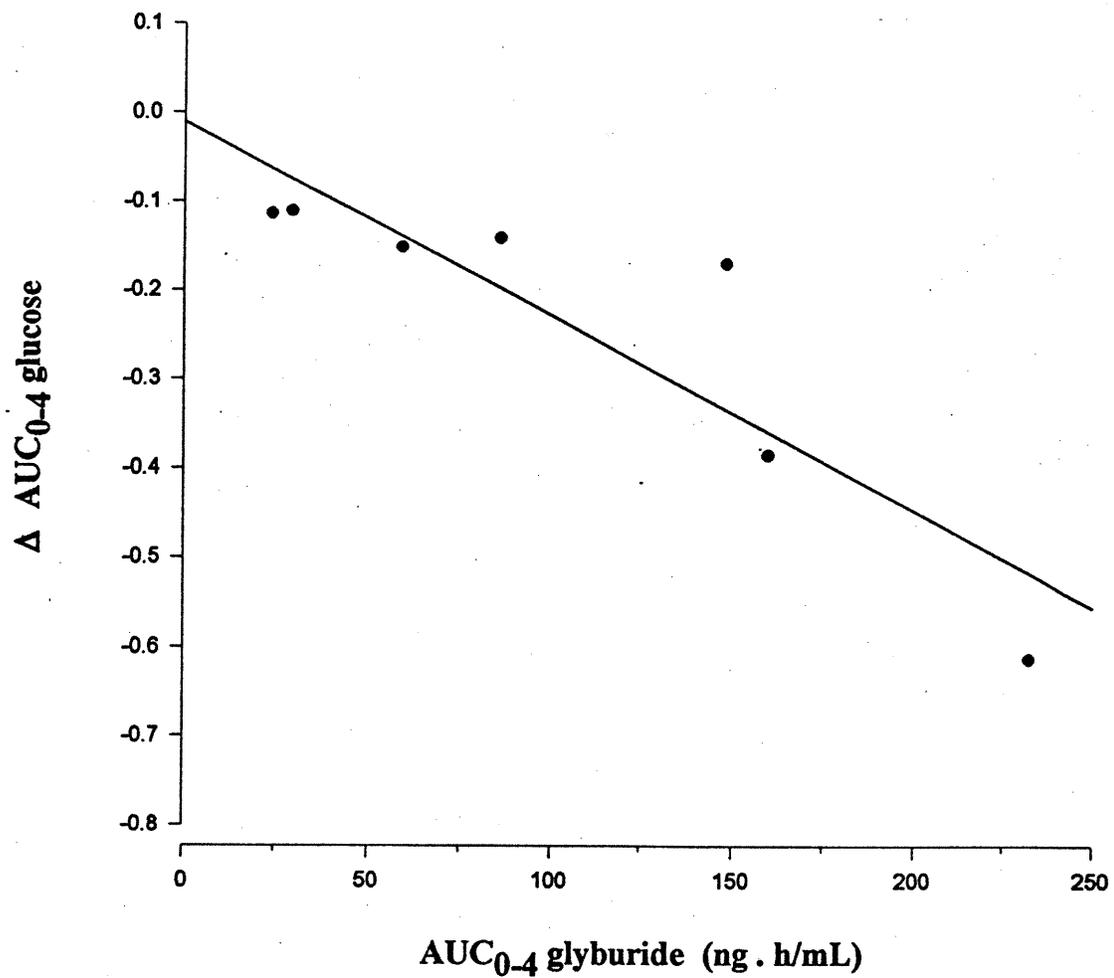


Figure 3 Pharmacokinetic/pharmacodynamic correlation between individual glucose Δ AUC from 0 to 4 hours and glyburide AUC from 0 to 4 hours.

Chapitre 4

Discussion et conclusion générales

4.1 DISCUSSION

Les hypoglycémifiants oraux faisant partie de la classe des sulfonylurées ont toujours démontré des paramètres pharmacocinétiques variables. Les études de pharmacocinétique sur le glyburide n'échappent pas à cette réalité. Il est toutefois important de résumer les différents facteurs qui mènent à ces écarts.

La formulation du comprimé influence la dissolution et l'absorption du glyburide. Au Canada, le produit commercialisé sous le nom de Diaβeta par la compagnie Hoechst-Roussel ainsi que toutes les marques génériques disponibles sont des comprimés soit de 2.5 mg ou 5 mg de glyburide non-micronisé. En second lieu, la cinétique du glyburide varie selon le type de sujet étudié, selon les différentes conditions physiologiques possibles (volontaires sains, patients diabétiques, personnes jeunes ou

âgées, etc.). Finalement, les méthodes d'analyse pour calculer les niveaux plasmatiques de l'hypoglycémiant ont mené, à travers les années, à différentes interprétations des profils pharmacocinétiques quoique cette tendance soit probablement négligeable depuis la publication de techniques de HPLC (Rydberg et al., 1991).

En général, les résultats obtenus dans cette étude sur la pharmacocinétique du glyburide sont en accord avec ceux documentés chez les volontaires sains avec une formulation de 5 mg non-micronisée. Les paramètres $T_{1/2}$, T_{max} et Vd_{ss} dérivés sont compris dans les écarts publiés. Il est difficile de comparer la clairance orale (Cl_o) car les premières études de cinétique documentaient très rarement ce paramètre et il devient nécessaire de dériver Cl_o à partir de la surface sous la courbe. Une valeur similaire à notre Cl_o de 16,58 L/h a été rapportée antérieurement (Neuvonen et Kivisto, 1991) mais ceci demeure inférieur à ce qui fut documenté par d'autres auteurs (Hartmann et al., 1990; Molz et al., 1989; Schwinghammer et al., 1991). Les valeurs pour C_{max} et SSC sont habituellement légèrement inférieures à celles rapportées par plusieurs chercheurs (Molz et al., 1989; Schwinghammer et al., 1991).

Les paramètres C_{max} , T_{max} et $T_{1/2}$ publiés dans une étude de bioéquivalence sont du même ordre de grandeur que les valeurs obtenues dans notre

étude à l'exception de la concentration maximale qui était plus basse chez l'ensemble de nos volontaires (El Sayed et al., 1989).

