الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا للتكنولوجيات المتقدمة

Ecole Nationale Supérieure des Technologies Avancées

Département Génie des procédés

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

MASTER 2

-Filière-

Génie des procédés

-Spécialité -

Procédés organiques

- Thème -

La stabilité des médicaments

Réalisé par

BOUDELOUECHE Achouak Houda

Les membres de Jury :

ZERROUKI Samira	Président	MAA ENSTA
SOUILAH Sihem	Examinateur	MAA ENSTA
BENZAOUI Thouraya	Encadrant	MCB ENSTA
AKSOUH Younes	Co-Encadrant	Ing –GENERICLAB

Alger, le 24/06/2024

Année universitaire 2023–2024

Dédicace

A mon père Sofien ; d’abord et avant tout

Pour m’accompagner tout au long de ma vie, pour me soutenir, pour tout donner sans rien prendre, je te dédie ce mémoire pour que je puisse te rendre une goutte de ton don inconditionnel.

A ma mère Wahiba,

Pour ton soutien indéfectible et ton espoir en moi pour atteindre là où tu n'as pas pu aller, je te dédie tout ce qui te remplit de fierté.

A ma sœur Sara,

Chaque instant de cette vie prend une saveur particulière grâce à ta présence à mes côtés. Merci d'être toujours là pour partager chaque moment avec moi.

A mes frères Ayoub et Wassim,

Qui sont ma constante source de bonheur et de soutien, je vous dédie ce mémoire avec l'espoir sincère de vous voir réussir et atteindre des objectifs encore plus ambitieux dans l'avenir.

A ma tante Mahdia,

À celle qui m'a enseigné mes premières lettres, je te suis profondément reconnaissante et je sais que je n'aurais jamais pu y arriver sans toi. Je te dédie ce mémoire avec tout mon amour et ma sincère gratitude pour ton soutien qui a façonné mon parcours académique et personnel.

A toute ma famille,

Je vous remercie d'être toujours présents à chaque étape de mes réalisations, qu'elles soient petites ou grandes.

A mon amie Narimane,

Avec qui j'ai partagé tant et qui a été témoin de tous mes sacrifices, je te remercie d'être toujours présente. Tes encouragements et ton soutien inconditionnel ont été précieux à chaque instant.

Achouak

Remerciement

Ce travail n’aurait pas pu aboutir sans la riche collaboration et l’aide précieuse de nombreuses personnes. Je désire leur témoigner ma gratitude via ces quelques lignes.

Je remercie également mon encadrante, Madame Benzaoui Thouraya, pour avoir accepté de diriger cette thèse. Je vous suis reconnaissant pour toute l’aide, le soutien, les conseils et le temps que vous m’avez précieusement consacrés. Sans votre engagement, cette thèse n’aurait pas vu le jour, merci pour tout.

J'adresse mes vifs remerciements à la présidente, Madame Zerrouki Samira, pour m'avoir fait l’honneur d’accepter de présider cette thèse. Votre expertise et votre engagement sont essentiels pour cette étape importante de mon parcours académique.

Mes remerciements s’adressent également à l’examinatrice, Madame Souilah Sihem. C’est un grand honneur que vous me faites en jugeant mon travail. Veuillez trouver l’expression de ma profonde reconnaissance et de ma haute considération.

ملخص

هذه المذكرة تستكشف استقرار الأدوية والأساليب التحليلية المرتبطة بها، حيث تحدد تركيبها وتفحص عوامل عدم الاستقرار. تناقش أهمية دراسات الاستقرار في ضمان فعالية وسلامة الأدوية، مع التركيز على التقدمات التكنولوجية مثل الكروماتوغرافيا السائلة الفائقة الأداء والكهرباء الفارقة الكبيرة

Résume

Ce mémoire explore la stabilité des médicaments et les méthodes d'analyse associées, définissant leur composition et examinant les facteurs d'instabilité. Il discute de l'importance des études de stabilité pour garantir l'efficacité et la sécurité des médicaments, tout en mettant en avant les avancées technologiques comme la chromatographie liquide haute performance et l'électrophorèse capillaire.

Abstract

This thesis explores drug stability and associated analytical methods, defining their composition and examining factors of instability. It discusses the importance of stability studies in ensuring drug efficacy and safety, with a focus on technological advancements such as high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis.

Mots clé : médicaments, stabilité, instabilité.

Table des Matières

Liste des Figures **1**

Liste Des Abréviations **1**

Introduction Générale **2**

CHAPITRE I :

Les Médicaments

I. Définition d'un médicament 4

II. Composition d'un médicament 4

1. Principe actif 4

2. Excipients 4

III. Développement et Production des Médicaments 4

1. Phase de Recherche 4

2. Phase de Développement 5

3. Phase Clinique 5

4. Phase de Mise sur le Marché 5

CHAPITRE II :

La Stabilité Des Médicaments

I. Définition de la stabilité des médicaments 7

II. Facteurs d'influence sur la stabilité des médicaments 7

1. PH 7

2. Surfactants 7

3. Température 7

4. Oxygène 8

5. Lumière 8

6. Matériaux 8

III. Phénomènes d'instabilité 8

1. Instabilité chimique 8
1.1 Hydrolyse 8
1.2 Oxydation 9
1.3 Photo-dégradation 9
1.4 Racémisation et épimérisation 9
2. Instabilité physique 10
2.1 risques de précipitation 10
2.2 Risques de sorption 10
3. instabilité microbiologique 10

CHAPITRE III :

