

UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

Faculté de génie

Département de génie chimique et de génie biotechnologique

**DÉVELOPPEMENT DE PRODUITS PRÊTS À ÊTRE ADMINISTRÉS  
À PARTIR DE FORMULATIONS EXISTANTES DE MÉDICAMENTS  
NÉCESSITANT UNE RECONSTITUTION AVANT LEUR  
ADMINISTRATION PAR VOIE INTRAVEINEUSE**

Thèse de doctorat

Spécialité : génie chimique

Charlotte GILLIUM

Sherbrooke (Québec) Canada

Octobre 2018



# MEMBRES DU JURY

Pr Nicolas ABATZOGLOU

---

Directeur

Pr Grégoire LECLAIR

---

Co-directeur

M. Antoine COURNOYER

---

Partenaire industriel

Pr Yves DUBEAU

---

Rapporteur

Pr Isabelle LAVERDIÈRE

---

Évaluateur externe



*Je dédie cette thèse à mes parents*

*Martine et Jean-Marc Gillium*



---

## RÉSUMÉ

Les traitements oncologiques basés sur la chimiothérapie ont débuté dans les années 1940. Depuis ces années, le nombre de cas de cancer et donc de traitements ainsi que le nombre de molécules pouvant être utilisées ont augmenté.

Ces traitements reposent en général sur l'administration d'une dose de produits par voie intraveineuse (IV) en fonction de la surface corporelle du patient. Elle est aussi adaptée aux réactions du patient (des analyses biologiques sont réalisées au cours du traitement). Cette personnalisation nécessite une manipulation par le service de pharmacie du centre de soins. La personnalisation des doses, couplée à l'augmentation du nombre de traitements, peut mener à des problèmes logistiques dans les centres de soins. Cette manipulation du produit peut entraîner non seulement des contaminations du produit et donc avoir un impact sur la santé du patient, mais également une contamination de l'environnement et du personnel de santé.

Les données de stabilité des quatre produits étudiés – Doxorubicine, Épirubicine, Irinotecan et Docetaxel –, fournies par les recommandations d'utilisation des produits, portent sur de très courtes périodes. Peu d'études ont été réalisées pour obtenir des données de stabilité à long terme dans les solutions de perfusion. La connaissance de la stabilité de ces produits sous leur forme administrable permettra une préparation en avance de ces produits pour limiter les risques de contamination cités précédemment.

Lors de cette thèse, il a été démontré que l'Irinotecan est stable 28 mois lorsqu'il est entreposé à 5 °C aussi bien avec du NaCl 0,9 % que du glucose 5 % et dans des bouteilles en polypropylène claires ou ambrées, pour une concentration de 0,012 mg.mL<sup>-1</sup>.

L'Épirubicine entreposée à 5 °C et dans des bouteilles en polypropylène claires est stable 12 mois si elle est en solution dans du NaCl 0,9 % et 24 mois si elle est en solution dans du glucose 5 %, pour une concentration de 0,04 mg.mL<sup>-1</sup>.

La Doxorubicine est stable 12 mois lorsqu'elle est entreposée à 5 °C en solution autant avec du NaCl 0,9 % que du glucose 5 % et dans des bouteilles en polypropylène claires ou ambrées. Lorsqu'elle est entreposée à 25 °C, en solution avec du NaCl 0,9 %, elle est stable trois mois, que les bouteilles en polypropylène soient claires ou ambrées. Lorsqu'elle est entreposée à 25 °C, en solution avec du glucose 5 %, elle est stable six mois, que les bouteilles en polypropylène soient claires ou ambrées. La concentration testée dans toutes les conditions est de 0,04 mg.mL<sup>-1</sup>.

Le Docetaxel n'est pas stable en solution peu importe les conditions, pour une concentration de 0,15 mg.mL<sup>-1</sup>. Des particules apparaissent en suspension et il arrive qu'un précipité se forme.

Ces différents résultats permettent d'envisager d'autres formes de production du produit fini afin de limiter les manipulations par le personnel de soin.

**Mots-clefs :** Médicaments antinéoplasiques, Prêts à être administrés, Stabilité, Standardisation des doses, HPLC, Industrie pharmaceutique





---

## ABSTRACT

Oncologic treatments using chemotherapy started in the beginning of the 40's. The number of cancers has since increased as the number of treatments. Many new molecules also appeared on the market.

These treatments are based on the intravenous (IV) administration of the drug product. The right dosage is calculated according to the patient's body surface area. It is also adjusted according to how the patient reacts to the drug product (bioanalyses are performed during the treatment). This specific prescription requires that the product be handled by pharmacist, pharmaceutical technician or nurse at the medication center. The patient specific treatment added to the increase of the number of treatment could create logistic issues at the healthcare center. Each manipulation of the drug product could generate contamination of the product, the environment, or the physician, and possibly impact the patient's health.

The stability data for the four studied products, Doxorubicin, Epirubicin, Irinotecan, and Docetaxel, provided by the Physician Prescribing Information are for short periods of time. Few studies have been realized on the long term stability of the perfusion solution.

The work done during this thesis has allowed establishing that Irinotecan is stable 28 months when it is stored in clear or amber polypropylene bottles at 5 °C in solution with NaCl 0.9% or with dextrose 5%, for a concentration of 0.012mg.mL<sup>-1</sup>.

Epirubicin stored at 5 °C and in clear polypropylene bottle, is stable 12 months if the solutions are done with NaCl 0.9% and 24 months if the solutions are done with dextrose 5%, for a concentration of 0.04mg.mL<sup>-1</sup>.

Doxorubicin is stable 12 months when stored at 5 °C in solution with NaCl 0.9% or with dextrose 5%, either in clear or amber polypropylene bottles. When it is stored at 25 °C in solution with NaCl 0.9% in clear or amber polypropylene bottles, the stability is 3 months. When it is stored at 25 °C in solution with dextrose 5% in clear or amber polypropylene bottles, the stability is 6 months. The concentration tested was 0.04mg.mL<sup>-1</sup>.

Docetaxel is not stable in solution whatever the conditions (5 or 25 °C, NaCl 0.9% or dextrose 5%, clear or amber polypropylene bottles), for a concentration of 0.15mg.mL<sup>-1</sup>. Particles in suspension appeared in the solutions and in some bottles a precipitate also appeared.

These different results make it possible to envision other forms of manufacturing of the finished product aimed at limiting the handling by the healthcare staff.

**Key words:** Oncologic drug, Ready to administer (RTA), Stability, Dose banding, HPLC, Pharmaceutical industry



---

## REMERCIEMENTS

Je souhaite tout d'abord remercier tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont permis de d'aller jusqu'au bout de cette aventure.

Je voudrais ainsi remercier les membres du jury, qui m'ont fait l'honneur d'évaluer ce travail. J'exprime notamment ma reconnaissance aux professeurs Yves Dubeau et Isabelle Laverdière qui ont accepté de faire partie du jury.

Je remercie tout particulièrement mon directeur de thèse, Pr. Nicolas Abatzoglou, mon co-directeur, Pr Grégoire Leclair, et mon superviseur industriel, M. Antoine Cournoyer, qui sont à l'origine de ce projet. Merci pour la confiance que vous m'avez accordée durant ces quatre années.

Je tiens également à remercier les personnes de chez Pfizer qui ont rendu ce projet possible. Merci à Jim Hadley pour le soutien qu'il a apporté à ce projet depuis le début. Merci à Remo Ponta pour ses conseils et son aide dans la réalisation de ce projet.

Je souhaite également remercier Jean-Sébastien Simard, directeur de l'équipe MPAC SILC à Montréal, qui m'a permis de réaliser ma thèse au sein de son équipe.

Je remercie l'équipe de MPAC, Pierre-Philippe, Joanny et Jean-Maxime ainsi que les étudiants passés et présents (Emmanuel, Pedro, Pierre-Luc, Sophie, Azher, Yuwei).

Je tiens à remercier toute l'équipe de la plateforme de biopharmacie de l'Université de Montréal, qui m'a accueillie dans ses laboratoires. Merci à Mihaela, Martin, Amandine, Isabelle et Mouna pour votre aide, votre disponibilité et votre gentillesse.

Bárbara, Tobias, life would not have been the same here without you. Obrigada, Tack for all the moments that we shared (and all the ones that we will no doubt share!).

Merci à mes amis de France pour vos appels, vos messages, vos visites et vos encouragements. Marine, Marion, Erik, Maude, Audrey, Sandra et Lucile, merci à vous tous!

Je ne saurais oublier ma famille présente ici au Canada qui m'a accueillie. Merci pour votre soutien inconditionnel, d'avoir été présents dans les moments difficiles ainsi que dans les bons moments. Joëlle, merci pour tout en fait, ta disponibilité, ton soutien, ton accueil, ta gentillesse... Merci à Jean-Paul et Jacqueline pour votre accueil, votre gentillesse (et pour les croissants du week-end!). Je n'oublie pas Patrick, Barbara, Anna et Nicolas.

Merci à ma famille en France, du Nord au Sud, de l'Est à l'Ouest; il serait trop long de tous vous nommer, mais de tout mon cœur je vous remercie de votre soutien à distance.

Papa, Maman, les mots ne sont pas suffisants pour exprimer toute la reconnaissance que vous méritez : sans vous rien n'aurait été possible. Merci d'avoir toujours cru en moi.



---

## AVANT-PROPOS

Ce travail de recherche est le fruit d'une collaboration entre Pfizer, le département de génie chimique et génie biotechnologique de l'Université de Sherbrooke et la faculté de pharmacie de l'Université de Montréal.

Le financement de cette thèse a été assuré par le Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (CRSNG), par les Fonds de recherche du Québec — Nature et technologies (FRQNT) et par l'entreprise Pfizer dans le cadre d'une bourse en milieu de pratique (BMP).



---

## TABLE DES MATIÈRES

<b>RÉSUMÉ</b> .....	<b>I</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>III</b>
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>V</b>
<b>AVANT-PROPOS</b> .....	<b>VII</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES</b> .....	<b>IX</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>XIII</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>XVIII</b>
<b>ABRÉVIATIONS</b> .....	<b>XXI</b>
<b>CHAPITRE 1. INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
1.1. Mise en contexte et problématique .....	1
1.2. Définition du projet de recherche .....	3
1.3. Objectifs spécifiques du projet de recherche .....	5
1.4. Contributions originales .....	6
1.5. Plan du document .....	6
<b>CHAPITRE 2. REVUE DE LITTÉRATURE</b> .....	<b>9</b>
2.1. Doxorubicine .....	9
2.1.1. Connaissance générale .....	9
2.1.2. Structure .....	9
2.1.3. Mécanisme d'action .....	12
2.1.4. Métabolisme et élimination .....	12
2.1.5. Utilisation .....	12
2.1.6. Étude de stabilité .....	13
2.2. Épirubicine .....	16

---

2.2.1.	Connaissance générale.....	16
2.2.2.	Structure.....	17
2.2.3.	Mécanisme d'action.....	19
2.2.4.	Métabolisme et élimination .....	19
2.2.5.	Utilisation .....	19
2.2.6.	Étude de stabilité .....	20
2.3.	Irinotecan .....	23
2.3.1.	Connaissances générales.....	23
2.3.2.	Structure.....	24
2.3.3.	Mécanisme d'action.....	26
2.3.4.	Métabolisme et élimination .....	26
2.3.5.	Utilisation .....	27
2.3.6.	Étude de stabilité .....	28
2.4.	Docetaxel .....	29
2.4.1.	Connaissance générale.....	29
2.4.2.	Structure.....	30
2.4.3.	Mécanisme d'action.....	33
2.4.4.	Métabolisme et élimination .....	33
2.4.5.	Utilisation .....	34
2.4.6.	Étude de stabilité .....	35
2.5.	Évolution des traitements.....	37
2.6.	Les préparations hospitalières.....	38
2.7.	Risques associés .....	38
2.8.	Standardisation des doses.....	40
2.8.1.	Définition.....	40

---



---

2.8.2. Formules de calcul de la surface corporelle.....	42
2.9. Marché cible.....	44
2.10. Catégories des produits extravasants.....	44
<b>CHAPITRE 3. MÉTHODOLOGIE.....</b>	<b>47</b>
3.1. Paramètres et méthodes d'analyse des études de stabilité.....	47
3.1.1. Méthodes utilisées pour les études de stabilité.....	48
3.1.2. Méthode HPLC développée pour la Doxorubicine.....	50
3.1.3. Analyse du compte de particules.....	60
3.2. Analyse de la taille des particules.....	64
3.2.1. Équipement utilisé.....	64
3.2.2. Analyse statistique.....	65
3.3. Analyse par spectroscopie NIR.....	67
<b>CHAPITRE 4. ÉTUDES PRÉLIMINAIRES.....</b>	<b>69</b>
4.1. Résultats des études préliminaires.....	69
4.1.1. Irinotecan.....	69
4.1.2. Épirubicine.....	75
4.2. Conclusion des études préliminaires.....	83
<b>CHAPITRE 5. DOCETAXEL.....</b>	<b>85</b>
5.1. Étude de stabilité.....	85
5.1.1. Résultats de l'étude de stabilité.....	85
5.1.2. Conclusion de l'étude de stabilité.....	87
5.2. Analyse de la taille des particules.....	87
5.3. Étude de précipitation.....	98
5.3.1. Avec les solutions préparées pour l'étude de stabilité.....	98
5.3.2. Suivi de l'évolution temporelle du nombre de particules.....	104