Balant et al. (1974) évaluèrent la cinétique du glipizide et du glyburide chez un petit nombre de volontaires sains. Dans le groupe glyburide, l'absorption gastro-intestinale fut rapide pour deux sujets et retardée pour 2 autres sujets. La moyenne du T_{max} est de 3 heures mais, malheureusement, les données individuelles ne sont pas indiquées. L'observation qualitative des courbes des concentrations plasmatiques en fonction du temps décrivait un "effet de nez", c'est à dire une élévation rapide et une chute rapide des concentrations du glyburide immédiatement avant et après l'atteinte du pic. Ce phénomène a également été observé chez nos volontaires (figure 1). Une fois de plus, leur groupe présente des valeurs de C_{max} plus élevées: la moyenne n'est pas rapportée mais les auteurs mentionnent des valeurs de 170 à 360 ng/mL. Le temps de demi-vie d'élimination est qualifié de variable avec le temps, même pour un essai clinique à dose unique. Selon l'intervalle de temps à l'intérieur duquel on calcule ce paramètre, le $T_{1/2}$ rapporté se situe entre 2.1 et 7 heures (moyenne des 4 volontaires).

Le fait que le C_{max} moyen obtenu dans la présente étude soit inférieur à ce qui est généralement rapporté peut être dû à une vitesse/taux d'absorption inférieur/e ou un plus grand premier passage hépatique chez nos volontaires. D'autre part, Campbell (1980) a décrit deux types de sujets en

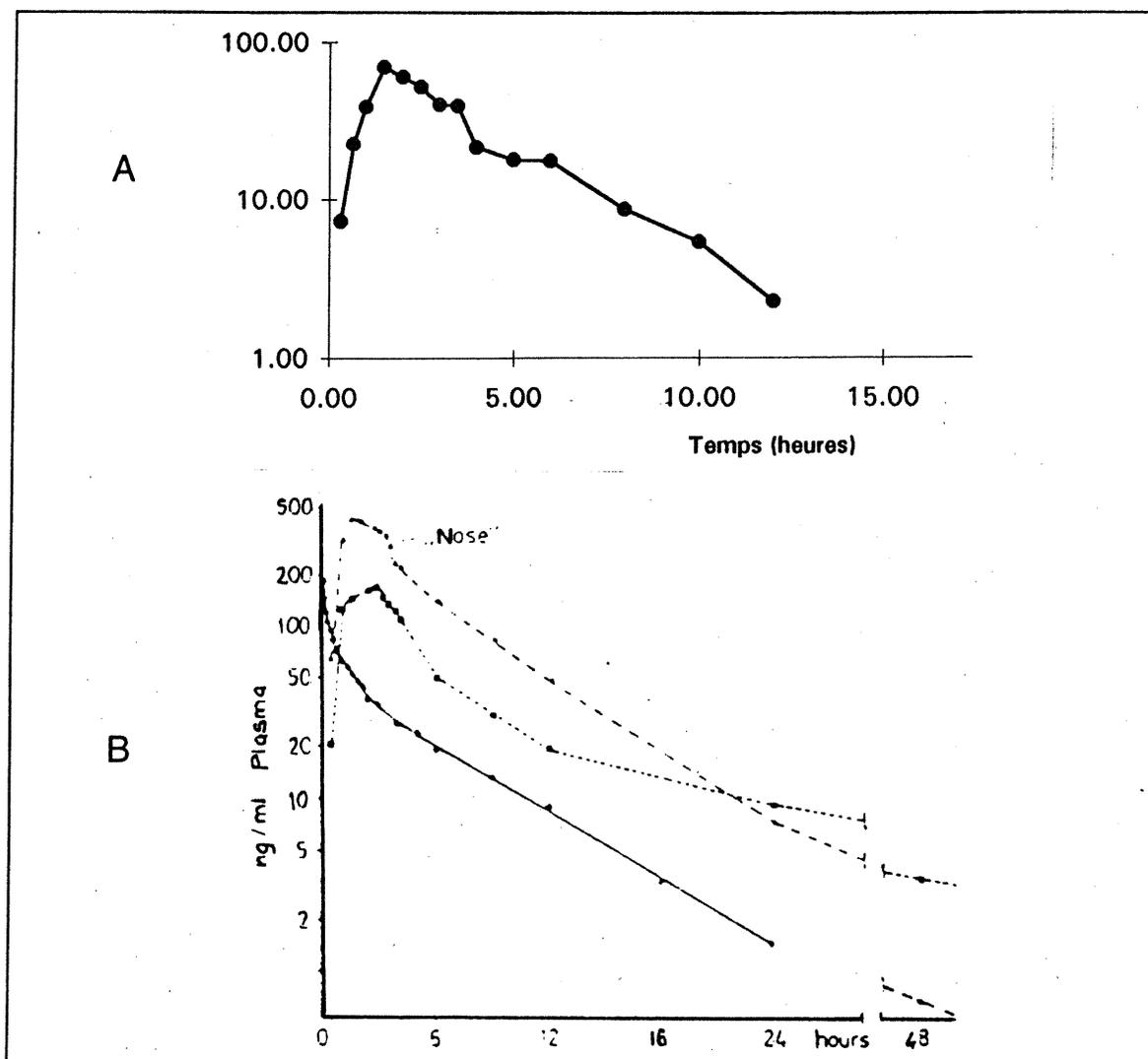


Figure 1: Conc. plasmatiques décrivant un "effet de nez"

Conc. plasmatiques de glyburide et de glipizide

A) présente étude (glyburide p.o.)

B) Balant et al., 1974 glipizide p.o. (-●-●-);

glyburide p.o. (- - -) ou glipizide I.V. (—)

ce qui concerne l'absorption gastro-intestinale du gliclazide, une autre sulfonylurée de seconde génération: les absorbeurs "lents" et les absorbeurs "rapides". Environ un tiers des diabétiques étudiés montrèrent également une absorption retardée du glyburide après son administration orale (Ikegami et al., 1986). Ceci pourrait contribuer à la complexité de la pharmacocinétique de cette classe. D'ailleurs, d'autres molécules faisant partie de classes pharmacologiques différentes semblent également posséder ce type de profil d'absorption lente/rapide selon le type de patient.