Etude De Stabilité

I. Objectif des études de stabilité 13
II. Critères d'Instabilité d'un Médicament 13
III. Conditions pour les quelles des études de stabilité sont exigées 13
IV. Cadre réglementaire 14
V. Types de l'étude de stabilité 15
1. Etude de stabilité en temps accélérée 15
2. Etude de stabilité en temps réel (longue durée) 15
3. Etude de stabilité in-use 16
VI. Méthodologie d'étude de stabilité 16
Date limite d'utilisation (date de péremption) 16

CHAPITRE IV :

Méthodes D'analyse Du Principe Actif Et Des Produits De Dégradation

I. Critères de choix des techniques d'analyse pour les études de stabilité 18
II. Chromatographie liquide HPLC 18
1. Principe de la CLHP 18
2. Structure d'un Système CLHP 19

3. Mode de CLHP 20
3.1. Mode Phase Inverse (PI-LC) : 20
3.2. Mode Normal : 21
III. Electrophorèse capillaire 21
1. Principe 21
2. Détecteur 21
Conclusion Générale 23
Liste bibliographique 24

Liste des Figures

Figure IV.1 : Schéma descriptif de l'appareillage en CLHP 19

Figure IV.2 : Schéma d'une instrumentation EC 22

Liste Des Abréviations

CLHP : chromatographie liquide a haute performance

PI : phase inverse

UV : ultraviolets

EC : l'électrophorèse capillaire

pH : potentiel hydrogène

Introduction Générale

L'étude de la stabilité des médicaments est d'une importance capitale dans l'industrie pharmaceutique, où la préservation de l'efficacité et de l'intégrité des produits est primordiale pour garantir la sécurité et l'efficacité des traitements administrés aux patients. Ce domaine de recherche s'attache à comprendre les phénomènes d'instabilité des médicaments, qui peuvent être causés par divers facteurs tels que la dégradation chimique, la contamination microbienne, ou encore les conditions environnementales.

Dans ce mémoire de fin d'études, nous explorerons en profondeur les mécanismes sous-jacents à ces phénomènes d'instabilité, en mettant particulièrement l'accent sur l'étude de stabilité dans des cadres réglementaires rigoureux. Nous examinerons les directives et les normes établies par les autorités de réglementation pour garantir la qualité, la sécurité et l'efficacité des médicaments tout au long de leur durée de conservation.

Nous nous pencherons également sur les méthodes analytiques utilisées pour étudier la stabilité des médicaments, avec une attention particulière portée à deux techniques essentielles : la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et la l'électrophorèse capillaire (EC). Ces méthodes jouent un rôle crucial dans la détermination des profils de dégradation des médicaments, en permettant une analyse précise et sensible des composants et de leurs impuretés.

CHAPITRE I :

Les Médicaments

I. Définition d’un médicament

Une substance ou composition est considérée comme un médicament si elle possède des propriétés curatives ou préventives pour les maladies humaines ou animales, ou si elle peut être utilisée ou administrée à l'homme ou à l'animal pour établir un diagnostic médical, ou pour restaurer, corriger ou modifier les fonctions physiologiques par une action pharmacologique, immunologique ou métabolique. [1]

II. Composition d’un médicament

1. Principe actif

Selon la pharmacopée Européenne 9ème édition - Prescriptions générales : « une substance active est toute substance destinée à être utilisée pour la fabrication d'un médicament et qui, lorsqu'elle est utilisée dans la production d'un médicament, devient une substance active du médicament. De telles substances sont destinées à fournir une activité pharmacologique ou un autre effet direct pour le diagnostic, la guérison, l'atténuation, le traitement ou la prévention des maladies, ou à produire un effet sur la structure et la fonction du corps ». [2]

2. Excipients

L'excipient est une substance inactive sur le traitement de la pathologie, aussi appelé véhicule ou adjuvant, il doit être inerte vis-à-vis des principes actifs, des matériaux de conditionnement et de l'organisme.

Ces substances permettent d'assurer la conservation des médicaments, de leur donner une forme identifiable comme un comprimé, une poudre ou un sirop, et d'améliorer leur goût pour les rendre plus tolérables. [3]

III. Développement et Production des Médicaments

1. Phase de Recherche

La phase de recherche consiste à explorer un large éventail de molécules pour identifier celles présentant un potentiel thérapeutique. Des milliers de composés sont étudiés dans cette

phase afin de sélectionner une centaine de candidats prometteurs. Ces composés sont ensuite soumis à des tests pour évaluer leur innocuité, leur tolérance et leur efficacité, permettant ainsi de sélectionner une molécule candidate. [4]

2. Phase de Développement

Une fois la molécule candidate sélectionnée et brevetée, elle entre dans la phase de développement. Cette phase inclut des études précliniques pour évaluer la sécurité et l'efficacité du médicament sur des cellules ou des animaux. Les résultats de ces études permettent de confirmer la viabilité du candidat médicament pour passer à la phase clinique.[4]

3. Phase Clinique

La phase clinique comprend trois étapes principales : les essais cliniques de phase I, II et III. Les essais de phase I impliquent un petit nombre de participants et visent à évaluer la sécurité et la tolérance du médicament chez l'homme. Les essais de phase II élargissent le nombre de participants pour évaluer l'efficacité du médicament, tandis que les essais de phase III, menés à grande échelle, visent à confirmer son efficacité et sa tolérance. Une fois cette phase achevée avec succès, un dossier de mise sur le marché du médicament est déposé pour obtenir son autorisation de commercialisation.[4]