---

---

5.3.3. Étude de la répartition du Docetaxel entre les deux phases .....	109
5.3.4. Influence de la concentration initiale en Docetaxel.....	113
5.4. Conclusion générale sur le Docetaxel.....	116
<b>CHAPITRE 6. DOXORUBICINE.....</b>	<b>119</b>
6.1. Étude de stabilité.....	119
6.1.1. Résultats de l'étude de stabilité .....	119
6.1.2. Conclusion de l'étude de stabilité.....	129
6.2. Étude impact pH.....	129
6.3. Étude avec NIR.....	139
6.4. Conclusion générale sur la Doxorubicine .....	155
<b>CHAPITRE 7. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>157</b>
<b>RÉFÉRENCES.....</b>	<b>161</b>

---

---

## LISTE DES FIGURES

Figure 2-1 - Structure d'une molécule de Doxorubicine .....	10
Figure 2-2 - Groupements ionisables de la Doxorubicine.....	10
Figure 2-3 - Structure d'une molécule de l'Épirubicine .....	17
Figure 2-4 - Groupements ionisables de l'Épirubicine .....	17
Figure 2-5- Structure de la forme lactone de l'Irinotecan .....	24
Figure 2-6 - Structure de la forme carboxylate de l'Irinotecan.....	24
Figure 2-7 - Groupements ionisables de l'Irinotecan.....	25
Figure 2-8 - Structure du métabolite SN38 (forme lactone).....	26
Figure 2-9 - Irinotecan et ses métabolites [33].....	27
Figure 2-10 - Structure de base des taxanes .....	30
Figure 2-11 - Structure d'une molécule de Docetaxel [36].....	30
Figure 2-12 - Groupements ionisables du Docetaxel .....	31
Figure 2-13 - Structure du Paclitaxel avec ses régions actives [37].....	32
Figure 2-14 - Structure du Docetaxel avec ses différences par rapport au Paclitaxel .....	32
Figure 2-15 - Docetaxel et ses métabolites [39].....	33
Figure 2-16 - Représentation d'un intervalle pour la standardisation des doses.....	41
Figure 3-1 - HPLC Shimadzu.....	51
Figure 3-2 - Chromatogramme des différentes solutions de Doxorubicine .....	53
Figure 3-3 - Chromatogrammes permettant de déterminer la spécificité de la méthode .....	54
Figure 3-4 - Courbe de calibration de la solution de Doxorubicine préparée avec le NaCl 0,9 % .....	55
Figure 3-5 - Courbe de calibration de la solution de Doxorubicine préparée avec du glucose 5 %.....	56
Figure 3-6 - Chromatogrammes des solutions après les tests de dégradation forcée .....	59
Figure 3-7 - Compteur de particules LS-20.....	63
Figure 3-8 - Analyseur de taille des particules LS 13 320 .....	64

---

Figure 3-9 - Cellule du module <i>Universal Liquid Module</i> .....	65
Figure 3-10 - Cellule du module <i>Micro Liquid module</i> .....	65
Figure 3-11 - Équipement MPA de Bruker.....	68
Figure 4-1 - Évolution de la concentration exprimée en pourcentage d'Irinotecan au cours du temps .....	70
Figure 4-2 - Nombre de particules $\geq 10 \mu\text{m}$ par contenant.....	72
Figure 4-3 - Nombre de particules $\geq 25 \mu\text{m}$ par contenant.....	73
Figure 4-4 - Évolution du pH au cours du temps dans les solutions d'Irinotecan.....	74
Figure 4-5 - Évolution de la concentration exprimée en pourcentage d'Épirubicine au cours du temps .....	76
Figure 4-6 - Nombre de particules $\geq 10 \mu\text{m}$ par contenant.....	78
Figure 4-7 - Nombre de particules $\geq 25 \mu\text{m}$ par contenant.....	79
Figure 4-8 - Évolution du pH au cours du temps dans les solutions d'Épirubicine .....	80
Figure 4-9 - Évolution de la concentration et du pH au cours du temps dans les solutions d'Épirubicine préparées avec du NaCl 0,9 %.....	81
Figure 4-10 - Évolution de la concentration en Épirubicine en fonction du pH pour les solutions préparées dans du NaCl 0,9%.....	82
Figure 5-1 - Solution de Docetaxel dans du NaCl 0,9 % dans une bouteille en polypropylène ambrée à T0.....	86
Figure 5-2 - Solution de Docetaxel dans du glucose 5 % dans une bouteille en polypropylène claire à T0.....	86
Figure 5-3 - Solution de Docetaxel dans du glucose 5 % dans une bouteille en polypropylène ambrée à T0.....	86
Figure 5-4- Solution préparée avec du NaCl 0,9 % contenue dans une bouteille claire à 25 °C après 13 jours .....	88
Figure 5-5 - Évolution de la taille moyenne des particules dans les solutions de Docetaxel préparées avec du NaCl 0,9 % en fonction du temps.....	89
Figure 5-6 - Résultats du test de Grubb pour les solutions préparées avec du NaCl 0,9 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène ambrées .....	90
Figure 5-7 - Boîte à moustache représentant la taille des particules dans les solutions de Docetaxel préparées avec du NaCl 0,9 % et contenues dans des bouteilles de polypropylène ambrées.....	91

---

---

Figure 5-8 - Évolution de la taille moyenne des particules dans les solutions de Docetaxel préparées avec du glucose 5 % en fonction du temps .....	92
Figure 5-9 - Résultats du test de Grubb pour les solutions préparées avec du glucose 5 % et contenue dans des bouteilles en polypropylène claires .....	93
Figure 5-10 - Boîte à moustache représentant la taille des particules dans les solutions de Docetaxel préparées avec du glucose 5 % et contenues dans des bouteilles de polypropylène claires.....	94
Figure 5-11 - Résultats du test de Grubb pour les solutions préparées avec du glucose 5 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène ambrées.....	96
Figure 5-12 – Boîte à moustache représentant la taille des particules dans les solutions de Docetaxel préparées avec du glucose 5 % et contenues dans des bouteilles de polypropylène ambrées.....	97
Figure 5-13 - Solutions de Docetaxel préparée dans du NaCl 0,9 % (à gauche) et dans du glucose 5 % (à droite) contenues dans des bouteilles en polypropylène claires et entreposées à 40 °C.....	98
Figure 5-14- Schéma de la réalisation de la séparation du surnageant et du précipité.....	99
Figure 5-15 - Solution de Docetaxel préparées dans du glucose 5 % contenue dans des bouteilles en polypropylène claires à 5 °C .....	101
Figure 5-16 - Solution de Docetaxel préparées dans du glucose 5 % contenue dans des bouteilles en polypropylène claires à 25 °C .....	101
Figure 5-17 - Solution de Docetaxel préparée dans du NaCl 0,9 % contenue dans des bouteilles en polypropylène claires à 5 °C .....	102
Figure 5-18 - Solution de Docetaxel préparée dans du NaCl 0,9 % contenue dans des bouteilles en polypropylène claires à 25 °C .....	102
Figure 5-19 - Résultats pour les différentes bouteilles entreposées à 25 °C au jour 57 .....	103
Figure 5-20 - Nombre de particules en fonction du temps pour le lot A.....	105
Figure 5-21 - Nombre de particules en fonction du temps pour le lot B.....	106
Figure 5-22 - Nombre de particules en fonction du temps pour le lot B (centré sur les limites) .....	106
Figure 5-23 - Concentration en Docetaxel dans les solutions au cours du temps .....	108
Figure 5-24 - Apparition d'un cristal après 2 jours dans un flacon contenant une solution de Docetaxel.....	110
Figure 5-25 - Solution de Docetaxel dans du NaCl 0,9 % (à gauche) et dans du glucose 5 % (à droite) après 6 jours à 40°C .....	110

---

---

Figure 5-26 - Solution de Docetaxel dans du glucose 5 % présentant une précipitation sans contamination (à gauche) après contamination (au centre et à droite).....	111
Figure 5-27 - Solution de Docetaxel dans du glucose 5 % devenue troubles .....	111
Figure 5-28 - Concentration en Docetaxel dans le surnageant des différentes solutions.....	112
Figure 5-29 - Solution de Docetaxel préparée avec du glucose 5 % après 20 jours .....	113
Figure 5-30 - Solution de Docetaxel préparée avec du NaCl 0,9 % après 20 jours .....	114
Figure 5-31 - Solution de Docetaxel préparée avec du glucose 5 % après 88 jours .....	115
Figure 5-32 - Solution de Docetaxel préparée avec du NaCl 0,9 % après 88 jours .....	115
Figure 6-1 - Solutions de Doxorubicine mises en bouteilles .....	119
Figure 6-2 - Évolution de la concentration en Doxorubicine au cours du temps, à 5 °C.....	121
Figure 6-3 – Évolution de la concentration en Doxorubicine au cours du temps, à 25 °C .....	122
Figure 6-4 - Évolution du nombre de particule $\geq 10 \mu\text{m}$ par contenant en fonction du temps	124
Figure 6-5 - Évolution du nombre de particule $\geq 25 \mu\text{m}$ par contenant en fonction du temps	126
Figure 6-6 - Évolution du pH au cours du temps .....	128
Figure 6-7 - Solution de Doxorubicine après 6 mois dans une bouteille en polypropylène claire .....	129
Figure 6-8 - Concentration en Doxorubicine dans les solutions préparées avec NaCl 0,9 % en fonction du temps .....	131
Figure 6-9 - Concentration en Doxorubicine dans les solutions préparées avec le glucose 5 % en fonction du temps .....	132
Figure 6-10 - Détermination de l'ordre de la réaction .....	135
Figure 6-11 - Constantes de vitesse des réactions dans chacune des conditions .....	136
Figure 6-12 - Représentation graphique de la loi d'Arrhenius .....	138
Figure 6-13 - Spectres NIR des solutions de Doxorubicine faites à partir de l'API (en vert) et du PF (en bleu) dans le glucose 5 % .....	140
Figure 6-14 - Spectres NIR des solutions de Doxorubicine faites à partir de l'API (en vert) et du PF (en bleu) dans le NaCl 0,9 % .....	140
Figure 6-15 - Spectres NIR de la zone d'intérêt des solutions de Doxorubicine faites à partir de l'API (en vert) et du PF (en bleu) dans le glucose 5 %.....	141

---

---

Figure 6-16 - Spectres NIR des zones d'intérêt des solutions de Doxorubicine faites à partir de l'API (en vert) et du PF (en bleu) dans le NaCl 0,9 %.....	142
Figure 6-17 - Modèle pour les faibles concentrations des solutions faites avec le glucose 5 % .....	143
Figure 6-18 - Prédiction pour les faibles concentrations préparées avec le glucose 5 % .....	144
Figure 6-19 - Modèle pour les faibles concentrations des solutions faites avec le NaCl 0,9 % .....	145
Figure 6-20 - Prédiction pour les faibles concentrations préparées avec le NaCl 0,9%.....	146
Figure 6-21 - Modèle pour des concentrations allant de 0,3 à 2,0 mg.mL-1 dans du glucose 5 %.....	147
Figure 6-22 - Prédiction pour des concentrations allant de 0,3 à 2,0 mg.mL-1 dans du glucose 5 %.....	148
Figure 6-23 - Modèle pour des concentrations allant de 0,3 à 2,0 mg.mL-1 dans du NaCl 0,9 % .....	149
Figure 6-24 - Prédiction pour des concentrations allant de 0,3 à 2,0 mg.mL-1 dans du NaCl 0,9 %.....	150
Figure 6-25 - Modèle pour des concentrations allant de 1,80 à 2,20 mg.mL-1 dans du glucose 5 %.....	151
Figure 6-26 - Prédiction pour une concentration de 2,00 mg.mL-1 dans du glucose 5 % ....	152
Figure 6-27 - Modèle pour des concentrations allant de 1,80 à 2,20 mg.mL-1 dans du NaCl 0,9 %.....	153
Figure 6-28 - Prédiction pour une concentration de 2,00 mg.mL-1 dans du NaCl 0,9 % .....	154