La réponse au glyburide peut être influencée physiologiquement au moment de l'administration. C'est du moins ce que Hoffmann et al. (1994) soutiennent en observant que des sujets diabétiques démontrent une plus grande chute du glucose sanguin lorsque le médicament est administré dans une période d'hyperglycémie. Ceci est en accord avec nos résultats: l'absence de différence significative entre les périodes contrôle et traitement pour l'insuline pourrait s'expliquer par le fait que nos volontaires étaient tous normoglycémiques, ce qui réduit le besoin de sécréter un supplément d'insuline. Une deuxième hypothèse met en jeu les mécanismes d'action multiples des sulfonylurées: l'effet du glyburide serait dû à une augmentation de la recaptation hépatique du glucose. Les changements dans l'utilisation périphérique du glucose ont cependant été observés, dans la littérature, suite à un usage chronique d'hypoglycémiant oraux et non pas après une dose unique (Groop et al., 1988; Kolterman et al., 1984).

La courbe des concentrations plasmatiques du glucose en fonction du temps suite à l'administration d'une dose unique de 5 mg de glyburide p.o. chez 12 diabétiques illustre un profil semblable à ce que nous avons observé pendant les 4 premières heures d'échantillonnage (Coppack et al., 1990). La consommation de repas après cette période masque les comparaisons ultérieures. Malgré la consommation de nourriture durant leur étude et un devis utilisant seulement une période traitement, nos résultats concordent assez bien avec ceux d'El-Sayed et al. (1989) en ce qui a trait à la période d'effet maximum du glyburide sur la diminution de la glycémie (figure 2).

On voit donc l'importance d'avoir un devis d'étude adéquat pour caractériser la réponse: d'abord une consommation d'hydrates de carbones standard, ensuite, si possible, un protocole en chassé-croisé qui permet de comparer les valeurs de base avec la réponse obtenue après administration du médicament. Si une forme de corrélation concentration/réponse est envisageable, ce sera durant les quelques heures suivant l'administration de l'hypoglycémiant oral. La moindre différence entre les sujets par rapport à la prise de sucre risque d'insérer un artéfact pour le calcul de la réponse. Même l'activité physique légère à modérée influence la sécrétion de l'insuline et l'utilisation du glucose. Dans une étude qui prenait place à l'intérieur d'une unité de recherche clinique, on a prouvé que la réponse à l'insuline était augmentée suite à

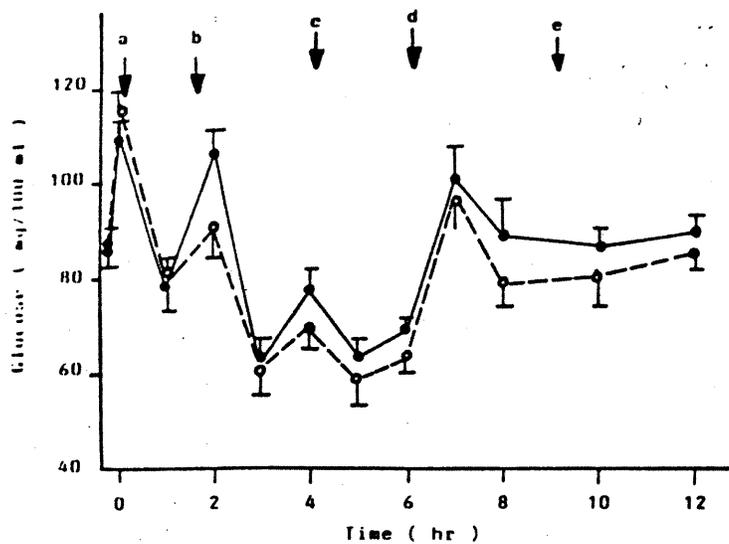


Fig. 3. Mean serum glucose levels following administration of (5 mg) glybenclamide tablets to 16 healthy male volunteers ○---○, Daonil®; ●---●, Glucomid®. a, drug administration; b, breakfast; c, orange juice + 5 gm sugar; d, lunch; e, snack

Figure 2: Concentrations moyennes de glucose pour 2 préparations de glyburide. Une diminution significative des concentrations est démontrée entre 3 et 6 h post-dose. (El Sayed, 1989).

une hyperglycémie provoquée chez des volontaires avec activité physique restreinte (Mikines et al., 1989).

Mulder et al. (1991) respectaient ces conditions énoncées plus haut dans leur étude sur la pharmacodynamie du glyburide, bien qu'un repas standard était utilisé au lieu d'une charge orale de glucose. Les moyennes des 8 patients diabétiques pour les paramètres C_{\max} du glucose et de l'insuline étaient plus élevées que celles de notre groupe, ce qui était prévu compte tenu des différentes populations. Puisque nous n'avons pas détecté de différence significative entre les concentrations de peptide C des périodes traitement et contrôle, il nous a été impossible d'observer comme ces auteurs un effet extra-pancréatique du glyburide chez nos volontaires (diminution du catabolisme hépatique de l'insuline), en comparant les niveaux d'insuline et de peptide C.

Lorsque la bioéquivalence d'une capsule de glyburide à libération prolongée fut testée face à un comprimé à libération immédiate, les valeurs de T_{\max} pour l'insuline et le peptide C des deux formulations ainsi que du DiaBeta® utilisé dans notre étude étaient du même ordre de grandeur (Ayanoglu et al., 1983).

Aucune corrélation significative n'a été détectée dans la présente étude en utilisant les simples concentrations plasmatiques de glyburide et des

marqueurs de la réponse. Un calcul mathématique impliquant un ratio entre les concentrations de glyburide et le changement dans la réponse, déjà développé par Schwinghammer et al. (1991), était essentiel pour obtenir un résultat intéressant.