4. Phase de Mise sur le Marché

Une fois approuvé, le médicament est mis sur le marché. Des essais cliniques de phase IV sont alors menés sur le médicament commercialisé pour surveiller ses effets à long terme et rechercher d'éventuels effets indésirables non détectés lors des essais cliniques précédents.[4]

Les médicaments doivent garantir à la fois leur efficacité et leur innocuité pour être considérés comme de qualité. Ces critères sont évalués dès les premières étapes du développement et sont confirmés tout au long des essais cliniques jusqu'à la commercialisation. Les études de stabilité, réalisées sur le principe actif et le produit fini, assurent le maintien de ces critères tout au long de la durée de vie du médicament comme on va le voir dans les chapitres suivants.[4]

CHAPITRE II :

La Stabilité Des Médicaments

I. Définition de la stabilité des médicaments

La stabilité d'un médicament est définie comme sa capacité à conserver ses propriétés chimiques, physiques, microbiologiques et biopharmaceutiques dans les limites spécifiées pendant toute sa durée de validité. Cette stabilité est influencée par des facteurs environnementaux, ainsi que par des facteurs propres au produit, comme les propriétés physiques du principe actif et des excipients, le procédé de fabrication et les caractéristiques des matériaux de conditionnement. [4]

II. Facteurs d'influence sur la stabilité des médicaments

1. PH

La stabilité des préparations pharmaceutiques est fortement influencée par le pH. Il est essentiel pour la solubilisation et la biodisponibilité du principe actif. Cependant, des valeurs extrêmes peuvent entraîner une dégradation importante de la préparation. Le pH optimal est souvent celui qui correspond à la meilleure solubilité pour une molécule donnée. L'intégration de tampons dans les formulations pharmaceutiques permet généralement une bonne stabilité.[5]

2. Surfactants

Les surfactants sont utilisés pour protéger le principe actif des groupements hydrolytiques et réduire leur dégradation. Cependant, différents types de surfactants (anioniques, cationiques ou non-ioniques) peuvent former des micelles en solution, emprisonnant ainsi la molécule du principe actif et modifiant sa biodisponibilité en solution. [5]

3. Température

D'une part, Une augmentation de la température peut significativement accélérer les réactions de dégradation. D'autre part, dans certains cas, une baisse de la température peut également être néfaste à la stabilité chimique ou physique du principe actif. La cinétique de la réaction de dégradation suit généralement la loi d'Arrhenius, ce qui permet de prédire la durée de stabilité de la formulation à différentes températures. Il est cependant nécessaire de réaliser des études de stabilité dans les conditions réelles de stockage pour obtenir des estimations précises. [5]

4. Oxygène

La présence d'oxygène peut entraîner l'instabilité d'un médicament par oxydation de l'un de ses composants. Le choix de la formulation de la préparation (utilisation d'antioxydants) et de la technique de fabrication (utilisation de l'azote) est donc indispensable pour assurer sa stabilité. Il est également important de prendre en compte le choix et le maintien de l'intégrité du contenant pour éviter la diffusion de l'oxygène à travers celui-ci. [5]

5. Lumière

La lumière peut causer une instabilité chimique des molécules photosensibles. Des mesures préventives doivent être mises en place lors de la fabrication, notamment le choix d'un article de conditionnement adapté. Il est également essentiel de veiller à maintenir ces mesures dans le temps, en garantissant l'intégrité du conditionnement et en choisissant un dispositif d'administration approprié. [5]

6. Matériaux

Les matériaux d'emballage et les dispositifs médicaux utilisés pour l'administration sont des éléments cruciaux ayant une influence sur la stabilité du produit final pharmaceutique. Il est donc important de choisir des emballages primaires et des dispositifs médicaux adaptés, en tenant compte de leur impact sur la stabilité de la préparation. [5]

III. Phénomènes d’instabilité

1. Instabilité chimique

1.1 Hydrolyse

L’hydrolyse d’une substance se produit lorsque celle-ci se décompose par fixation des ions H+ et OH- issus de la dissociation de l'eau. Lorsque l'hydrolyse se produit, de nouvelles molécules peuvent effectivement se former à partir des produits de la réaction. Ces nouvelles molécules peuvent différer grandement de la substance d'origine en termes de propriétés chimiques et de stabilité [6]

1.2 Oxydation

La majorité des molécules de principe actif sont sous forme réduite, ce qui les rend susceptibles à l'instabilité en présence d'oxygène atmosphérique. Ce phénomène, souvent appelé auto-oxydation, se produit spontanément et peut être intensifié par le pH en fonction de la structure moléculaire du principe actif. Pour prévenir ce problème, plusieurs mesures peuvent être prises : remplacer l'air par un gaz inerte comme l'azote lors du remplissage, ajuster et stabiliser le pH avec un tampon, ou ajouter un agent chélatant. Les antioxydants peuvent également être utilisés, à condition qu'ils ne provoquent pas d'autres problèmes de dégradation ou de toxicité. [7]

1.3 Photo-dégradation

La photo-dégradation est le processus par lequel une substance chimique est décomposée par l'action de la lumière, souvent par l'exposition aux rayons ultraviolets (UV) du soleil ou d'autres sources de lumière UV. Ce phénomène peut entraîner la rupture des liaisons chimiques dans les molécules, conduisant à la formation de produits de dégradation. [8]