---

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2-1 - Valeur de pKa et groupements ionisables pour la Doxorubicine [16].....	11
Tableau 2-2 - Données de stabilité en fonction de différents paramètres [21][22][23] .....	14
Tableau 2-3 - Valeur des pKa et groupements ionisables pour l'Épirubicine [16].....	18
Tableau 2-4 - Données de stabilité en fonction de différents paramètres [26] .....	21
Tableau 2-5 - Valeur des pKa et groupements ionisables pour l'Irinotecan [16] .....	25
Tableau 2-6 - Données issues du RCP [13].....	28
Tableau 2-7 - Données de stabilité en fonction de différents paramètres [35]] .....	29
Tableau 2-8 - Valeur de pKa et groupements ionisables du Docetaxel [16].....	31
Tableau 2-9 - Données issues du site internet Stabilis [43] .....	36
Tableau 2-10 - Données de stabilité en fonction de différents paramètres .....	37
Tableau 2-11 - Intervalles et doses associées pour la standardisation des doses [43] .....	41
Tableau 2-12 - Calcul de l'indice de surface corporelle [62] .....	43
Tableau 3-1 - Paramètres étudiés pour les différentes études de stabilité.....	47
Tableau 3-2 - Spécifications des éléments étudiés lors des études de stabilité.....	48
Tableau 3-3 - Méthodes de référence pour les différents tests réalisés.....	49
Tableau 3-4 - Temps d'analyse pour chacun des produits.....	49
Tableau 3-5 - Paramètres de l'analyse HPLC.....	52
Tableau 3-6 - Concentration de la courbe de calibration .....	55
Tableau 3-7 - Résultats des tests de répétabilité de la méthode pour les solutions préparées dans le NaCl 0,9%.....	57
Tableau 3-8 - Résultats des tests de répétabilité de la méthode pour les solutions préparées dans le glucose 5 % .....	57
Tableau 3-9 - Résultats des tests de reproductibilité de la méthode pour les solutions préparées dans le NaCl 0,9%.....	58
Tableau 3-10 - Résultats des tests de reproductibilité de la méthode pour les solutions préparées dans le glucose 5 %.....	58
Tableau 3-11 - Limite d'acceptation du nombre de particules dans une solution injectable.....	62
Tableau 3-12 - Choix du test de Dixon dans Minitab en fonction de la taille de l'échantillon .	67



---

Tableau 4-1 - Concentration restante en % de la concentration initiale.....	69
Tableau 4-2 - Nombre de particules plus grosse que 10 µm par contenant .....	71
Tableau 4-3 - Nombre de particules plus grosses que 25 µm par contenant.....	72
Tableau 4-4 - pH des solutions lors de l'étude de stabilité .....	74
Tableau 4-5 - Concentration restant en % de la concentration initiale.....	75
Tableau 4-6 - Nombre de particules plus grosses que 10 µm par contenant.....	77
Tableau 4-7 - Nombre de particules plus grosses que 25 µm par contenant.....	78
Tableau 4-8 - pH des solutions.....	80
Tableau 5-1 - Compte des particules dans les solutions de Docetaxel.....	85
Tableau 5-2 - Taille moyenne des particules dans les solutions préparées avec du NaCl 0,9 % et entreposées dans des bouteilles en polypropylène ambrées .....	90
Tableau 5-3 - Taille moyenne des particules dans les solutions préparées avec du glucose 5 % et entreposées dans des bouteilles en polypropylène claires .....	92
Tableau 5-4 - Résultats des tests de Dixon pour les solutions de Docetaxel avec du glucose 5 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène claires .....	94
Tableau 5-5 - Taille moyenne des particules dans les solutions préparées avec du glucose 5 % et entreposées dans des bouteilles en polypropylène ambrées .....	95
Tableau 5-6 - Répartition du Docetaxel entre les phases de la suspension dans les bouteilles en polypropylène claires entreposées à 5 °C.....	99
Tableau 5-7 - Répartition du Docetaxel entre les phases de la suspension dans les bouteilles en polypropylène claires entreposées à 25 °C.....	100
Tableau 5-8 - Seuil de solubilité des excipients des solutions concentrées de Docetaxel.....	109
Tableau 5-9- Nombre de solutions présentant un précipité.....	116
Tableau 5-10 - Apparition de la précipitation dans les solutions de Docetaxel .....	117
Tableau 5-11 - Concentration (en % de la concentration initiale) de Docetaxel dans le surnageant.....	118
Tableau 6-1 - Concentration restante en % de la concentration initiale.....	120
Tableau 6-2 - Nombre de particules plus grosses que 10 µm par contenant.....	123
Tableau 6-3 - Nombre de particules plus grosses que 25 µm par contenant.....	125
Tableau 6-4 - pH des solutions.....	127

---

Tableau 6-5 - Concentration en Doxorubicine en fonction du pH au temps initial .....	130
Tableau 6-6 - Tableau de l'ANOVA donné par le logiciel Design Expert .....	133
Tableau 6-7 - Constante de vitesse pour chacune des conditions .....	136
Tableau 6-8 - Équations des droites .....	138
Tableau 6-9 - Énergie d'activation pour chaque pH.....	139
Tableau 6-10 - Stabilité en mois des solutions de Doxorubicine .....	155
Tableau 7-1 - Récapitulatif des résultats des études de stabilité pour les quatre produits .....	157

---

---

## ABRÉVIATIONS

ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ANOVA	<i>ANalysis Of VAriance</i>
BPF	Bonnes pratiques de fabrication
BSA	<i>Body Surface Area</i>
DW 5 %	Glucose 5 %
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
EPPI	Eau pour préparation injectable
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HCl	Acide chlorhydrique
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
ICH	<i>International Conference on Harmonization</i>
IP	Industrie pharmaceutique
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
IV	Intraveineuse
LO	<i>Light obturing</i>
LS	<i>Light scattering</i>
NaCl 0,9 %	Chlorure de sodium à 0,9 %
NaOH	Hydroxyde de sodium
NECC	<i>New England Compounding Center</i>
NHS	<i>National Health Service</i>
NIR	<i>Near InfraRed</i>
PA	Principe actif
PAT	<i>Process Analytical Technology</i>

---

PE	Polyéthylène
PF	Produit fini
pKa	Constante d'équilibre
POF	Polyoléfine
PP	Polypropylène
PVC	Polychlorure de vinyle
RCP	Résumé des caractéristiques du produit
RMSEP	<i>Root Mean Square Error of Prediction</i>
RTA	<i>Ready to Administer</i>
SDS	Dodécylsulfate de sodium
UICPA	Union internationale de chimie pure et appliquée
USP	<i>United States Pharmacopeia</i>

---

---

# CHAPITRE 1. INTRODUCTION

## 1.1. Mise en contexte et problématique

L'efficacité, l'innocuité et la qualité des médicaments sont trois paramètres essentiels pour l'industrie pharmaceutique (IP) lors du développement et de la production d'un produit de santé. Afin de s'assurer que ces paramètres sont bien respectés, l'industrie pharmaceutique suit des normes et des recommandations issues des agences réglementaires des pays dans lesquels elle veut commercialiser son produit.

La perte des brevets concernant les produits les plus vendus par certaines des plus grandes sociétés pharmaceutiques et l'arrivée de nombreuses entreprises de fabrication de génériques ont amené les sociétés pharmaceutiques à revoir leur modèle économique. Pour limiter les pertes financières, ces sociétés doivent trouver des solutions pour améliorer leur productivité (libération des lots fabriqués le plus rapidement possible, diminution du nombre de rejets, gestion des stocks).

Certains médicaments ne sont pas suffisamment stables pour être stockés, lorsqu'ils sont présentés sous leur forme d'administration et nécessitent d'être préparés en pharmacie avant d'être administrés au patient. De façon générale, la préparation peut être effectuée tant dans une pharmacie officinale que dans une pharmacie hospitalière ou dans un établissement spécialisé dans ce type de produit. Néanmoins, pour les médicaments oncologiques, la préparation de ce type de médicaments se fait soit dans les pharmacies hospitalières soit dans des établissements spécialisés [1]–[3]. Les étapes de préparation peuvent être une dilution, une reconstitution ou un mélange et sont réalisées par du personnel qualifié et indépendant de la société qui a fabriqué le produit.

Afin d'obtenir la préparation finale, le personnel doit utiliser plusieurs produits issus de sociétés pharmaceutiques. Les règles encadrant la préparation de ces produits dans le secteur des soins de santé ne sont cependant pas les mêmes que celles imposées à l'industrie pharmaceutique. [4]–[6]

Cette différence au niveau des normes peut se justifier par le fait que les produits sont préparés pour un seul patient qui va utiliser le médicament dans un délai court. En cas de problème dû à ce médicament, il est aisé de retrouver la personne concernée et de remplacer le produit. Les conséquences d'une erreur ont un impact limité.

Depuis plusieurs années, on assiste toutefois à la fabrication par lot de ce type de produit. Dans ce contexte, le terme de lot désigne la fabrication de plusieurs unités de traitement à la suite, mais leur nombre est bien plus petit que la notion de lot dans l'industrie pharmaceutique. La réglementation de cette fabrication par lot n'a pas évolué aussi vite que la pratique. Des erreurs dans la fabrication de ces médicaments ont des conséquences plus importantes sur la santé des patients puisqu'une erreur va concerner plusieurs patients et qu'il est parfois plus difficile de contacter tous les patients à temps. D'un point de vue économique, il faut ajouter au coût du temps perdu par le personnel de soin à récupérer tous les médicaments concernés et au coût lié au fait que les patients n'ont pas leur médicament, le coût de la production du lot de remplacement. [7]

Le *New England Compounding Center (NECC)* était un établissement spécialisé dans la réalisation de préparation magistrale hospitalière. En 2012, à la suite d'une mauvaise gestion des risques et de la qualité, et d'un non-respect de la réglementation, plus de 14 000 patients ont reçu une injection par voie épidurale d'un stéroïde contaminé par un champignon responsable de la méningite. Si le produit avait été fabriqué pour un seul patient, la contamination aurait été limitée à ce patient. Cependant afin de réduire les coûts, le produit avait été réalisé en grande quantité. Cette contamination a entraîné le décès de 31 patients. [8] À la suite de cet incident, une loi, le « *Drug Quality and Security Act* », a été écrite par l'autorité réglementaire des États-Unis, la FDA, pour une plus grande autorité afin de réguler et suivre la production des préparations magistrales.[9]

Afin de garantir la même qualité de produit pour un médicament directement issu d'une société pharmaceutique et un médicament nécessitant une étape de transformation, certaines autorités réglementaires du secteur de la santé encouragent les professionnels de la santé (médecins, pharmaciens et industriels) à envisager des solutions de standardisation des doses.

---

Pour les médicaments utilisés dans les traitements de chimiothérapie, la concentration à administrer au patient est calculée en fonction de sa surface corporelle (en anglais, *Body Surface Area* ou *BSA*). Chaque patient reçoit donc une dose précise et personnalisée. Leur préparation ne se fait pas, pour le moment, par lot comme expliqué précédemment. Néanmoins, le principe de la standardisation des doses commence à faire son apparition dans certains pays comme le Royaume-Uni et l’Australie [10]. Ce principe est de ne plus avoir une dose par patient, mais de créer des intervalles pour lesquels la dose médiane serait administrée à tous les patients pour lesquels le calcul de la dose individuelle se situe dans cet intervalle.

Grâce à ce principe, le nombre de doses nécessaire diminue et peut être préparé à l’avance. Cela donne l’opportunité aux sociétés pharmaceutiques de produire ces médicaments directement sous leur forme d’administration.

## 1.2. Définition du projet de recherche

Certains médicaments ne peuvent pas être stockés sous leur forme prête à être administrée. Le plus souvent, cela est dû au fait que le produit se dégrade ou n’est plus sous forme active dans les conditions d’administration (température, pH, lumière...).

Pour les médicaments anticancéreux, un autre paramètre ne favorise pas le conditionnement sous forme finale : la concentration en principe actif est calculée suivant la surface corporelle du patient. Les médicaments sont préparés suivant une ordonnance pour un patient spécifique.

Ces médicaments nécessitent des étapes de dilution ou de reconditionnement avant leur administration, ce qui a plusieurs impacts. Ces impacts peuvent concerner les établissements de santé, le personnel soignant ainsi que les patients et l’environnement et peuvent être monétaire, organisationnel ou encore sécuritaire.

Les centres de soins qui doivent avoir du personnel formé à la préparation de ce type de produit ainsi que des locaux adaptés sont les premiers impactés.