Notre protocole avait un devis expérimental similaire à celui de cette publication (Schwinghammer et al., 1991). La pharmacocinétique et la pharmacodynamie du glyburide entre les sujets jeunes et les sujets âgés (non diabétiques) étaient décrites extensivement. Les résultats sur le $T_{1/2}$ et le T_{max} du glyburide sont comparables. Les deux principales distinctions méthodologiques à souligner entre leur projet et le nôtre est la procédure pour collecter les échantillons plasmatiques et le calcul du ratio "réponse / exposition au produit".

L'horaire de collecte des échantillons plasmatiques pour calculer les paramètres de dynamique était indépendant de la collecte d'échantillons pour calculer les concentrations plasmatiques de glyburide. Ceci a pour conséquence de compliquer la véritable relation pharmacocinétique/pharmacodynamie. En effet, les concentrations de marqueurs physiologiques (glucose et insuline) ne correspondent jamais aux concentrations du médicament pour ces moments précis. La seconde différence au niveau de la méthodologie est la manière de calculer le changement fractionnel de la "surface sous la courbe" du glucose et de

l'insuline (Δ SSC) entre la période contrôle et la période traitement. Schwinghammer a utilisé la SSC de 1 à 4 heures après l'administration du médicament en comparaison à la SSC de 0 à 4 heures dans notre cas. Ainsi la SSC comprise entre l'administration du glyburide et la charge orale de glucose n'est pas prise en considération dans l'étude de Schwinghammer. Lorsque la correction pour le temps d'administration est appliquée, les concentrations maximales de glucose et d'insuline sont atteintes aux mêmes temps dans les deux études. L'article de ce groupe illustre une différence significative entre la période traitement et la période contrôle pour les paramètres suivants: SSC du glucose, C_{\max} de l'insuline et SSC de l'insuline. Notre étude n'a pas réussi à détecter ces différences auxquelles on s'attendait, que l'on utilise le paramètre $SSC_{1-4\ h}$ ou $SSC_{0-4\ h}$. Les mêmes conclusions sont tirées si on calcule la réponse nette en faisant une simple soustraction des SSC des périodes traitement et contrôle ($SSC_{glyb} - SSC_{ctrl}$) ou si le rapport est porté sur la période contrôle plutôt que la période traitement ($SSC_{glyb} - SSC_{ctrl} / SSC_{glyb}$). Notons cependant qu'une différence significative entre les périodes traitement et contrôle a été détectée en comparant la variation de glycémie par rapport aux valeurs de base de chaque patient ($p=0.04$).

Une régression linéaire a été dérivée entre la SSC du glyburide et le " Δ SSC" de glucose et d'insuline. Une grande variabilité est observée à l'intérieur de notre groupe de sujets sains, ce qui est en accord avec les

conclusions de Schwinghammer. Nous avons obtenu un coefficient de régression $r = 0.892$, $p = 0.007$ pour le glucose. Aucune corrélation significative n'a été décelée avec l'insuline.

Il est permis de ce questionner sur l'efficacité de la perfusion de glucose décrite dans notre méthodologie: malgré cette précaution, 3 patients sur 7 ont développé des symptômes légers d'hypoglycémie durant l'étude. Ils ont été rapidement rétablis par l'injection d'un bolus de glucose. La dose utilisée (soit 5 g/heure de glucose) est négligeable lorsque l'on compare avec les taux de perfusion entre 5 et 8 mg/kg/min (c'est à dire de 21 à 33 g/heure pour des sujets de 70 kg) utilisés pour des études de résistance à l'insuline (DeFronzo et al., 1979; Hosker et al., 1985). Notre perfusion n'a probablement pas atteint l'augmentation souhaité de la glycémie de base des sujets pour éviter les signes d'hypoglycémie. Cette incidence d'effets indésirables légers est cependant en accord avec les données publiées dans la littérature (Foster et al., 1980; Hartmann et al., 1990; Jaber et al., 1990; Marchetti et al., 1991; Molz et al., 1989; Schwinghammer et al., 1991).

Une technique appelée "clamp hyperinsulinémique euglycémique" servant à évaluer la sensibilité à l'insuline et les mécanismes physio-pathologiques de l'insulinorésistance est décrite dans la documentation scientifique (De Fronzo et al., 1979; Robert JJ, 1995). Elle consiste à infuser de l'insuline

par voie intra-veineuse à débit constant et de simultanément administrer du glucose I.V. à l'aide d'une pompe pour conserver une glycémie à l'état stable. Il aurait été difficile d'utiliser cette méthode dans notre projet: elle est coûteuse, requiert plus de manipulations, plus de personnel et du matériel spécialisé tel qu'un ordinateur contrôlant de débit de la pompe qui perfuse le glucose (Hosker et al., 1985; Gullet et Leutenegger, 1994). D'après les articles consultés, cette technologie n'a pas été utilisée pour évaluer l'effet des hypoglycémiantes oraux. Puisque les sujets sains utilisés dans notre étude ne souffraient pas de résistance à l'insuline, le clamp euglycémique, qui demeure une épreuve métabolique complexe, présentait peu d'avantages.

À notre connaissance, aucune autre étude sur les hypoglycémiantes oraux n'utilisaient de perfusion continue de glucose pour prévenir les hypoglycémies et standardiser la façon d'évaluer la réponse au médicament.

Bien que ce soit pour une classe pharmacologique tout à fait différente, Davis et al. (1990) ont développé un modèle similaire. La quinine, un agent antipaludéen, et la quinidine, son énantiomère, ont toutes deux comme effet secondaire la diminution de la glycémie. Le mécanisme de cet effet est, tout comme les hypoglycémiantes oraux, l'augmentation de la sécrétion de l'insuline. La malaria quant à elle, apporte une résistance à l'insuline.

Donc, pour mieux étudier la réponse nette suite à la prise de quinine ou de quinidine, ce groupe de chercheurs a instauré ce modèle simple qui mime l'homéostasie du glucose. Il s'agit d'une infusion I.V. constante de 5 mg dextrose/kg poids idéal/minute (soit environ 21 g/h pour une personne de 70 kg). Ce modèle joue le même rôle que notre perfusion de glucose 5 g/heure bien qu'il n'ait pas la même importance sur l'aspect "protecteur" du patient.