1.4 Racémisation et épimérisation

Racémisation : La racémisation est le processus par lequel un énantiomère (une des deux formes d'une molécule chirale) se convertit en son énantiomère, conduisant à un mélange 50/50 des deux formes appelé mélange racémique. Ce phénomène peut se produire sous l'effet de la chaleur, de la lumière, de l'acidité, ou d'autres conditions environnementales. [9]

L'épimérisation est un processus similaire, mais implique la conversion entre deux diastéréoisomères. Dans le cas des molécules chirales avec plusieurs centres chiraux, l'épimérisation affecte un seul centre chiral, conduisant à une transformation entre deux épimères. [10]

La présence de stéréoisomères ou d’énantiomère moins actifs ou inactifs dans un médicament peut réduire son efficacité globale, nécessitant des doses plus élevées pour atteindre l'effet thérapeutique désiré. De plus, l'épimérisation ou la racémisation peut affecter la sécurité du médicament, car l'énantiomère inactif peut entraîner des effets secondaires indésirables. [11] [12]

2. Instabilité physique

2.1 risques de précipitation

La précipitation d'un principe actif ou d'un excipient en solution peut se produire à tout moment et n'est pas toujours immédiate. Ce phénomène peut résulter d'une saturation dans le véhicule utilisé ou d'autres facteurs comme l'utilisation de co-solvants (par exemple, l'éthanol ou le propylène glycol), la dilution de la solution, les variations de pH, ou la présence d'électrolytes. Les tampons sont souvent nécessaires pour stabiliser le pH, mais tout changement de dilution ou dépassement de la capacité de tamponnage peut provoquer une précipitation. La formation de sels insolubles ou de complexes entre molécules organiques anioniques et cations est également problématique, pouvant conduire à une baisse de solubilité et à la précipitation du principe actif. [13]

2.2 Risques de sorption

Les préparations pharmaceutiques peuvent subir des interactions avec les matériaux de conditionnement au cours du stockage, via des phénomènes de sorption. Il existe deux types principaux : l'adsorption et l'absorption. L'adsorption est un phénomène de surface où des molécules de gaz ou de liquides se fixent à la surface de l'emballage, du filtre ou d'autres éléments. Elle est provoquée par les interactions entre les groupes fonctionnels du principe actif et les sites de liaison sur la surface du matériau. Même si le traitement de la surface des contenants en verre peut réduire les interactions ioniques, il ne peut pas éliminer les interactions hydrophobes. L'adsorption est également courante sur les surfaces polymériques, cellulosiques ou plastiques. L'impact de l'adsorption dépend de la concentration initiale du principe actif : une concentration basse signifie un impact plus important sur la quantité disponible. L'absorption, quant à elle, est un phénomène où les molécules pénètrent à l'intérieur du matériau. Elle évolue lentement et est plus difficile à contrôler que l'adsorption, et est particulièrement rencontrée avec les molécules lipophiles en contact avec des matériaux amorphes comme le polychlorure de vinyle. Ces phénomènes peuvent influencer la stabilité et l'efficacité des médicaments pendant leur durée de conservation. [14]

3. instabilité microbiologique

L'instabilité microbiologique d'un médicament se réfère à la croissance de micro-organismes pendant sa durée de conservation. Cette instabilité peut résulter d'une contamination

initiale accidentelle non détectée ou d'une contamination survenue lors de la conservation, notamment en raison d'une perte d'intégrité de l'emballage. Divers paramètres peuvent affecter l'intégrité de l'emballage et le rendre perméable aux micro-organismes, tels que les conditions de température, de luminosité ou d'humidité. [15]

CHAPITRE III :

Etude De Stabilité

I. Objectif des études de stabilité

L’études de stabilité est un pilier fondamental du développement pharmaceutique, visant plusieurs aspects :

- Examiner les variations des produits pharmaceutiques dans le temps et sous l'influence de divers facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité et la lumière.
- Déterminer les conditions optimales de stockage et d'utilisation des médicaments.
- Établir la durée de validité des produits.
- Identifier les produits de dégradation résultant des interactions entre les différents composants de la formule.
- Définir la cinétique d'apparition de ces produits de dégradation.
- Développer des techniques analytiques permettant l'identification et la quantification précises des produits de dégradation. [16]

II. Critères d'Instabilité d'un Médicament

Un Médicament devient instable dans les cas suivants

- Perte de plus de 5 % du principe actif (PA).
- Produits de dégradation au-delà des limites spécifiées.
- Modifications des caractéristiques organoleptiques.
- Variation du pH.
- Non-conformité au test de dissolution.
- Détérioration de la qualité microbiologique.[19]

III. Conditions pour les quelles des études de stabilité sont exigées

Les médicaments génériques et essentiels contiennent des principes actifs dont les propriétés de dégradation et de stabilité sont généralement bien connues. Dans la plupart des cas, il est possible de restreindre les études de stabilité au produit fini.

Dans le cadre de l'étude de stabilité, les objectifs sont définis comme suit :

- **Formulation** : Sélectionner la formulation et/ou le conditionnement approprié.
- **Étude de stabilité initiale** : Garantir que le transport n'a pas d'effet sur la stabilité du prémix.
- **Étude de stabilité en excursion** : Évaluer l'impact des variations de température sur le produit pendant l'étude de stabilité.
- **Programme permanent** : Confirmer la date de péremption et les conditions de stockage.
- **Définition du temps de conservation des produits intermédiaires et en vrac (« holding time »)** : Pour les produits dont la durée de stockage dépasse 30 jours, s'assurer de leur stabilité pendant cette période.
- **Enregistrement du nouveau produit** : Déterminer la durée de validité des conditions de conservation.
- **Changements suite à l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché** :
    - Modifier quantitativement ou qualitativement la composition.
    - Changer le procédé de fabrication.
    - Modifier la synthèse du principe actif.
    - Augmenter la taille du lot de production de plus de X10.
    - Modifier le type de conditionnement primaire.
    - Changer le site de fabrication.