---

Les règles d'asepsie dans les locaux de ces centres de soins ne sont pas les mêmes que celles qui régissent la production de produit injectable sous forme finale dans une entreprise pharmaceutique. Si les risques de contamination du produit par l'environnement sont importants, les risques de contamination du personnel de soin par le produit le sont tout autant.

Les différentes étapes de préparation étant manuelles, le risque d'erreur dans le dosage est également élevé.

Enfin, un autre impact concerne les patients. En effet, les produits sont préparés pour un patient spécifique et il est nécessaire de les utiliser dans un laps de temps court, en général dans les quatre heures suivant la préparation pour le Docetaxel [11] et dans les vingt-quatre heures pour les trois autres produits [12]–[15]. La préparation des produits ne commence par conséquent que lorsque le patient est déjà dans le centre de soins. Ce dernier doit attendre avant de recevoir son produit.

Le projet de recherche consistera à développer des formules prêtes à être administrées (en anglais, *Ready to Administer* ou *RTA*) à partir de quatre produits déjà commercialisés par la société Pfizer.

Pour le moment, ces produits nécessitent une étape de dilution avant d'être administrés au patient. Les produits concernés sont l'Irinotecan, l'Épirubicine, la Doxorubicine et le Docetaxel, qui sont utilisés lors de traitements par chimiothérapie. Ils sont dilués à la concentration souhaitée dans des poches à perfusion soit de glucose à 5 % (DW 5 %) soit de chlorure de sodium à 0,9 % (NaCl 0,9 %).

La stabilité des solutions sera étudiée pour une seule concentration. La plus faible concentration administrable a été choisie pour ces études. En effet, afin de s'assurer de la stabilité du produit en solution, un suivi de la concentration sera fait. La spécification pour démontrer la stabilité est que la concentration ne varie pas de plus de 10% de la concentration initiale. En choisissant la concentration la plus faible pour notre étude, cette variation de 10% correspond à la quantité la plus faible possible. Cela est donc considéré comme le pire scénario. Afin de pouvoir faire du *dose banding* d'autres concentrations devront également

---



être étudiées, mais la quantité de produit à dégrader sera plus élevée pour un même pourcentage de dégradation par rapport à la concentration initiale.

La période de stabilité de ces formules devra être de douze mois minimum. Cette période de temps a été choisie, car elle permet de fabriquer le produit, de l'envoyer vers les centres de soin tout en laissant assez de temps pour qu'il soit utilisé avant sa péremption.

### 1.3. Objectifs spécifiques du projet de recherche

Le premier objectif spécifique de ce projet de recherche est de déterminer si ces quatre produits sont stables dans leur forme administrable pendant au moins un an. Un des sites de production de l'entreprise partenaire réalise les études de stabilité de l'Irinotecan et de l'Épirubicine. Le même protocole est utilisé pour ces études et pour l'étude de stabilité du Docetaxel. Pour l'étude de stabilité de la Doxorubicine, une méthode d'analyse spécifique a été développée. Lors de ces études, différents paramètres sont étudiés : la température d'entreposage, le diluant utilisé, le contenant choisi. Ces études vont permettre de mettre en évidence les meilleures conditions d'entreposage pour une bonne conservation des produits.

Le second objectif spécifique est de comprendre comment chacun de ces produits est préparé et administré au patient. Le but est de comprendre le cycle de vie du produit de sa fabrication par l'usine à son utilisation à l'hôpital afin de pouvoir proposer une solution adaptée à l'utilisation.

Une meilleure connaissance de la stabilité des produits ainsi que du mode de préparation et d'administration permettra de répondre à l'objectif final qui est de proposer une solution de conditionnement qui convient à la stabilité de chacun des produits et qui est adaptée à leur mode d'administration.

---

## 1.4. Contributions originales

Bien que les produits choisis soient sur le marché depuis plusieurs décennies, peu d'études de stabilité à long terme ont été réalisées lorsque ces produits sont sous leur forme administrable.

Cette thèse présente les résultats des études de stabilité pour les quatre produits choisis en fonction de différents paramètres (températures, diluant utilisé et type de contenant).

Bien que l'étude de stabilité du Docetaxel ait montré l'apparition de particules dans les solutions, les différentes études réalisées ne nous ont pas permis de déterminer une cinétique de réaction ou les paramètres influençant la précipitation. Nous avons cependant pu établir que les particules sont composées de Docetaxel. L'inspection du produit avant chaque administration est précisée dans les recommandations d'utilisation du produit (RCP).

L'étude de stabilité de la Doxorubicine a mis en évidence une différence de stabilité entre les solutions préparées avec le glucose 5 % et celles préparées avec le NaCl 0,9 %. Nous avons noté également une différence de pH entre ces deux solutions. Une étude nous a par ailleurs permis de mettre en évidence l'impact du pH sur la stabilité des solutions.

## 1.5. Plan du document

Cette thèse est organisée en sept chapitres.

Tout d'abord, le chapitre 1 correspond à l'introduction, avec une mise en contexte et la problématique du projet, puis la définition de ce projet de recherche ainsi que ses objectifs. Les contributions originales sont également présentées.

Le chapitre 2 est une revue de la littérature. Il contient en premier lieu une description des quatre produits. Les données de stabilité collectées dans la littérature sont regroupées à la fin de chaque section correspondant à un produit. Le chapitre présente également les

---

évolutions des traitements avec les préparations hospitalières ainsi que les risques associés et la standardisation des doses. Sont également présentés les marchés cibles pour ce doctorat ainsi que les autorités réglementaires concernées. Enfin, ce chapitre présente les différentes catégories de produits extravasants auxquelles les produits étudiés appartiennent et les raisons pour lesquelles une connaissance de leur stabilité à long terme en solution est un atout pour leur préparation.

Le chapitre 3 présente la méthodologie utilisée au cours des différentes études réalisées durant ce travail de recherche.

Le chapitre 4 présente les résultats des études de stabilité réalisées par un laboratoire de Pfizer sur l'Irinotecan et sur l'Épirubicine. Ces études sont les études préliminaires qui nous ont encouragés à poursuivre les recherches sur d'autres produits. Cette étude a été réalisée par un site de Pfizer. J'ai réalisé l'analyse des données obtenues.

Les différentes études réalisées avec le Docetaxel sont présentées dans le chapitre 5. En premier, l'étude de stabilité puis celles sur la taille des particules et sur la précipitation du produit en solution. J'ai réalisé l'ensemble des études et l'analyse des données obtenues pour le Docetaxel.

Les études réalisées avec la Doxorubicine sont décrites dans le chapitre 6, qui commence avec l'étude de la stabilité, suivie par une étude sur l'impact du pH sur les solutions. Une dernière étude a été réalisée pour essayer de quantifier la Doxorubicine dans les solutions avec un spectromètre en proche infrarouge (NIR, *Near InfraRed*). J'ai réalisé l'ensemble des études et l'analyse des données obtenues pour la Doxorubicine.

Les conclusions de ces différentes études et les perspectives de recherche sont présentées dans le dernier chapitre.

---



---

## CHAPITRE 2. REVUE DE LITTÉRATURE

### 2.1. Doxorubicine

#### 2.1.1. Connaissance générale

Selon l'Union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA ou *IUPAC* en anglais, *International Union of Pure and Applied Chemistry*), le nom de la Doxorubicine est le (8S,10S)-10-(4-amino-5-hydroxy-6-méthyl-tétrahydro-2H-pyran-2-yloxy)-6,8,11-trihydroxy-8-(2-hydroxyacétyl)-1-méthoxy-7,8,9,10-tétrahydrotétracène-5,12-dione.

La Doxorubicine est également commercialisée sous le nom Adriamycine<sup>®</sup> au Canada, de Rubex<sup>®</sup> aux États-Unis, de Adriblastin<sup>®</sup> en Suisse, de Adriblastina<sup>®</sup> en Belgique, d'Adriblastine<sup>®</sup> en France, entre autres.

Ce produit est une anthracycline. Dans ce groupe sont rassemblées plusieurs molécules qui ont toutes la même structure de base, enchaînement de cycles : un cycle aromatique, un cycle non aromatique, un cycle aromatique et un autre cycle non aromatique. Les molécules de ce groupe diffèrent par leurs chaînes latérales.

#### 2.1.2. Structure

La Doxorubicine est une molécule composée de plusieurs cycles. La molécule de Doxorubicine est représentée par la Figure 2-1.

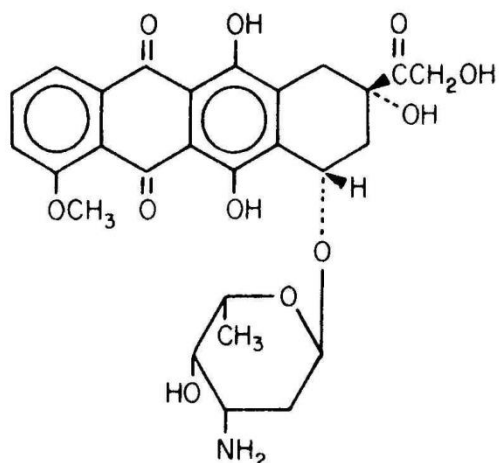


Figure 2-1 - Structure d'une molécule de Doxorubicine

La Figure 2-2 représente la molécule de Doxorubicine dont les groupements ionisables ont été entourés d'un cercle de couleur. Le Tableau 2-1 donne pour chacun des groupements ionisables, la valeur de la constante d'équilibre ( $pK_a$ ) associée. Les cercles rouges représentent les groupements qui perdent un atome d'hydrogène et les cercles bleus les groupements qui en acceptent un. Dans les conditions physiologiques, une seule des fonctions alcool pourra s'ioniser, le  $pK_a$  des autres fonctions est trop élevé.

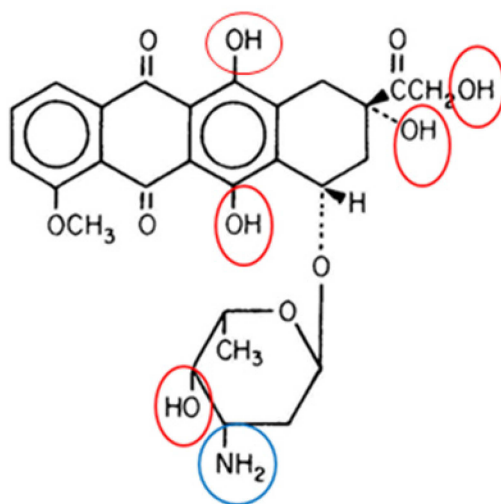
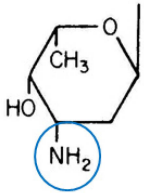
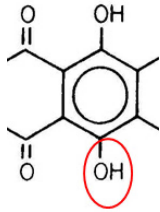
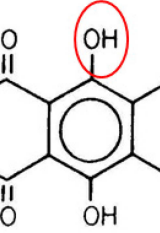
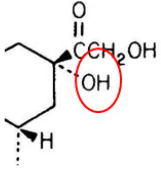
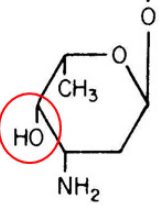
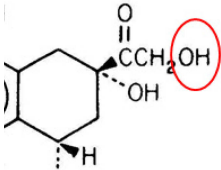


Figure 2-2 - Groupements ionisables de la Doxorubicine

Tableau 2-1 - Valeur de pKa et groupements ionisables pour la Doxorubicine [16]

Groupement ionisable	Valeur du pKa
	9,93
	8,00
	9,17
	12,67
	13,49
	14,10

### 2.1.3. Mécanisme d'action

La Doxorubicine, qui appartient à la catégorie des anthracyclines, est un agent intercalant de l'ADN. Elle est active sous sa forme non métabolisée et peut aussi agir comme inhibiteur de la topoisomérase II [16]. C'est également un chélateur puissant qui provoque la création de radicaux libres qui vont cliver l'ADN et la membrane cellulaire [15].

### 2.1.4. Métabolisme et élimination

La Doxorubicine est métabolisée par une enzyme aldo-keto réductase par voie hépatique. Un métabolite actif, le Doxorubino1, est créé [18][19]. L'excrétion de la Doxorubicine se fait majoritairement par voie biliaire sous sa forme non métabolisée et sous la forme de quelques métabolites. [12][19]

### 2.1.5. Utilisation

La Doxorubicine est recommandée dans le traitement des cancers du sein, des sarcomes des os et des tissus mous, de la maladie de Hodgkin, lymphomes non hodgkiniens, des cancers du poumon, des leucémies aiguës et chroniques et des cancers de la vessie, de l'ovaire et de l'estomac. [12]

D'après les recommandations d'utilisation du produit fournies dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP), la Doxorubicine est administrée de préférence par injection dans la tubulure d'une perfusion de NaCl 0,9 % ou de glucose 5 %. La vitesse d'administration dépend de la taille de la veine dans laquelle la perfusion est installée, néanmoins l'administration ne doit pas être plus rapide que cinq à dix minutes.[12]

La Doxorubicine se présente en flacons unidoses de 5 mL, 10 mL et 25 mL et en flacons multidoses de 75 mL et 100 mL [12].