4.2 CONCLUSION

La grande popularité du glyburide à travers le monde en fait une molécule de référence pour la recherche clinique sur le diabète sucré non-insulinodépendant. Toutes les sulfonylurées ont les mêmes mécanismes d'action mais les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques varient d'une molécule à l'autre et l'expérience suggère que les sulfonylurées de seconde génération auraient de nombreux avantages sur celles de la première génération (moins d'effets secondaires, dose efficace plus faible, meilleur profil d'élimination chez les populations à risque, etc.).

La grande variabilité inter-individuelle pour la pharmacocinétique du glyburide est un facteur qui a ralenti le développement de ce produit au fil des ans. D'un autre côté, ceci a eu pour avantage de pousser les chercheurs à utiliser différentes façons de contourner le problème et de mettre au point des méthodes d'analyse plus précises et plus spécifiques. Des formulations pharmaceutiques démontrant une meilleure dissolution et par le fait même une biodisponibilité optimale ont finalement atteint le marché.

Le manque de corrélation dose-réponse généralement décrit dans la documentation scientifique et l'état actuel des connaissances sur le concept concentration plasmatique-réponse démontrent qu'il y a encore beaucoup à apprendre sur la relation PK/PD des hypoglycémiantes oraux.

En bref, malgré la grande variabilité entre les sujets pour les paramètres de cinétique et d'efficacité de cette étude, il est possible d'obtenir une corrélation pharmacocinétique/pharmacodynamie significative chez les volontaires sains recevant une perfusion I.V. de glucose.

BIBLIOGRAPHIE

- Adams WJ, Skinner GS, Bombardt PA, Courtney M and Brewer JE. Determination of glyburide in human serum by liquid chromatography with fluorescence detection. **Analytical Chem** 1982; 54(8):1287-91.
- Almer LO, Johansson E, Melander A and Wahlin-Boll E. Influence of Sulfonylureas on the Secretion, Disposal and Effect of Insulin. **Eur J Clin Pharmacol** 1982; 22: 27-32.
- Anonymous. The 11th International Immunology and Diabetes Workshop. The 3rd International Diabetes Immunotherapy Group Symposium. Nagasaki, Japan, Nov 14-17, 1991. Abstracts. **Diab Res Clin Pract** 1991; 1(suppl):s1-s97.
- Asmal AC and Marble A. Oral hypoglycemic agents. An update. **Drugs** 1984;28:62-78.
- Ayanoglu G, Witte PU and Badian M. Bioavailability and pharmacodynamics of a sustained-release glibenclamide product in comparison to a standard tablet formulation. **Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol** 1983;21:479-82.
- Badian M, Korn A, Lehr KH, Malerczyk V and Waldhausl W. Determination of the absolute bioavailability of glimepiride (HOE 490), a new sulfonylurea. **Int J Clin Pharm Ther Tox** 1992;30(11):481-2.

- Balant L , Fabre J, Loutan L, Samimi H. Does 4-trans-hydroxy-glibenclamide show hypoglycemic activity? **Arzneim Forsh** 1979;29,162-3
- Balant L, Fabre J and Zahn GR. Comparison of the pharmacokinetics of glipizide and glibenclamide in man. **Eur J Clin Pharmacol** 1975;8:63-9.
- Balant L, Zahn GR, Weber F and Fabre J. Behaviour of glibenclamide on repeated administration to diabetic patients. **Eur J Clin Pharmacol** 1977;11:19-25.
- Balant L. Clinical Pharmacokinetics of Sulfonylureas. **Clin Pharmacokin** 1981;6:215-41.
- Becker R. Fluorometric determination of glibornuride in plasma and serum using 7-chloro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole. **Arzneim Forsch** 1977;27:102-5.
- Birk VW, Schmidt HAE and Petrides P. ¹⁴C-Glibenclamide Concentration in Serum and ¹⁴C-Glibenclamide Urine Excretion in Diabetic Patients with Simultaneous Determination of Blood Glucose and Insulin. **Arzneim Forsh** 1978; 28:330-7.
- Boyd AE, Aguilar-Bryan L and Neilson DA. Molecular mechanisms of action of glyburide on the beta cell. **Am J Med** 1990;89(suppl. 2A):3s-10s.
- Boyd AE. Sulfonylurea Receptors, Ion Channels, and Fruit Flies. **Diabetes** 1988; 37:847-50.
- Caro JF. Effects of Glyburide on Carbohydrate Metabolism and Insulin Action in the Liver. **Am J Med** 1990;89(suppl 2A):17S-25S.

- Castoldi D and Tofanetti O. Gas chromatography determination of glyburide in plasma. **Clin Chem Acta** 1979; 93:195-8.
- Campbell DB, Adrianssen P, Hopkins YW, Gordon B, Williams JRB. Pharmacokinetics and metabolism of gliclazide: a review. In Kenn et al. (Eds) Gliclazide and the treatment of diabetes. **International Congress and Symposium Series** No 20, pp. 71-82, Academic Press, Royal Society of Medicine, London, 1980.
- Chalk JB, Patterson M, Smith MT and Eadie MJ. Correlation between in vitro dissolution in vivo bioavailability and hypoglycemic effect of oral glibenclamide. **Eur J Clin Pharmacol** 1986;31:177-82.
- Chanson P. Physiopathologie du diabète non insulinodépendant **Médecine Science** 1991; 7(4):336-45.
- Coppack SW, Lant AF, McIntosh CS and Rodgers AV. Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies of glibenclamide in non-insulin dependant diabetes mellitus. **Br J Clin Pharmac** 1990; 29: 673-84.
- Dahl-Puustinen, Alm C, Bertilsson L, Christenson I, Ostman J, Thunberg E and Wikstrom I. Lack of relationship between glibenclamide metabolism and debrisoquine or mephenytoin hydroxylation phenotypes. **Br J Pharmac** 1990;30:476-80.
- Davidson MB and Sladen G. Effect of glyburide on glycogen metabolism in cultured rat hepatocytes. **Metabolism** 1987;36(10):925-30.
- Davis TME, Karbwang J, Loareesuwan S, Turner RC, White NJ, Pukrittayakamee S and Supanaranond W. Comparative effects of

quinine and quinidine on glucose metabolism in healthy volunteers.