L'objectif principal de ces vérifications est de garantir que tout changement n'a pas altéré la qualité du produit. [17]

IV. Cadre réglementaire

Les réglementations pharmaceutiques mentionnent les études de dégradation forcée et les conditions de stress sans spécifier leur déroulement exact. Les guides ICH fournissent peu d'informations sur la stratégie des études de dégradation forcée, sauf pour la photo-stabilité détaillée dans le guide Q1B. Le guide Q1A précise que ces études aident à définir les voies de dégradation et à valider des procédures analytiques, qui doivent être validées. La directive Q1C recommande que les évaluations de stabilité des nouvelles formes posologiques suivent les directives principales.

Les guides Q3A et Q3B insistent sur la validation des procédures analytiques pour détecter et quantifier les impuretés. Le guide Q6A exige des méthodes indicatrices de stabilité pour les substances actives et les produits médicamenteux, une exigence aussi présente dans le guide Q5C pour les produits biologiques et biotechnologiques, bien que ces guides ne définissent pas clairement ces méthodes.

Le guide Q2 de l'ICH détaille le protocole de validation des méthodes analytiques. La FDA définit les méthodes indicatrices de stabilité comme des méthodes quantitatives validées pour détecter les changements des propriétés chimiques, physiques ou microbiologiques au fil du temps. Une définition similaire est proposée dans le draft de la FDA de 2001. Les guides de l'OMS, du CPMP et les directives canadiennes abordent aussi les notions de stress.

Enfin, l'USP exige que les échantillons de produits soient dosés par une méthode indicatrice de stabilité dans les études de stabilité de fabrication. [4]

V. Types de l’étude de stabilité

Les études de stabilité sont réalisées dans des enceintes climatiques, sous humidité contrôlée et dans des conditions définies selon la norme ICH. Il existe trois types d’études de stabilité :

1. Etude de stabilité en temps accélérée

Destinée à augmenter la vitesse de dégradation chimique ou d’altération physique d’un médicament en le soumettant à des conditions de stockage extrêmes tout en restant compatible avec les mécanismes mis en jeu lors de la conservation normale.

2. Etude de stabilité en temps réel (longue durée)

Etude expérimentales des caractéristiques physiques, chimiques, biologiques et microbiologiques d’un médicament pendant sa durée de validité et d’utilisation prévue et au-delà, dans des conditions de stockage prévues pour le marché auquel il est destiné. Les conditions de longue durée permettent de définir la date de péremption du produit.

3. Etude de stabilité in-use

Etude destinée à définir une période pendant laquelle un produit pharmaceutique multidose peut être utilisé après ouverture et de garantir la qualité dans les spécifications définies. Le principe de cette étude et de simuler une utilisation normale du produit pharmaceutique, dont des tests physiques, chimiques et microbiologiques seront réalisé et leurs résultats permettent de définir la durée de conservation en cours d'utilisation. Quand des dégradations sont observées sur les conditions accélérées, il est conseillé de passer aux conditions intermédiaires.[16]

VI. Méthodologie d'étude de stabilité

Avant d'initier toute étude de stabilité sur un médicament, il est essentiel de se référer à la documentation spécialisée concernant le ou les principes actifs qui composent ledit médicament. L'étude de stabilité débute dès la phase de développement du médicament et prend fin lorsque la date de péremption ou la date limite d'utilisation ainsi que les conditions de stockage sont déterminées pour chaque lot industriel. [18]

Date limite d'utilisation (date de péremption)

La date de péremption mentionnée sur l'emballage d'un médicament indique jusqu'à quand le produit devrait demeurer conforme aux spécifications s'il est conservé correctement. Cette date est déterminée pour chaque lot en fonction de sa durée de conservation, calculée à partir de la date de fabrication. [18]

CHAPITRE IV :

Méthodes D’analyse Du Principe Actif Et Des Produits De Dégradation

I. Critères de choix des techniques d'analyse pour les études de stabilité

Les techniques d'analyse privilégiées visent à séparer les différents éléments d'un mélange, notamment dans le cadre des études de stabilité des produits pharmaceutiques, afin de distinguer les principes actifs des produits de dégradation et des excipients contenus dans la formulation. Parmi les méthodes recommandées, on trouve la chromatographie liquide (LC) et l'électrophorèse capillaire (EC). La chromatographie liquide en mode inverse est largement utilisée pour les études de stabilité, en raison de la nature hydrophobe de la plupart des composés analysés. Étant souvent disponible dans les pharmacies hospitalières, la LC, en particulier en mode inverse, est généralement la méthode privilégiée pour de telles études. Le choix de la technique dépend à la fois des équipements disponibles et des caractéristiques physico-chimiques des composés à analyser, ce qui influence également le choix du détecteur à utiliser. En complément, l'électrophorèse capillaire est mentionnée comme une méthode adaptée aux études de stabilité. Deux autres techniques séparatives, la chromatographie sur couche mince à haute performance et l'électrochromatographie, sont également brièvement évoquées. [20]

II. Chromatographie liquide HPLC

Dans le domaine de l'étude de la stabilité, la chromatographie liquide haute performance (CLHP) est largement reconnue comme un outil d'analyse précis et fiable. Cette technique sophistiquée permet de séparer, d'identifier et de quantifier les composés présents dans un échantillon avec une sensibilité élevée. [21]

1. Principe de la CLHP

Les composés à séparer, appelés solutés, sont dissous dans un solvant et introduits dans le système chromatographique via un injecteur. Ces molécules interagissent différemment avec la phase stationnaire présente dans une colonne chromatographique en fonction de leur nature. La phase mobile, propulsée par une pompe à haute pression, traverse le système chromatographique en transportant le mélange à analyser à travers celui-ci. Les composés en solution se répartissent entre la phase mobile et la phase stationnaire en fonction de leur affinité respective.