---



### 2.1.6. Étude de stabilité

D'après le RCP, une fois la dilution du produit effectuée, la stabilité dans un flacon de polyéthylène est démontrée pour 48 h si la température est soit comprise entre 2 et 8 °C, soit de 25 °C et que le produit est conservé à l'abri de la lumière aussi bien dans le chlorure de sodium 0,9 % que dans le glucose 5 %. Le RCP n'indique pas si les flacons en polyéthylène sont opaques ou transparents, néanmoins elles précisent de conserver les flacons à l'abri de la lumière. Il faut donc que les solutions soient conservées dans des flacons opaques ou, si les flacons sont transparents, ceux-ci doivent être conservés dans un environnement obscur (conditionnement secondaire opaque ou pièce sans lumière). Cependant, d'un point de vue microbiologique, il est conseillé d'utiliser le produit immédiatement après sa dilution.[12] En effet, l'action de prélever le produit puis de l'injecter dans un autre contenant peut entraîner une contamination microbienne. Afin de prévenir la multiplication microbienne, il est recommandé d'administrer le produit immédiatement après sa préparation. Les différentes valeurs de stabilité trouvées dans la littérature sont rassemblées dans le Tableau 2-2 en fonction des paramètres étudiés.

---

Tableau 2-2 - Données de stabilité en fonction de différents paramètres [21] [22] [23]

Concentration	Diluant	Matière du contenant	Température / Humidité / Lumière	Durée
2,0 mg.mL <sup>-1</sup>	Eau pour préparation injectable (EPPI)	Verre	-20 °C, sans lumière	30 jours
2,0 mg.mL <sup>-1</sup>	EPPI	Verre	4 °C, sans lumière	180 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	Verre	20-25 °C, avec ou sans lumière	4 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup> 1,0 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	Verre	2-8 °C, sans lumière	28 jours
1,0 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	Verre	20-25 °C, avec ou sans lumière	28 jours
2,0 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	Verre	4 °C, avec lumière 23 °C, avec lumière	124 jours
0,015 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 %	Verre	49 °C, sans lumière	2 heures
0,04 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	Polychlorure de Vinyle (PVC)	4 °C, sans lumière	7 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	-20 °C, sans lumière 25 °C 4 °C, sans lumière	43 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	20 à 25 °C, sans lumière	4 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	22 °C 4 °C, sans lumière	8 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup> 1,0 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	2 à 8 °C, sans lumière	28 jours
1,0 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	20 à 25 °C, sans lumière	28 jours
1,4 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	-20 °C, sans lumière	30 jours

1,0 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PVC	-20 °C, sans lumière	14 jours
2,0 mg.mL <sup>-1</sup>	EPPI	Polypropylène (PP)	4 °C, sans lumière	43 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PP	20 à 25 °C, avec ou sans lumière	4 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup> 1,0 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PP	2 à 8 °C, sans lumière	28 jours
1,0 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PP	20 à 25 °C, sans lumière	28 jours
1,0 mg.mL <sup>-1</sup> 2,0 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PP	23 °C, avec lumière 4 °C, sans lumière	124 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 %	PP	25 °C, sans lumière	28 jours
2,0 mg.mL <sup>-1</sup>	aucun	PP	2 à 8 °C, sans lumière	84 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	Polyéthylène (PE)	25 °C, avec ou sans lumière 4 °C, sans lumière	8 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup> 1,0 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PE	2 à 8 °C, sans lumière	28 jours
1,0 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PE	20 à 25 °C, avec ou sans lumière	28 jours
0,02 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9%	PE	22 °C, avec lumière	28 jours
0,02 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PE	4 °C, sans lumière 25 °C, sans lumière	1 jour
0,02 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 %	PE	4 °C, sans lumière 25 °C, sans lumière	8 jours

Le RCP ne donne pas d'indication à propos de la concentration des solutions. Les données concernant la stabilité de la Doxorubicine dans diverses conditions (températures, diluants, concentrations, lumière...) ne sont pas toutes en concordance et sont différentes des recommandations issues du RCP. Par exemple, pour une concentration de 0,02 mg.mL<sup>-1</sup>, dans

un contenant en polyéthylène, à l'abri de la lumière, à une température réfrigérée, les solutions préparées dans du glucose 5 % ont des stabilités différentes suivant les études :

- 2 jours d'après le RCP [12]
- 1 jour [20]
- 8 jours [21]

Afin de connaître la stabilité des solutions préparées à partir du produit fabriqué par l'entreprise, nous avons refait une étude de stabilité.

## 2.2. Épirubicine

### 2.2.1. Connaissance générale

Selon l'Union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA ou *IUPAC* en anglais, *International Union of Pure and Applied Chemistry*), le nom de l'Épirubicine est le 10-((3-amino-2,3,6-trideoxy-beta-L-arabino-hexopyranosyl)oxy)-7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroxy-8-(hydroxyacétyl)-1-methoxy-(8S-cis)-5,12-naphthacenedione.

L'Épirubicine est un isomère de la Doxorubicine (4'-épi-doxorubicine), le groupe hydroxyle du carbone 4 sur le sucre est orienté dans le sens opposé de tous les autres groupements (NH<sub>2</sub> et CH<sub>3</sub>) présents sur le cycle [22]. Cet isomère permet de diminuer la cardiotoxicité de la Doxorubicine.

L'Épirubicine est commercialisée sous le nom Ellence.

---

### 2.2.2. Structure

L'Épirubicine étant un dimère de la Doxorubicine, leur structure est presque identique. La molécule d'Épirubicine est représentée par la Figure 2-3.

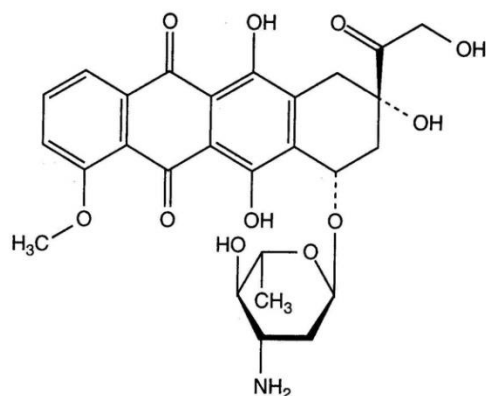


Figure 2-3 - Structure d'une molécule de l'Épirubicine

La Figure 2-4 représente la molécule de Doxorubicine dont les groupements ionisables ont été entourés d'un cercle de couleur. Le Tableau 2-3 donne pour chacun des groupements ionisables, la valeur de la constante d'équilibre (pKa) associée. Les cercles rouges représentent les groupements qui perdent un atome d'hydrogène et les cercles bleus les groupements qui en acceptent un. Dans les conditions physiologiques, une seule des fonctions alcool pourra s'ioniser, le pKa des autres fonctions est trop élevé.

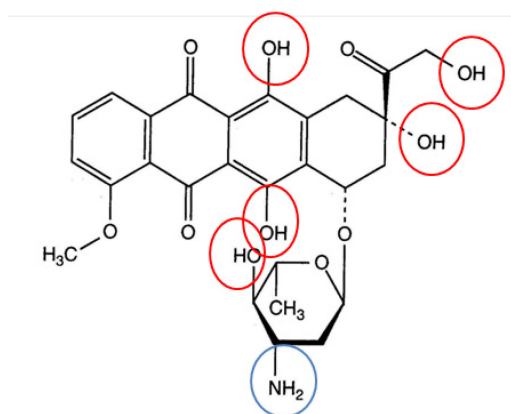
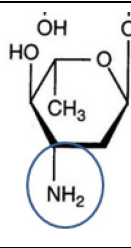
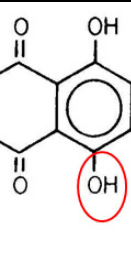
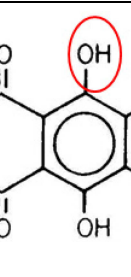
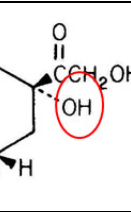
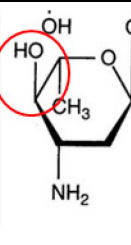
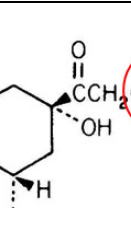


Figure 2-4 - Groupements ionisables de l'Épirubicine

Tableau 2-3 - Valeur des pKa et groupements ionisables pour l'Épirubicine [16]

Groupement ionisable	Valeur du pKa
	9,93
	8,00
	9,17
	12,67
	13,49
	14,10

### 2.2.3. Mécanisme d'action

L'Épirubicine est un inhibiteur de la topo-isomérase II. Elle agit en s'intercalant dans les brins d'ADN pour bloquer sa traduction. L'Épirubicine [14]

### 2.2.4. Métabolisme et élimination

L'Épirubicine est très rapidement métabolisée. Les métabolites importants sont l'Épirubicinol ainsi que les glucuronides de l'Épirubicine et de l'Épirubicinol. Ils sont peu voire non actifs [22]. C'est une de ces différences par rapport à la Doxorubicine qui expliquerait pourquoi l'Épirubicine est moins toxique et est éliminée plus rapidement que la Doxorubicine. [14]

L'élimination de l'Épirubicine se fait majoritairement par voie biliaire et moins de 15% par les urines [22].

### 2.2.5. Utilisation

L'Épirubicine est utilisée dans le traitement du carcinome du sein, de l'estomac, de la vessie, du poumon, du lymphome et des ovaires. Elle est aussi utilisée en prophylaxie après une ablation de tumeur.

L'Épirubicine est injectée dans la tubulure d'une perfusion intraveineuse de solution de NaCl 0,9 % ou de glucose 5 %.

Elle peut aussi être administrée par voie intra vésicale notamment dans le traitement du carcinome de la vessie. Dans ce cas, le produit est dilué avec une solution de NaCl 0,9 %. [23]

L'Épirubicine se présente en flacons unidose de 5 mL, 10 mL et 25 mL et en flacons multidoses de 75 mL et 100 mL [14].

---

### 2.2.6. Étude de stabilité

D'après le résumé des caractéristiques du produit (RCP), la stabilité des solutions d'Épirubicine a été démontrée :

- Dans des poches Viaflo, le produit est stable :
  - 28 jours, s'il est conservé entre 2 et 8 °C dans des solutions de NaCl 0,9 % ou de glucose 5 %
  - 14 jours, s'il est conservé entre 15 et 25 °C dans des solutions de NaCl 0,9 %
  - 28 jours, s'il est conservé entre 15 et 25 °C dans des solutions de glucose 5 %
  
- Dans des seringues en polypropylène le produit est stable :
  - 28 jours, s'il est conservé entre 2 et 8 °C dans des solutions de NaCl 0,9 %, de l'EPPI ou non dilué
  - 7 jours, s'il est conservé entre 15 et 25 °C dans des solutions d'EPPI
  - 14 jours, s'il est conservé entre 15 et 25 °C dans des solutions de NaCl 0,9 % ou non dilué

Les poches Viaflo sont des poches pour perfusion intraveineuse en polyoléfine de la compagnie Baxter.

Cependant, il est précisé dans le RCP qu'il s'agit de données concernant la stabilité physico-chimique. D'un point de vue microbiologique, le produit doit être utilisé immédiatement [14]. Aucune précision concernant les concentrations testées n'est donnée dans les RCP. Les différentes valeurs de stabilité trouvées dans la littérature sont rassemblées dans le Tableau 2-4 en fonction des paramètres étudiés.