Br J Clin Pharmacol 1990; 30:397-403.

De Fronzo RA, Ferranni E, Kojivisto V. New concepts in the pathogenesis and treatment of non-insulin dependant diabetes mellitus. **Am J Med** 1983;74(suppl 1A):52-81.

De Fronzo RA. The Triumvirate: β -Cell, Muscle, Liver. A Collusion Responsible for NIDDM. **Diabetes** 1988;37:667-87.

De Fronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. **Am J Physiol** 1979;237:E214-23.

Duckworth WC, Solomon SS and Kitabchi AE. Effect of chronic sulfonylurea therapy on plasma insulin and proinsulin levels. **J Clin Endocrinol Metab** 1972;35:585-91.

El-Sayed YM, Suleiman MS, Hasan MM, Abdel-Hamid ME, Najib NM, Sallam ESE and Shubair MS. Comparison of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of two commercial products containing glibenclamide. **Int J Clin Pharmacol Ther Tox** 1989;27(11): 551-7.

Elsenhans B, Blume R, Zoltbrocki M and Caspary WF. Comparison of the effect of two different hypoglycemic agents, glibenclamide and HB 699, on the rat small intestinal absorption of sugars and amino acids. **Biochem Pharmacol** 1986;35(17):2929-35.

- Emilsson H, Sjöberg S, Svedner M and Christenson I. High-performance liquid chromatographic determination of glyburide in human plasma and urine. **J Chromatog** 1986; 383:93-102.
- Feldman JM. Glyburide: a second-generation sulfonylurea hypoglycemic agent. **Pharmacotherapy** 1985;5:43-62.
- Ferner RE and Chaplin S. The Relationship Between the Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Effects of Oral Hypoglycaemic Drugs. **Clin Pharmacokin** 1987;12:379-401.
- Fleishaker JC and Phillips JP. Evaluation of a Potential Interaction Between Erythromycin and Glyburide in Diabetic Volunteers. **J Clin Pharmacol** 1991;91:259-62.
- Foster KJ, Griffith AH, Dewbury K, Wright R. Liver disease in patients with diabetes mellitus. **Postgrad Med J** 1980;56:762-72.
- Fucella LM, Tamassia V and Valgelli S. Metabolism and kinetics of the hypoglycemic agent glipizide in man. Comparison with glibenclamide. **J Clin Pharmacol** 1973;13:68.
- Fuckel D and Petzinger E. Interaction of sulfonylureas with the transport of bile acids into hepatocytes. **Eur J Clin Pharmacol** 1992; 213: 393-404.
- Garrel DR, Picq R, Bajard L, Harfouche M and Tourniaire J. Acute effect of glyburide on insulin sensitivity in type I diabetic patients. **J Clin Endocrinol Metab** 1987;65:896-900.

- Gavin JR. Glyburide: New Insights into Its Effects on the Beta Cell and Beyond - Introduction **Am J Med** 1990;89(suppl 2A): 1s-2s.
- Gerich JE. Oral hypoglycemic agents. **New Engl J Med** 1989;321(18):1231-45.
- Groop LC, Groop PH, Stenman S, Saloranta C, Totterman KJ, Fyhrquist F and Melander A. Do Sulfonylureas Influence Hepatic Insulin Clearance? **Diabetes Care** 1988; 11(8):689 [letter].
- Groop LC, Groop PH, Stenman S, Saloranta C, Totterman KJ, Fyhrquist F and Melander A.. Comparison of Pharmacokinetics, Metabolic Effects and Mechanisms of Action of Glyburide and Glipizide During Long-term Treatment. **Diabetes Care** 1987; 10(6):671-78.
- Gruet H et Leutenegger M. Tests de tolérance à l'insuline. **Presse Med** 1994; 23:943-7.
- Gwilt PR, Nahhas RR and Tracewell WG. The effects of diabetes mellitus on pharmacokinetics and pharmacodynamics in humans. **Clin Pharmacokin** 1991;20(6):477-90.
- Hartmann D, Korn A, Komjati M, Heinz G, Haefelfinger P, Defoin R and Waldhausl WK. Lack of effect of tenoxicam on dynamic response to concurrent oral doses of glucose and glibenclamide. **Br J Clin Pharmac** 1990; 30: 245-52.
- Haupt E, Putshky F, Zultobrocki A and Schoffling K. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of two glibenclamide preparations in type II diabetes. Intra-individual double-blind comparison of Euglucon 5

(HB 419) and Euglucon N (HB 420). **Dtsch med Wschr** 1984;109:210-3

Held H. Pharmacokinetics of glymidine (glycodiazine) and tolbutamide in acute and chronic liver diseases. **Arzneim Forsch Drug Res** 1973;23(12): 1801-7.

Heptner W, Badian M, Baunder S, Hellstern C, Irmish R, Rupp W, Weimer K and Wissmann H. A radioimmunoassay for determination of glibenclamide and other sulfonylureas. **Pharm Res** 1984;5:142-4.

Heptner W, Kellner HM, Christ O, Weihrarch D. Metabolism von HB419. **Arzneim. - Forsch** 1969;19(suppl):1400-4.

Hoechst-Roussel Canada. Diabeta. Monographie du produit. Montréal, Québec. Mars 1994.

Hosker JP, Matthews DR, Rudenski AS, Burnett MA, Darling P, Bown EG, Turner RC. Continuous infusion of glucose with model assessment: measurement of insulin resistance and β -cell function in man. **Diabetologia** 1985; 28:401-11.

Huupponen R, Viikari Y and Saarimaa H. Chlorpropramide and glibenclamide serum concentration in hospitalised patients. **Ann Clin Res** 1982; 14:119-22.