À la sortie de la colonne, un détecteur approprié identifie les différents solutés sous forme de pics chromatographiques. L'ensemble de ces pics enregistrés constitue ce que l'on appelle un chromatogramme, permettant ainsi la caractérisation des différents composés présents dans l'échantillon analysé. [21]

2. Structure d'un Système CLHP

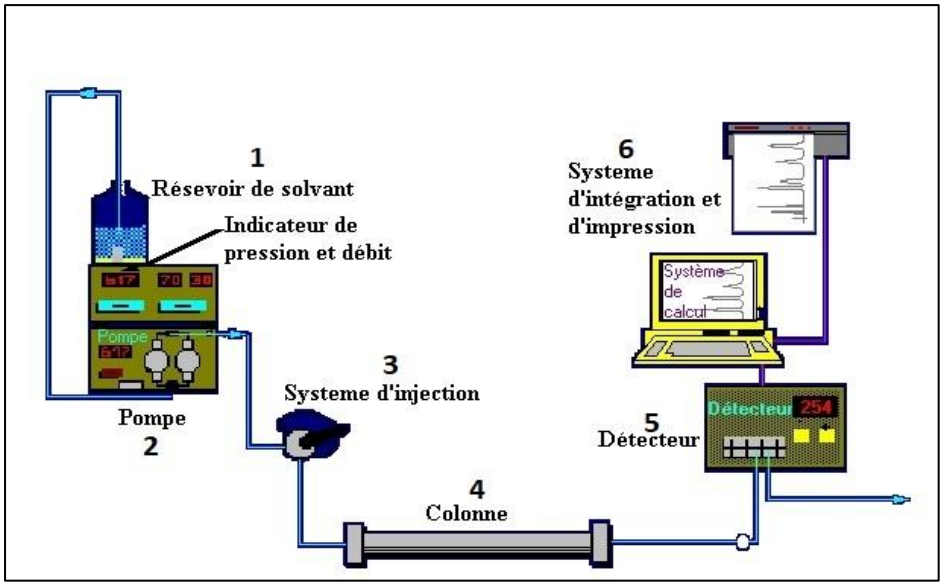


Figure IV.1 : Schéma descriptif de l'appareillage en CLHP

1. Réservoir de la phase mobile (solvant)

Il s'agit d'une bouteille en verre contenant le solvant de la phase mobile, équipée d'un tube plongeant à l'intérieur avec une extrémité filtrante en téflon pour empêcher les impuretés d'entrer dans le système.

2. Pompe

La phase mobile est délivrée en continu par une pompe capable d'atteindre une pression spécifique dans la colonne. Certains modèles de pompes sont pilotés par informatique, ce qui est particulièrement utile lors de l'utilisation de gradients d'élution pour des séparations complexes.

3. Injecteur

L'échantillon à analyser est introduit dans le système chromatographique via un injecteur. Le type d'injecteur le plus couramment utilisé comporte une vanne à boucle d'échantillonnage

d'une capacité fixe, permettant d'introduire l'échantillon sans modifier la pression dans la colonne.

4. Colonne

La phase mobile et l'échantillon traversent une colonne spéciale conçue pour la séparation des composés. Les colonnes en acier inoxydable sont fréquentes, avec différents diamètres internes, longueurs et matériaux de remplissage (comme la silice, la silice greffée ou des particules polymériques) ayant des granulométries spécifiques.

5. Détecteurs

Le détecteur surveille en continu l'apparition des solutés à la sortie de la colonne. Le spectrophotomètre d'absorption UV-visible est le détecteur le plus utilisé, permettant une détection précise des composés en fonction de leur absorption de lumière à des longueurs d'onde spécifiques.

6. Intégrateur

Les signaux détectés par le détecteur sont envoyés à un intégrateur. Ce dispositif analyse les données enregistrées en fonction du temps, mesure la surface sous les pics chromatographiques et détermine la concentration des composés présents dans l'échantillon. [21]

3. Mode de CLHP

En chromatographie liquide haute performance (CLHP), il existe principalement deux modes de séparation utilisés :

3.1. Mode Phase Inverse (PI-LC) :

- Principe : Dans ce mode, la phase stationnaire est non polaire, comme la silice greffée avec des chaînes alkyles (par exemple C18). Les solutés hydrophobes ont tendance à interagir fortement avec cette phase stationnaire non polaire, ce qui les retient plus longtemps dans la colonne.

- Applications : Ce mode est couramment utilisé pour la séparation des composés organiques, tels que les médicaments, les pesticides, et les composés biologiques hydrophobes.

3.2. Mode Normal :

- Principe : Contrairement au mode inverse, la phase stationnaire est polarisée, ce qui permet de retenir les solutés polaires. Les solutés polaires interagissent davantage avec cette phase stationnaire polarisée, les faisant sortir plus lentement de la colonne.