---



Tableau 2-4 - Données de stabilité en fonction de différents paramètres [26]

Concentration	Diluant	Matière du contenant	Température / Humidité / Lumière	Durée
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	Verre	2 à 8 °C, sans lumière	28 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	Verre	25 °C, sans lumière	4 jours
0,05 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	Verre	4 °C, sans lumière	25 jours
0,4 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	Verre	2 à 8 °C, sans lumière 25 °C, sans lumière	4 jours
1,0 mg.mL <sup>-1</sup> 2,0 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	Verre	23 °C 4 °C, sans lumière	150 jours
0,05 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 %	Verre	4 °C, avec lumière	30 jours
1,6 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 %	Verre	2 à 8 °C, sans lumière	4 jours
0,04 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	4 °C, sans lumière	7 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	-20 °C, sans lumière 25 °C 4 °C, sans lumière	43 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	22 °C, sans lumière 4 °C, sans lumière	8 jours
0,2 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	2 à 8 °C	84 jours
0,2 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	25 °C	14 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	2 à 8 °C, sans lumière	28 jours
1,4 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	25 °C, sans lumière	4 jours
1,0 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	2 à 8 °C, sans lumière	84 jours

1,0 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	25 °C	14 jours
0,02 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PVC	22 °C, avec lumière	4 jours
0,05 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PVC	4 °C, sans lumière	25 jours
1,0 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PVC	-20 °C, sans lumière	28 jours
1,6 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PVC	2 à 8 °C, sans lumière	4 jours
0,05 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 %	PVC	4 °C, sans lumière	30 jours
0,4 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 %	PVC	2 à 8 °C, sans lumière 25 °C, sans lumière	4 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PP	2 à 8 °C, sans lumière	28 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PP	25 °C, sans lumière	4 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PE	22 °C, sans lumière 4 °C, sans lumière	8 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PE	2 à 8 °C, sans lumière	28 jours
0,1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PE	25 °C, sans lumière	4 jours
0,02 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PE	22 °C, avec lumière	1 jour
0,05 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PE	4 °C, sans lumière	25 jours
0,02 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 %	PE	22 °C, avec lumière	4 jours
0,05 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 %	PE	4 °C, sans lumière	30 jours
2,0 mg.mL <sup>-1</sup>	EPPI	PP Seringue	4 °C, sans lumière	43 jours
0,5 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PP Seringue	20 °C 4 °C, sans lumière	28 jours
1,0 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PP Seringue	8 °C	84 jours
1,0 mg.mL <sup>-1</sup> 2,0 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PP Seringue	23 °C, sans lumière 4 °C, sans lumière	150 jours
2,0 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PP Seringue	25 °C, avec lumière	14 jours

2,0 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PP Seringue	4 °C, sans lumière	180 jours
8,33 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PP Seringue	4 °C, sans lumière	3 jours
2,0 mg.mL <sup>-1</sup>	aucun	PP Seringue	2 à 8 °C, sans lumière	84 jours

Les données de stabilité de l'Épirubicine dans différentes conditions sont très variables et ne dépassent pas 150 jours.

Par exemple, pour des solutions préparées à partir de NaCl 0,9 % et contenues dans des seringues en polypropylène à température réfrigérée (entre 2 et 8 °C), le produit est déclaré stable :

- 28 jours dans le RCP [14]
- Entre 3 [24] et 180 jours [25] en fonction de la concentration en Épirubicine

Les recommandations faites dans le RCP ne donnent pas d'indication en fonction de la concentration finale de la solution à administrer. L'étude de stabilité sera faite avec le produit fabriqué par la compagnie pour s'assurer que les données obtenues correspondent bien au produit fabriqué par l'entreprise (contenant le principe actif et les excipients).

## 2.3. Irinotecan

### 2.3.1. Connaissances générales

Selon l'Union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA ou *IUPAC* en anglais, *International Union of Pure and Applied Chemistry*), le nom de l'Irinotecan est le [1,4'bipipéridine]-1'-carboxylate de (S)-4,11-diéthyl-3,4,12,14-tétrahydro-4-hydroxy-3,14-dioxo1*H*-pyrano[3',4':6,7]-indolizino[1,2-b]quinoléin-9-yle.

Ce produit est un dérivé semi-synthétique d'un alcaloïde pentacyclique naturel : la camptothécine. L'Irinotecan est photosensible. Sa dégradation par la lumière entraîne un changement de couleur, la solution devient noire. Un précipité de couleur jaune peut

également apparaître. Le pH a également une importance pour la stabilité du produit, ce qui est détaillé plus loin dans le document. [13]

L'Irinotecan est commercialisé sous le nom Camptosar.

### 2.3.2. Structure

L'Irinotecan est composé de plusieurs hétérocycles. Il existe sous deux formes stables différentes :

- Une forme lactone, représentée par la Figure 2-5

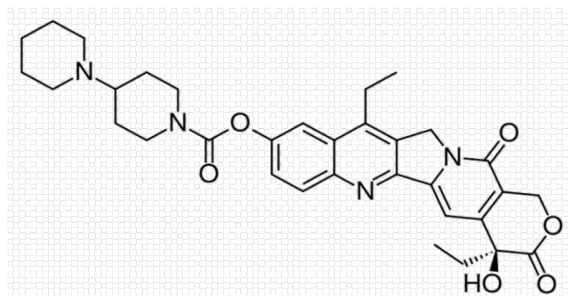


Figure 2-5- Structure de la forme lactone de l'Irinotecan

- Une forme carboxylate, représentée par la Figure 2-6

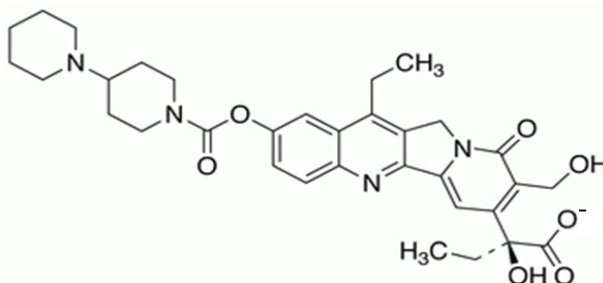


Figure 2-6 - Structure de la forme carboxylate de l'Irinotecan

L'Irinotecan possède sous sa forme lactone trois groupements ionisables encerclés sur la Figure 2-7. Les cercles rouges représentent les groupements qui perdent un atome d'hydrogène et les cercles bleus les groupements qui en acceptent un. [13]

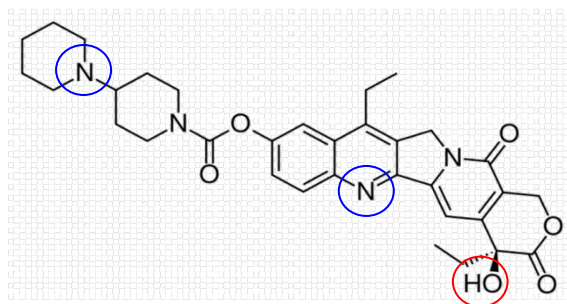
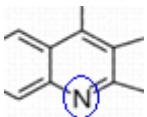
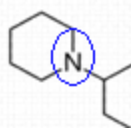
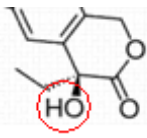


Figure 2-7 - Groupements ionisables de l'Irinotecan

Les constantes d'équilibre (pKa) pour chacun des groupements ionisables sont présentées dans le Tableau 2-5. Seules les deux fonctions amines pourront s'ioniser à pH physiologique.

Tableau 2-5 - Valeur des pKa et groupements ionisables pour l'Irinotecan [16]

Groupement ionisable	Valeur du pKa
	3,8
	9,47
	11,69

La forme lactone prédomine à pH acide alors que la forme carboxylate est majoritaire pour des pH neutres et basiques. L'activité de l'Irinotecan est entre cent et mille fois plus importante (en fonction de la variation interindividuelle) lorsqu'il se présente sous forme lactone par rapport à sa forme carboxylate. Le passage d'une forme à l'autre se fait de façon rapide mais pas instantanée. [26]

### 2.3.3. Mécanisme d'action

L'Irinotecan est une prodrogue. Le métabolite actif est nommé SN38. L'hydrolyse de l'Irinotecan en SN38 peut avoir lieu dans différents compartiments cellulaires (le sang, les cellules du foie et l'intestin). Cette réaction est réalisée par des carboxylestérases. Le métabolite de l'Irinotecan est représenté par la Figure 2-8.

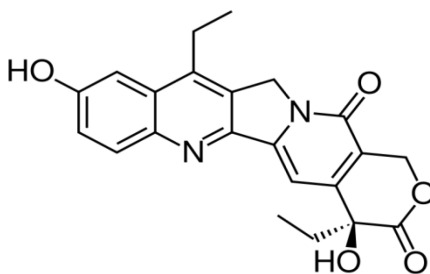


Figure 2-8 - Structure du métabolite SN38 (forme lactone)

L'Irinotecan et le SN38 sont des agents antinéoplasiques agissant comme inhibiteurs de l'ADN topo-isomérase I bien que le métabolite soit beaucoup plus actif (1000 fois plus). Cette inhibition va induire des lésions sur l'ADN simple brin ce qui va bloquer la fourche de réplication de l'ADN. Cette inhibition est responsable de l'activité cytotoxique. La molécule mère est hydrosoluble et le SN 38 est lipophile. L'Irinotecan va agir durant la phase S de la division cellulaire. [27]

### 2.3.4. Métabolisme et élimination

L'Irinotecan sera métabolisé dans l'organisme sous l'action du cytochrome P450 en différents métabolites. L'Irinotecan et ses métabolites sont représentés par la Figure 2-9.

Le métabolite SN-38 peut subir une conversion réversible comme la molécule mère entre la forme active (lactone à pH acide) et la forme inactive (hydroxylactone à pH basique) [31] [32].

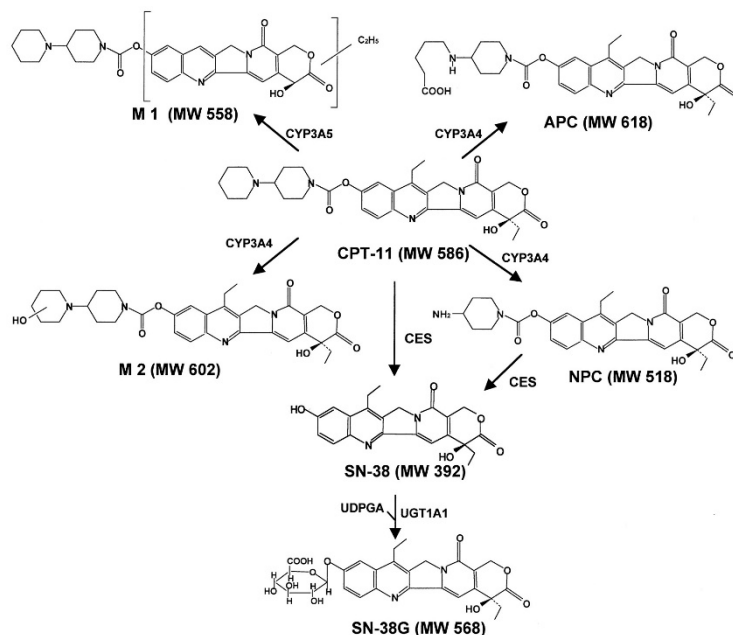


Figure 2-9 - Irinotecan et ses métabolites [30]

L'Irinotecan est métabolisé majoritairement par voie hépatique grâce au CYP3A4 et par carboxylestérase. Le SN-38 est métabolisé par UGT1A ce qui explique la variabilité interindividuelle de la réponse et de la toxicité au produit.

Les produits sont excrétés majoritairement par voie biliaire [31].

### 2.3.5. Utilisation

L'Irinotecan est utilisé dans le traitement de différents cancers (colon, rectum).

L'Irinotecan doit être dilué dans une poche à perfusion contenant du glucose à 5 % ou du chlorure de sodium à 0,9 % avant d'être administré à un patient. Il faut calculer la bonne dose à injecter dans la poche.

L'Irinotecan se présente dans un flacon à usage unique contenant 1mg/ml d'Irinotecan. Quatre flacons ayant des volumes différents sont commercialisés : 2 mL, 5 mL, 15 mL et 25 mL [13].

L'Irinotecan est mélangé avec les excipients suivants :

- D-Sorbitol
- (L+) acide lactique
- Hydroxyde de sodium
- Eau pour préparation injectable (EPPI)

La poche à perfusion n'étant, en règle générale, pas préparée dans des conditions strictes d'asepsie, il est recommandé de l'utiliser immédiatement après sa préparation afin d'éviter une contamination.

### 2.3.6. Étude de stabilité

Les données de stabilité sont issues du résumé des caractéristiques du produit (RCP) [13] et du site internet Stabilis qui regroupe les données concernant les médicaments. [26][32] Le Tableau 2-6 et le Tableau 2-7 récapitulent les données de stabilité trouvées dans la littérature. Aucune précision concernant les concentrations testées n'est donnée dans les RCP.

Tableau 2-6 - Données issues du RCP [13]

<b>Condition d'asepsie</b>	<b>Température</b>	<b>Délai d'utilisation</b>
Condition d'asepsie stricte	Réfrigérée	24 heures
	Ambiante	12 heures
Pas de condition d'asepsie	Réfrigérée	12 heures
	Ambiante	4 heures



Tableau 2-7 - Données de stabilité en fonction de différents paramètres [32]

Concentration	Diluant	Matière du contenant	Température / Humidité / Lumière	Durée
0,02 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	Verre	25 °C	1 heure
0,4 mg.mL <sup>-1</sup> 2,8 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PVC	2-8 °C, sans lumière 25 °C, sans lumière	28 jours
0,4 mg.mL <sup>-1</sup> 2,8 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	PP	2-8 °C 15-25 °C	84 jours

L'Irinotecan doit être utilisé le plus rapidement possible après la réalisation de sa dilution. Certaines études indiquent qu'il serait plus stable dilué dans du glucose 5% que dans du chlorure de sodium à 0,9 %; cela ne permet cependant pas de stocker la solution d'Irinotecan diluée plus que quelques heures [13].