Ikegami H, Shima K, Tanaka A, Tahara Y, Hirota M and Kumahara Y. Interindividual variation in the absorption of glibenclamide in man. **Acta Endocrinol** 1986;111:528-32.

- Jaber LA, Wenzloff NJ, Komanicky P and Antal EJ. An Evaluation of the Therapeutic Effects and Dosage Equivalence of Glyburide and Glipizide. **J Clin Pharmacol** 1990; 30:181-8.
- Janbon M, Chaptal J, Vedel A and Schoop J. Accidents hypoglycémiques graves par un sulfamido-thiadiazole (le VK 57 ou 2254 RP). **Montpellier Med** 1942;441:21-2.
- Jennings AM, Wilson RM and Ward JD. Symptomatic hypoglycemia in NIDDM patients treated with oral hypoglycemic agents. **Diabetes Care** 1989;12(3):203-08.
- Joubert PH, Venter HL and Foukaridis GN. The effect of miglitol and ascarbose after an oral glucose load: a novel hypoglycaemic mechanism ? **Br J Clin Pharmacol** 1990; 30(3):391-6.
- Kahn CR and Shechter Y. Insulin, oral hypoglycemic agents, and the pharmacology of the endocrine pancreas. *in* **Goodman & Gilman The pharmacological basis of therapeutics**, 8th edition, Pergamon Press, New York, 1990.
- Karam JH. **Pancreatic hormones & Antidiabetic Drugs.** *in* Katzung BG. **Basic and Clinical Pharmacology** 3rd edition, Appleton & Lange, Norwalk, 1987: 484-96.
- Karttunen P, Uusitupa M, Nykanen S, Robinson JD and Sipila J. The pharmacokinetics of glibenclamide: a single dose comparison of four preparations in human volunteers. **Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol** 1985; 23(12):642-6.

- Kawazu S, Suzuki M, Negishi K, Watanabe T and Ishi J. Studies of Midaglizole (DG-5128). A New Type of Oral Hypoglycemic Drug in Healthy Subjects **Diabetes** 1987; 36:216-20.
- Kennedy DL, Piper JM and Baum C. Trends in use of oral hypoglycemic agents. 1964-1986. **Diabetes Care** 1988;11(7):558-62.
- Kingston ME, Ali MA, Atiyeh M and Donnely RJ. Diabetes Mellitus in chronic active hepatitis and cirrhosis. **Gastroenterology** 1984; 87:688-94.
- Kivisto KT, Lehto P and Neuvonen PJ. The effects of different doses of sodium bicarbonate on the absorption and activity of non-micronized glibenclamide. **Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol** 1993;31(5): 236-40.
- Koltermann OG, Gray RS, Shapiro G, Scarlett JA, Griffin J and Olefsky JM. The Acute and Chronic Effects of Sulfonylureas Treatment in Type II Diabetic Subjects. **Diabetes** 1984;33:346-5.
- Kreisberg RA. The 2nd generation sulfonylureas: change or progress? **Ann Intern Med** 1985;102:126
- Labauve JP. **Pharmacocinétique. Principes fondamentaux** 2e édition. Masson, Paris, 1988. 598 p.
- Lebovitz HE. Oral Hypoglycemic Agents. *in* Rifkin H and Porte D. **Ellenberg and Rifkin's Diabetes Mellitus. Theory & Practice.** 4th edition, Elsevier, New York, 1990: 554-74.
- Lewis AAG. Glibenclamide. **Postgrad Med J** 1970;46(suppl.):1-100.

- Loubatière A. Relations entre la structure moléculaire et l'activité hypoglycémiantes des aminosulfamidés hypoglycémiantes. **Arch Int Physiol** 1944;54:174-7.
- Marchetti P, Giannerelli R, di Carlo A and Navalesi R. Pharmacokinetic Optimisation of Oral Hypoglycaemic Therapy, **Clin Pharmacokin** 1991; 21(4):308-17.
- Marchetti P and Navalesi R. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of oral hypoglycemic agents. **Clin Pharmacokin** 1989; 16:100-28.
- Mavradonis A. Bioavailability of three formulations of glibenclamide [letter] **S Afr Med J** 1989;76:173-4.
- McGuinness OP and Cheringtong AD. Effect of Glyburide on Hepatic Glucose Metabolism. **Am J Med** 1990;89 (suppl.):26-37.
- Melander A , Bitzen PO, Faber O and Groop L. Sulfonylurea Antidiabetic Drugs. An Update on their Clinical Pharmacology and Rational Therapeutic Use. **Drugs** 1989; 37:58-72.
- Meyer BH, Muller FU, Luus HG and Eckert HG. Bioavailability of three formulations of glibenclamide. **S Afr Med J** 1989;76:146-7.
- Midha KU, McGilveray IJ and Charette C. GLC determination of plasma levels of intact chlorpropamide of tolbutamide. **J Pharm Sci** 1976; 65:576-9.

- Molz KH, Klimmek R and Dilger C. Bioequivalence and Pharmacodynamics of a modified Glibenclamide Formulation in Healthy Volunteers. **Arzneim Forsch/Drug Res** 1989;39:1280-3.
- Morley JE, Mooradian AD, Rosenthal MJ and Kaiser FE. Diabetes mellitus in elderly patients. Is it different? **Am J Med** 1987;83:533-44
- Mulder H, Schopman W and Van der Lely AJ. Extraprostatic insulin effect of glibenclamide. **Eur J Clin Pharmacol** 1991; 40: 379-81.
- Murray, M. P450 Enzymes. Inhibition Mechanisms, Genetic Regulation and Effects of Liver Disease. **Clin Pharmacokin** 1992;23 (2): 132-46.
- Muting D, Wohlgemuth D and Dorsett R. Liver cirrhosis and diabetes mellitus **Geriatrics** 1969;24(1):91-9.
- Nair KS and Karki SD. Carbohydrate Metabolism. *in* Smith CM and Reynard AM. **Textbook of Pharmacology**. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1992: 741-771.
- Neugebauer G, Betzien, Hrstka V, Kaufmann E, von Mollendorff E and Abshagen U. Absolute bioavailability and bioequivalence of glibenclamide (Semi-Euglucon N). **Int J Clin Pharm Ther Tox** 1985;23(9):453-60.
- Neuvonen PJ and Kivisto KT. The effects of magnesium hydroxide on the absorption and efficacy of two glibenclamide preparations **Br J Clin Pharmacol** 1991; 32: 215-20.