- Applications : Ce mode est utilisé pour la séparation de composés comme les acides aminés, les sucres, et d'autres molécules polaires. [22]

III. Electrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire (EC) est une méthode d'analyse alternative aux techniques chromatographiques, utilisée principalement pour la séparation et la quantification de substances pharmaceutiques et d'autres composés.

1. Principe

La EC utilise un capillaire de silice fondue, avec un diamètre interne typiquement inférieur ou égal à 100 µm. Ce capillaire est rempli de tampons électrophorétiques, et des électrodes à chaque extrémité sont connectées à un générateur de tension pouvant atteindre 30 kV. Les échantillons sont injectés dans le capillaire soit par pression (injection hydrodynamique), soit par tension (injection par électromigration), avec un volume injecté généralement entre 1 et 10 nL. Pour assurer la reproductibilité des mesures quantitatives, l'utilisation d'un standard interne est essentielle, notamment dans le développement de méthodes de stabilité pour séparer le standard, le composé d'intérêt et ses produits de dégradation.

2. Détecteur

Différents types de détecteurs peuvent être utilisés avec la EC, parmi lesquels la spectrophotométrie UV/Vis est la plus courante. Cependant, la courte distance parcourue par la lumière à travers le capillaire (diamètre interne) et la faible quantité d'échantillon injectée limitent la sensibilité de la détection UV. Cela peut poser problème pour quantifier des échantillons à faible concentration, comme ceux trouvés dans les échantillons biologiques ou les traces. Pour surmonter ces limitations, des stratégies telles que l'utilisation de capillaires avec des configurations spéciales comme des "cellules bulles" ou des "cellules Z" ont été développées pour augmenter le chemin optique et améliorer la sensibilité. En l'absence de

groupements chromophores dans les substances à analyser ou à faible concentration, d'autres systèmes de détection comme la spectrométrie de masse, la conductivité, la fluorescence laser-induite ou l'ampérométrie peuvent être utilisés. [23]

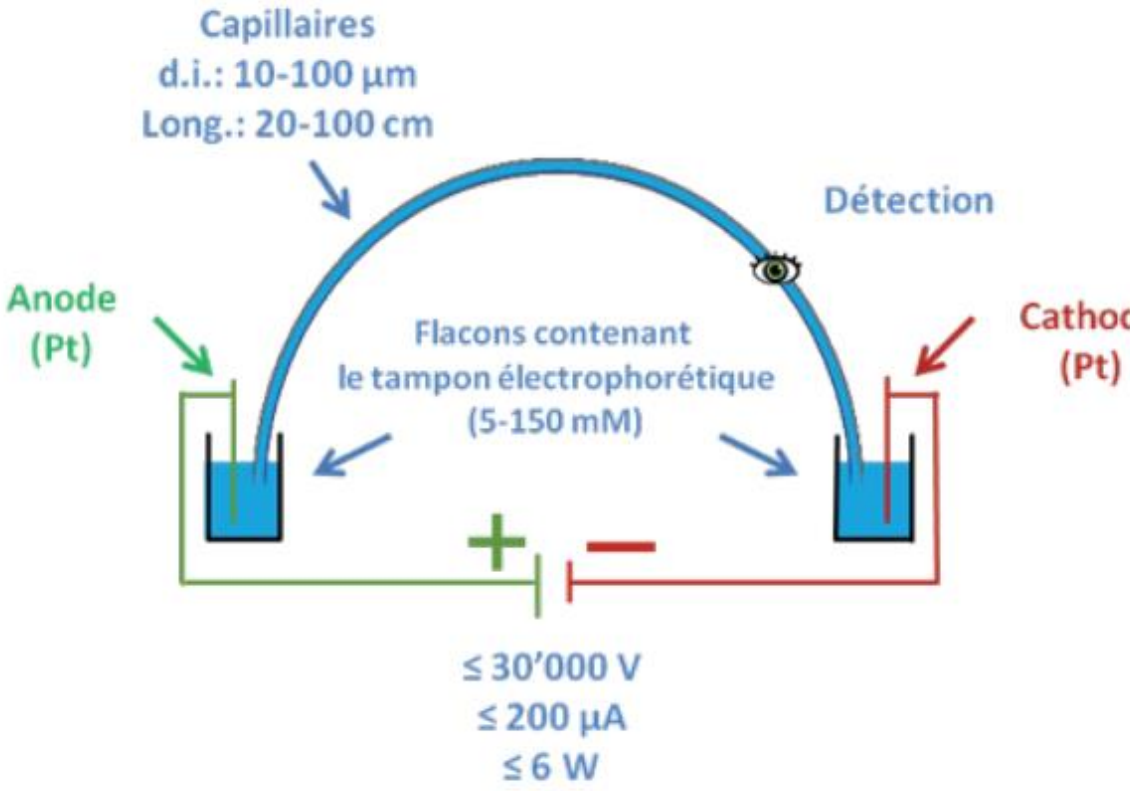


Figure IV.2 : Schéma d'une instrumentation EC

Conclusion Générale

Ce mémoire a exploré le domaine des médicaments, en se concentrant particulièrement sur leur stabilité et les méthodes d'analyse utilisées à cet effet. À travers les différents chapitres, nous avons pu définir ce qu'est un médicament, examiner les composants qui le constituent, ainsi que les différentes phases de son développement et de sa production.