## 2.4. Docetaxel

### 2.4.1. Connaissance générale

Selon l'Union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA ou *IUPAC* en anglais, *International Union of Pure and Applied Chemistry*), le nom du Docetaxel est le 1,7β,10β-trihydroxy-9-oxo-5β,20-epoxytax-11-ene-2α,4,13α-triyl-4-acetate-2-benzoate-13-  
{(2*R*,3*S*)-3-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-2-hydroxy-3-phenylpropanoate}.

Le Docetaxel appartient à la famille des taxanes, une classe de diterpène. La structure de base des taxanes est présentée à la Figure 2-10.

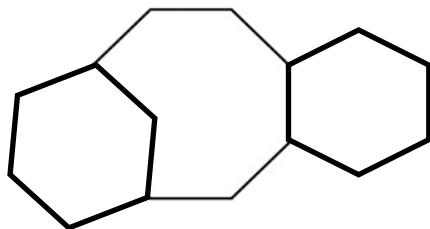


Figure 2-10 - Structure de base des taxanes

Le Docetaxel est commercialisé sous les noms Docefrez et Taxotere.

### 2.4.2. Structure

Le Docetaxel a une structure complexe contenant un hétérocycle, deux cycles aromatiques, deux cycles à six carbones et un cycle à huit carbones, représenté par la Figure 2-11.

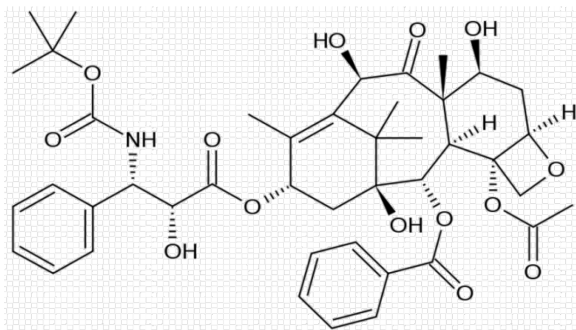


Figure 2-11 - Structure d'une molécule de Docetaxel [33]

Le Docetaxel possède cinq groupements ionisables encerclés dans la Figure 2-12. Chacun de ces groupes peut perdre un atome d'hydrogène. [11]

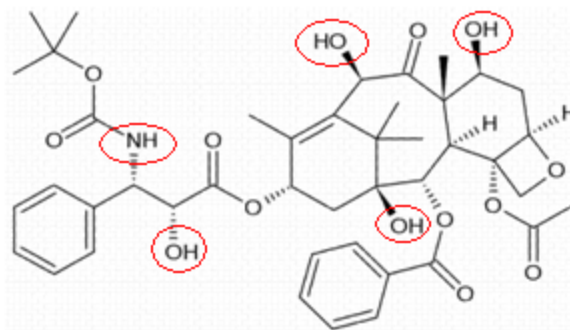
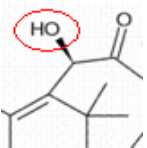
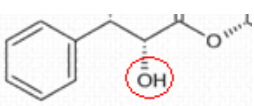
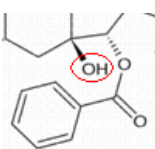
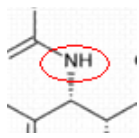
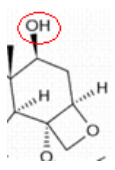


Figure 2-12 - Groupements ionisables du Docetaxel

Les constantes d'équilibre (pKa) pour chacun des groupes ionisables sont présentées dans le Tableau 2-8. Au pH physiologique, aucun de ces groupements ne s'ionisera.

Tableau 2-8 - Valeur de pKa et groupements ionisables du Docetaxel [16]

Groupements ionisables	Valeur de pKa
	10,58
	12,00
	13,43
	14,04
	14,86

Le Docetaxel est un analogue du Paclitaxel. La Figure 2-13 représente le Paclitaxel avec les différentes régions de la molécule qui ont une activité.

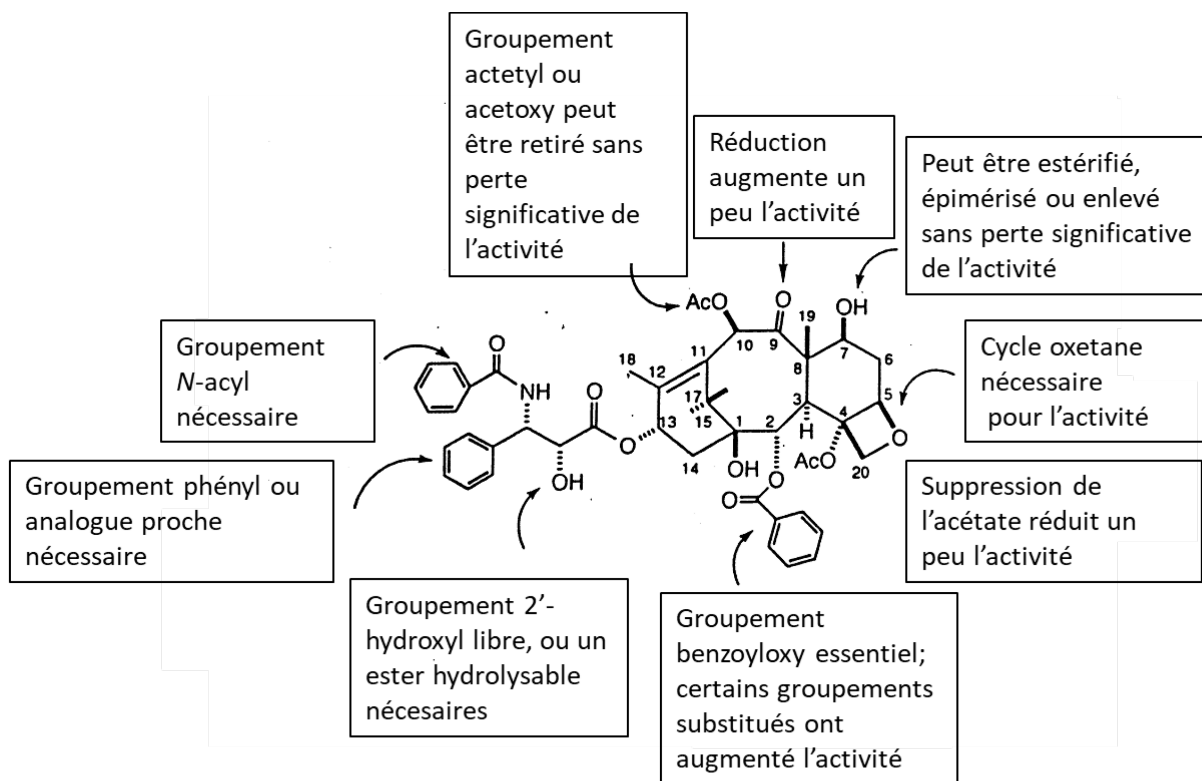


Figure 2-13 - Structure du Paclitaxel avec ses régions actives [34]

La Figure 2-14 met en évidence (cercles rouges) les différences entre la structure du Docetaxel et celle du Paclitaxel. On remarque que les groupes qui ont une importance pour l'activité de la molécule sont toujours présents.

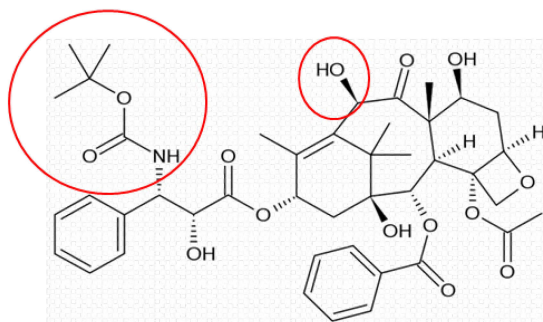


Figure 2-14 - Structure du Docetaxel avec ses différences par rapport au Paclitaxel

### 2.4.3. Mécanisme d'action

Le Docetaxel est un agent antinéoplasique qui favorise l'assemblage de la tubuline en microtubule stable en inhibant leur dépolymérisation. Cela diminue la quantité de tubuline libre dans la cellule. La tubuline et les microtubules jouent un rôle majeur lors de l'anaphase de la mitose. Ils permettent la bonne séparation des chromatides et leur migration vers les deux pôles de la cellule. Il est insoluble dans l'eau. L'inhibition de leur dépolymérisation empêche la migration des chromatides et donc la division cellulaire. [35]

### 2.4.4. Métabolisme et élimination

Le Docetaxel est métabolisé dans l'organisme par le cytochrome P450 en différents métabolites. Le cytochrome P450 agit sur la chaîne latérale de la molécule. Les différents métabolites sont présentés dans la Figure 2-15.

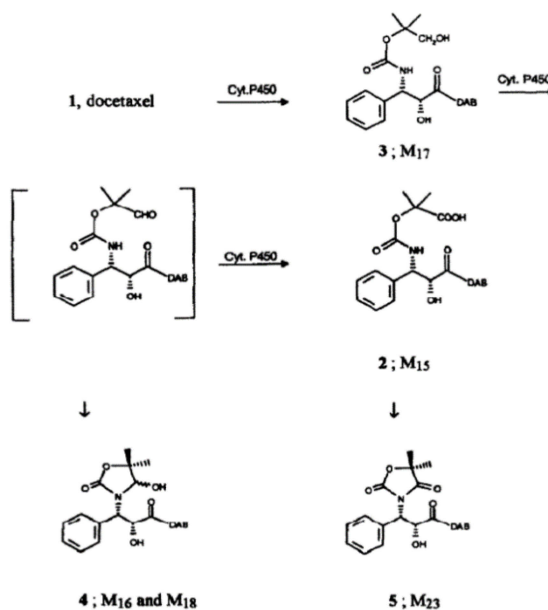


Figure 2-15 - Docetaxel et ses métabolites [36]

La méthode HPLC utilisée pour l'analyse de la concentration en Docetaxel permet de détecter certaines impuretés ou certains produits de dégradation. Si le produit n'est pas stable, il serait intéressant de pouvoir déterminer le chemin de dégradation du produit au cours du temps.

Le Docetaxel est éliminé par voies urinaires et fécales. L'action des cytochromes 3A (CYP3A4\*1B et CYP3A5\*1A) a été mise en évidence [37].

### 2.4.5. Utilisation

Le Docetaxel est utilisé dans le traitement de plusieurs types de cancers en monothérapie ou multithérapie. Il est utilisé dans le traitement des cancers du sein, du cancer métastatique à petites cellules du poumon et dans le cancer métastatique de la prostate.

Il doit être dilué dans une poche à perfusion contenant du glucose à 5 % ou du chlorure de sodium à 0,9 % avant d'être administré à un patient. Il est nécessaire de calculer la bonne dose à injecter dans la poche.

Le Docetaxel se présente dans un flacon à usage unique contenant 10 mg.mL<sup>-1</sup> de Docetaxel. Deux flacons ayant des volumes différents sont commercialisés : 2 mL, 8 mL [11].

Le Docetaxel est mélangé avec les excipients suivants :

- Polypropylène glycol
- Polysorbate 80-HX
- Éthanol
- Édétate disodique
- Acide citrique anhydre

Une fois le bon volume de Docetaxel ajouté dans la poche à perfusion, il faut l'homogénéiser et l'administrer au patient dans les plus brefs délais. La réalisation de ce type

---

de poche ne se fait que rarement en effet dans des conditions strictes d'asepsie; en administrant le produit immédiatement le risque de prolifération bactérienne ou microbienne dans la poche à perfusion est réduit.

#### 2.4.6. Étude de stabilité

Le pH est un facteur de stabilité important pour le Docetaxel. Lorsque les conditions sont fortement basiques ou fortement acides, il se dégrade. [21]

Des études ont montré que l'utilisation d'une poche en polychlorure de vinyle (PVC) peut entraîner le passage dans la solution de phtalate de di-2-ethylhexyl (DEHP), et ce, même après un laps de temps court (huit heures de stockage et une heure de perfusion) à des taux supérieurs à ceux autorisés, quel que soit le diluant choisi. [38][39]

Lors du choix du conditionnement primaire, il faudra exclure le PVC.