- O'Meara NM, Shapiro ET, Van Cauter E, Polonsky KS. Effect of glyburide on beta cell responsiveness to glucose in non-insulin dependant diabetes mellitus **Am J Med** 1990;89(suppl. 2A):11s-15s.
- Pearson JG . Pharmacokinetics of glibenclamide. **Am J Med** 1985; 70 (suppl 3b):67-71.
- Pearson JG, Antal EJ, Raehl CL, Gorsh HK, Craig WA, Albert KS and Welling PG. Pharmacokinetic disposition of ¹⁴C-glyburide in patients with varying renal function. **Clin Pharmacol Ther** 1986;39: 318-24.
- Pearl GF, Boutagy J and Shenfield. The metabolism of glyburide in subjects of known debrisoquin phenotype. **Clin Pharmacol Ther** 1989;45:277-84.
- Prendergast BD. Glyburide and glipizide, second-generation oral sulfonylurea hypoglycemic agents. **Clinical Pharmacy** 1984;3:473-85.
- Robert JJ. Méthodes de mesure de la résistance à l'insuline. Clamp hyperinsulinémique euglycémique. **Presse Med** 1995; 24:730-4.
- Rodger W. Non-insulin-dependent (type II) diabetes mellitus. **Can Med Assoc J** 1991;145(12): 1571-81.
- Rogers HJ, Spector RG, Morrison PJ, Bradbrook ID. Pharmacokinetics of intra-venous glyburide. **Diabetologia** 1982;23:37-40.
- Royer ME, Ko H, Evans JS and Johnston KT. Radioimmunoassay for glyburide in human serum. **Anal letters** 1976;9(7):629-40.

- Rupp W, Christ O, Fulberth W. Studies on the bioavailability of glibenclamide **Arzneim. - Forsch/Drug Res** 1972;22:471-73.
- Rydberg T, Whalin-Boll E and Melander A. Determination of glibenclamide in human serum and urine by column liquid chromatography **J Chromatogr** 1991;564:223-33.
- Salmela PI, Sotaniemi EA and Pelkonen RG. The evaluation of drug metabolizing capacity in patients with diabetes mellitus. **Diabetes** 1980;29:788-94.
- Sartor G , Melander A, Schersten B, Wahlin-Boll E. Serum Glibenclamide in Diabetic Patients, and Influence of Food on the Kinetics and Effects of Glibenclamide. **Diabetologia** 1980;18:17-22.
- Scheen AJ, Lefebvre PJ, and Luyckx AS. Glipizide Increase Plasma Insulin but not C-Peptide Level After a Standardized Breakfast in Type 2 Diabetic Patients. **Eur J Clin Pharmacol** 1984; 26: 471-4.
- Schmidt HAE et Petrides P. Concentrations sanguines de glucose et de HB 419 et élimination urinaire du HB 419 après l'administration perorale de HB 419 marqué au C¹⁴. **HB 419. Conférence du Tegernsee sur le nouvel antidiabétique oral HB 419.** Farbwerke Hoechst AG. 1969: 76.
- Schmidt FH and Hrstka VE. XIIe congrès international de thérapeutique, Genève, 1973.

- Schwinghammer TL, Antal EJ, Kubacka RT, Hackimer ME and Johnston JM. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide in young and elderly nondiabetic adults. **Clin Pharm** 1991;10:532-8.
- Shargel L and Yu ABC. **Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics**, 3rd edition. Appleton & Lange, Norwalk, 1993. 625 p.
- Shima K, Tanaku, A, Ikegami H, Tabata M, Sawakazi N , Kumhara Y. Effect of dietary fiber, glucomannan, on absorption of sulfonylurea in man. **Horm Metab Res** 1983;15:1-3.
- Simonson DC. Mechanism of improvement in Glucose Metabolism After Chronic Glyburide Treatment. **Diabetes** 1984;33:838-45.
- Singh BM, Wise PH and Marks V. Detection of glibenclamide in oral insulin capsules **Lancet** 1991;338:308-9 [letter].
- Spraul M, Streeck A, Nieradzik M and Berger M. Uniform Elimination Pattern for Glibenclamide in Healthy Caucasian Males **Arzneim. - Forsch/Drug Res** 1989; 39:1449-50.
- Streda M. Glucose tolerance tests in the clinical picture of chronic liver diseases. **Acta Univ Carolin Med Monogr** 1975;67;1-86.
- Takla PG. Glibenclamide. **Analytical Profiles of Drug Substances** 1981;10:337-53.
- Uihlein M and Sistovaris N. High-performance liquid column and thin-layer chromatographic determination of human serum glibenclamide at therapeutic levels. **J Chromatogr** 1982; 227:93-101.

Wagner JG. **Pharmacokinetics for the Pharmaceutical Scientist.**

Technomic, Lancaster, 1993. 316 p.

Wahlin-Boll E and Melander A. High-performance liquid chromatographic determination of glipizide and some other sulfonylurea drugs in serum. **J Chromatogr** 1979;164:541-6.

White CW, Rashed HM and Patel TB. Sulfonylureas inhibit metabolic flux through rat liver pyruvate carboxylase reaction. **J Pharmacol Exp Ther** 1988;246(3):971-4.

Willet R and Feinglos MN. **Antidiabetic Agents.** in Williams RL, Brater DC and Mordenti J. **Rational Therapeutics - A Clinical Pharmacologic Guide for the Health Professional**, Maral Dekker inc., New York, 1990: 675-88.

Wilson T. Liquid chromatographic methods validation for pharmaceutical products. **J Pharm Biomed Anal** 1990; 8(5):389-400.