La stabilité des médicaments a été abordée sous divers angles, mettant en lumière les nombreux facteurs influençant leur conservation efficace, tels que le pH, les surfactants, la température, l'oxygène, la lumière et les matériaux d'emballage. Nous avons également exploré les phénomènes d'instabilité chimique, physique et microbiologique qui peuvent compromettre l'intégrité et l'efficacité des médicaments.

L'étude de stabilité a été présentée comme une étape cruciale dans le processus de développement pharmaceutique, permettant de déterminer les conditions optimales de stockage et de durée de conservation des médicaments. Nous avons examiné les critères d'instabilité d'un médicament, les conditions réglementaires entourant les études de stabilité et les différents types d'études réalisées, notamment les études accélérées, en temps réel et in-use.

Enfin, nous avons discuté des principales méthodes d'analyse du principe actif et des produits de dégradation, en mettant l'accent sur la chromatographie liquide haute performance (CLHP) et l'électrophorèse capillaire. Ces techniques sophistiquées offrent une sensibilité élevée et une résolution fine, permettant une quantification précise des composés dans des formulations pharmaceutiques complexes.

En conclusion, ce mémoire souligne l'importance critique de la stabilité des médicaments dans l'assurance de leur qualité et de leur sécurité d'utilisation. Il met en lumière les avancées technologiques et réglementaires qui facilitent une gestion efficace de la stabilité des médicaments, contribuant ainsi à l'amélioration continue des soins de santé et à la protection des patients.

Liste bibliographique

- [1] Gouraud, A. (2012). Généralité sur la pharmacologie et les médicaments. Page 8-42-43-48
- [2] Pharmacopée européenne. 9ème édition
- [3] Aiache, H.M., Aiache, S., Renoux, R. (2001). « Initiation à la connaissance du médicament ». 4 éme éditions, Masson
- [4] Gana, I. (2015). Caractérisation physique et chimique des substances à activité thérapeutique : application aux études de profil de stabilité et de préformulation. [Université Sorbonne Paris Cité; Université de Monastir (Tunisie)].
- [5] Chikh. (2010). Stabilité des médicaments.
- [6] Verdu J., (2016, 01 sept). Vieillissement chimique en présence d'eau ; hydrolyse. Action de l'eau sur les plastiques. Technique d'ingénieur. Article : AM3165 v1
- [7] Gabrič, A., Hodnik, Ž., & Pajk, S. (2022). Oxidation of Drugs during Drug Product Development: Problems and Solutions. Pharmaceutics, 14.
- [8] Klelemen, H., Hancu, G., Kacsó, E., & Papp, L. (2021). Photosensitivity Reactions Induced by Photochemical Degradation of Drugs. Advanced Pharmaceutical Bulletin, 12, 77 - 85.
- [9] Ballard, A., Narduolo, S., Ahmed, H. O., Keymer, N. I., Asaad, N., Cosgrove, D. A., ... & Leach, A. G. (2020). Racemisation in chemistry and biology. Chemistry–A European Journal, 26(17), 3661-3687.
- [10] Reist, M., Testa, B., Carrupt, P. A., Jung, M., & Schurig, V. (1995). Racemization, enantiomerization, diastereomerization, and epimerization: Their meaning and pharmacological significance. Chirality, 7(6), 396-400.
- [11] Scott, A. (1993). Stereoisomers and Drug Toxicity. Drug Safety, 8, 149-159.
- [12] Khan, A., Preskorn, S., & Wimalasena, K. (2006). Single enantiomer drugs: should they be developed?. Essential psychopharmacology, 7 1, 15-23.
- [13] Husson, E., Crauste-Manciet, S., Hadj-Salah, È., Séguier, J. C., & Brossard, D. (2003). Stabilité galénique de mélanges commercialisés de nutrition parentérale en présence de médicaments : médicaments dans le mélange. Nutrition clinique et métabolisme, 17(1), 8-14.
- [14] https://www.gerpac.eu/IMG/pdf/guide_de_stabilite_vf_avril2013.pdf

- [15] Halls, N. A. (2010). "Microbiological stability testing of pharmaceutical products." European Journal of Parenteral and Pharmaceutical Sciences, 15(4), 99-104.
- [16] TELILANI, Ni. REMITA, S.(2021). Etude de la stabilité physico-chimique, suivie par une étude comparative de la cinétique de dissolution d'un médicament générique et de son princeps. Cas : Baclon 10mg et Lioresal 10mg [Mémoire Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnalisant]
- [17] Togola, N. (2009). Etude de stabilité des comprimés sous blister de l'UMPP : Cas du paracétamol et du chloramphénicol. Thèse doctorat. Université de Bamako Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS).
- [18] WHO. (1998). Assurance de la qualité des produits pharmaceutiques. Volume 1 Recueil de directives et autres documents.
- [19] LEKNOUCHE, N. KAAD, H. Etude de stabilité d'un produit fini dans les conditions
- accélérées et réelles. [Mémoire Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnalisant]
- [20] Altria K. Aplication of microemulsion electrokinetic chromatography to the analysis of a wide range of pharmaceuticals and excipients. J. Chromatogr. A. 1999; 844 (1-2): 371-386.
- [21] F Colomb. (2010, 20 janvier). HPLC Principe et appareillage. Académie de Normandi. https://sms-bse-bgb.ac-normandie.fr/HPLC-Principe-et-appareillage
- [22] Rosset R. Chromatographies en phases liquide et supercritique » 3ème éd., 1991, Editions Masson, Paris, France
- [23] Suntornsuk L. Recent advances of capillary electrophoresis in pharmaceutical analysis. Anal. Bioanal. Chem. 2010 ; 398(1) : 29-52.