D'après le résumé des caractéristiques du produit, la stabilité du Docetaxel en solution finale est de 4 heures lorsqu'il est stocké entre 2 °C et 25 °C. Il est nécessaire de l'utiliser dans ce laps de temps (incluant une heure de perfusion à température ambiante) que le diluant soit du chlorure de sodium à 0.9 % ou du glucose à 5 %. Aucune précision concernant les concentrations testées n'est donnée dans les RCP. [11]

Le site internet Stabilis compile un ensemble de données concernant une grande variété de médicaments. Le Tableau 2-10 et le Tableau 2-9 regroupent les données de stabilité trouvées dans la littérature en fonction des paramètres étudiés. [40][41]

---

Tableau 2-9 - Données issues du site internet Stabilis [40]

Concentration	Diluant	Matière du contenant	Température / Lumière	Durée
0,3 mg.mL <sup>-1</sup> 0,9 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	Verre	25 °C, sans lumière	28 jours
0,9 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PP	2 à 8 °C	7 jours
0,9 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PP	25 °C	24 heures
0,3 mg.mL <sup>-1</sup> 0,9 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 %	PP	25 °C, sans lumière	28 jours
0,3 mg.mL <sup>-1</sup> 0,9 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PE	25 °C, sans lumière	28 jours
0,8 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PE	5 °C, sans lumière	7 jours
0,74 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PE	23 °C, sans lumière	8 heures
0,74 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	PE	6 °C, sans lumière	48 heures
<0,74 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	Polyoléfine (POF)	2 à 8 °C	48 heures
<0,74 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	POF	25 °C	6 heures
0,24 à 1 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	POF	20 °C, à la lumière 5 °C	28 jours
0,3 mg.mL <sup>-1</sup> 0,7 mg.mL <sup>-1</sup>	DW 5 % NaCl 0,9 %	POF	2 à 8 °C, sans lumière 25 °C, sans lumière	56 jours
0,4 mg.mL <sup>-1</sup> 0,8 mg.mL <sup>-1</sup>	NaCl 0,9 %	POF	23 °C, à la lumière	35 jours



Tableau 2-10 - Données de stabilité en fonction de différents paramètres

Concentration	Diluant	Matière du contenant	Température	Lumière	Durée
0,3 mg/mL	DW 5 % NaCl 0,9 %	- Verre - PE - PP	Température ambiante 25 °C	Sans lumière	28 jours
0,74 mg/mL	DW 5 % NaCl 0,9 %	POF (Polyoléfine VISIV)	Température ambiante 25 °C	Avec lumière	24 heures
0,9 mg/mL	DW 5 % NaCl 0,9 %	- Verre - PE - PP	Température ambiante 25 °C	Sans lumière	28 jours

Le Docetaxel est insoluble dans l'eau, mais le véhicule utilisé pour les solutions injectables est un véhicule aqueux. La principale difficulté pour obtenir un médicament prêt à être administré sera de maintenir le principe actif en solution ou en émulsion pour une période longue (un an) dans le diluant aqueux (glucose ou chlorure de sodium).

Le risque de déphasage ou de précipitation est important et il faudra s'assurer que, par simple homogénéisation manuelle, le produit retrouve la forme souhaitée.

## 2.5. Évolution des traitements

Il existe différents types de traitements efficaces contre le cancer. Fréquemment, une combinaison de plusieurs traitements est proposée en fonction des besoins du patient. Les traitements sont continuellement adaptés en fonction de la réponse du patient. Cette réponse est évaluée par des examens médicaux tels que prises de sang, scanner ou IRM.

La chimiothérapie est un traitement médicamenteux qui va agir dans tout l'organisme, il est dit systémique. Des médicaments destinés à éliminer les cellules en développement rapide sont administrés au patient. La chimiothérapie est utilisée pour traiter un grand nombre

de cancers. Il existe une grande variété de médicaments anti-cancer ayant des modes de fonctionnement, des indications, des contre-indications et des effets secondaires différents. Il est fréquent que le traitement par chimiothérapie soit composé d'un mélange de plusieurs médicaments. [42]

D'autres traitements existent tels qu'entre autres : la radiothérapie [43], l'hormonothérapie [44], l'immunothérapie [45], les traitements chirurgicaux [46], la thérapie ciblée [47] et les thérapies cellulaires [48].

## 2.6. Les préparations hospitalières

Les préparations hospitalières sont des médicaments réalisés à l'avance et en petite série si la spécialité pharmaceutique n'est pas disponible. Elles sont dispensées sur prescription médicale. [49] [50]

Les bonnes pratiques de fabrication (BPF) recommandent, lorsque cela est possible, de réaliser les préparations injectables à partir de spécialités pharmaceutiques qui sont sous forme injectable également [11]. Seuls les excipients qui sont inscrits à la pharmacopée sont autorisés.

En réponse à la demande réglementaire, mais également pour satisfaire des questions logistiques, les préparations de chimiothérapie peuvent être faites dans des unités centralisées (États-Unis, France).[1]–[3]

## 2.7. Risques associés

Afin de recevoir leurs traitements, les patients doivent habituellement se rendre à l'hôpital. Les durées de stabilité des produits étant courtes, le médicament n'est préparé qu'à l'arrivée du patient ou dans certains cas le patient se rend à l'hôpital la veille du jour de son traitement pour que les mesures soient prises et que le produit soit préparé la veille. [7]

---

Pour le patient, outre la perte de temps due à l'attente de son traitement, d'autres risques sont associés à ce mode de préparation. Les préparations étant réalisées de façon manuelle, des erreurs de dosage peuvent survenir. Les médicaments anticancéreux doivent être préparés sous des hottes à flux laminaire dans des conditions limitant le risque de contamination du produit par l'environnement.

Les préparations hospitalières stériles sont soumises à des règles comme celle de la Pharmacopée américaine, USP 797 *Pharmaceutical Compounding—Sterile Preparations* [11]; les préparations y sont réparties en fonction de leur niveau de risque. Les préparations pour lesquelles au maximum deux produits sont introduits dans une poche à perfusion sont considérées à faible risque [54], [55]. Les manipulations doivent se faire dans un environnement ISO de classe 5. Cependant, aucun test n'est réalisé sur les produits afin de s'assurer de leur stérilité et de la teneur en principe actif avant l'injection aux patients.

Les produits fabriqués par l'industrie pharmaceutique sont également soumis à des règles de préparation comme celles de la *Food and Drug Administration* (FDA) intitulée *Guidance for Industry, Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing — Current Good Manufacturing Practice* [53]. En plus de la fabrication des produits dans des conditions strictes d'asepsie, les produits doivent être testés avant d'être libérés et mis sur le marché. Les tests de stérilité réalisés suivent les recommandations des agences de santé des territoires où les produits sont distribués, par exemple aux États-Unis selon la Pharmacopée américaine, USP 71 *Sterility tests* [54].

Lors de la manipulation des produits, le personnel de soin peut se retrouver en contact avec les produits médicamenteux [55][56].

---

## 2.8. Standardisation des doses

### 2.8.1. Définition

Pour les médicaments utilisés dans les traitements de chimiothérapie, la concentration à administrer au patient est calculée en fonction de son indice de surface corporelle. Le traitement reçu est personnalisé pour chaque patient et peut varier d'une séance à l'autre. Afin d'éviter de perdre du produit ou de devoir refaire la préparation, les solutions sont, en général, préparées une fois que le patient est à l'hôpital. Cela entraîne une forte demande de préparation le matin, donc un surplus d'activité pour le personnel de soin et une attente pour le patient entre son arrivée dans le centre de soins et le début réel de son traitement.

Des études ont montré que pour un intervalle de 10 % autour de la dose calculée grâce à l'indice de surface corporelle, l'influence de la concentration n'a pas d'impact sur le patient par rapport à la dose initiale. [57]

Le principe de la standardisation des doses repose sur ces études. En effet, si aucun impact (positif ou négatif) ne provient d'un ajustement personnalisé de la dose par rapport à une dose proche prédéfinie, autant avoir des doses standards pouvant être préparées avant l'arrivée des patients. Cela permet de mieux organiser le travail du personnel de soin et d'éviter une attente supplémentaire au patient. De plus, comme les doses sont standards, si un patient ne se présente pas, le produit qui lui était destiné peut être administré à un autre patient, ce qui évite des pertes de produits et, partant, constitue un gain pour le centre de soins.

D'après le *Guidelines of the dose banding of cancer chemotherapy* [58], la standardisation des doses peut être définie comme suit :

*« Dose banding is a system whereby, through agreement with pharmacy and prescribers, calculated doses of intravenous cytotoxic drugs are rounded up or down to predetermined standard doses. The maximum variation of the adjustment between the prescribed dose and the banded dose issued to the patient will not be more than 5%. A range of pre-filled syringes or infusions, manufactured by pharmacy staff or purchased from commercial sources can then be used to administer the standard dose. »*

---

Un nombre de doses est prédéfini à l'avance afin que la dose calculée en utilisant l'indice de surface corporelle ne présente pas de différence de plus de 5 % avec la dose prédéfinie. [57] La Figure 2-16 représente schématiquement l'intervalle de 5 % autour de la dose cible.

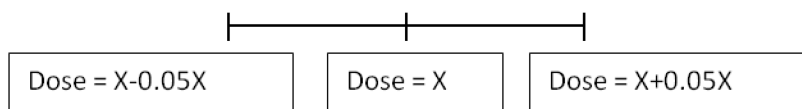


Figure 2-16 - Représentation d'un intervalle pour la standardisation des doses

La sélection de la dose à administrer se fait suivant les étapes suivantes :

- Calcul de la surface corporelle du patient
- Détermination de la dose à administrer
- Vérification de l'intervalle auquel appartient la dose à administrer
- Préparation de la dose médiane de l'intervalle correspondant pour administration au patient

Pour illustrer, voici un exemple fictif :

- Un patient doit recevoir une dose de Docetaxel de  $100 \text{ mg.m}^{-2}$
- Sa surface corporelle est de  $1,82 \text{ m}^2$
- Il faut donc lui administrer :  $100 * 1,82 = 182 \text{ mg}$  de Docetaxel
- On regarde dans le Tableau 2-11 des doses prédéfinies à quel intervalle correspond la dose calculée

Tableau 2-11 - Intervalles et doses associées pour la standardisation des doses [43]

Limite inférieure	Limite supérieure	Dose à administrer
148	165	156
165	185	175
185	207	195

- La dose à administrer sera de 175 mg.

L'utilisation de la standardisation des doses apporterait à la pharmacie d'hôpital la possibilité de prévoir les doses à l'avance. Le temps de préparation doit tout de même rester proche de celui de l'administration au vu des données de stabilité des produits contenues dans le résumé des caractéristiques des produits (RCP).

### 2.8.2. Formules de calcul de la surface corporelle

Il existe plusieurs formules permettant de calculer la surface corporelle d'un individu. Les principales formules sont présentées dans le Tableau 2-12. Dans les formules suivantes, la taille utilisée est en centimètre et le poids en kilogramme. La colonne « Intervalle » représente les valeurs minimum et maximum obtenues pour des individus dont l'indice de masse corporelle les classe entre « Normal » et « Obèse ». La dernière colonne donne les valeurs moyennes pour un individu dit « Normal » selon l'indice de masse corporelle.

---

Tableau 2-12 - Calcul de l'indice de surface corporelle [62]

		Formule	Intervalle		Valeur moyenne pour un individu dont l'IMC est normal
			Min	Max	
<b>Poids (kg)</b>			44	196	69 ± 10
<b>Taille (cm)</b>			139	200	172 ± 10
<b>IMC (kg.m<sup>-2</sup>)</b>		$\frac{\text{Poids}}{\text{Taille (en m)}^2}$	16	75	23 ± 1
<b>ISC (m<sup>2</sup>)</b>	<b>Mosteller</b>	$\sqrt{\frac{\text{Poids} \times \text{Taille}}{3600}}$	1,34	3,10	1,81 ± 0,19
	<b>DuBois-DuBois</b>	$0,00718 \times \text{Taille}^{0,725} \times \text{Poids}^{0,425}$	1,34	2,94	1,81 ± 0,19
	<b>Boyd</b>	$0,0178 \times \text{Taille}^{0,5} \times \text{Poids}^{0,484}$	1,35	3,05	1,81 ± 0,18
	<b>Gehan and George</b>	$0,0235 \times \text{Taille}^{0,42246} \times \text{Poids}^{0,51456}$	1,36	3,14	1,83 ± 0,19
	<b>EPA</b>	$0,0239 \times \text{Taille}^{0,417} \times \text{Poids}^{0,517}$	1,36	3,14	1,82 ± 0,19
	<b>Haycock et al</b>	$0,024265 \times \text{Taille}^{0,3964} \times \text{Poids}^{0,5378}$	1,35	3,19	1,82 ± 0,19
	<b>Mattar</b>	$\frac{(\text{Taille} + \text{Poids} - 60)}{100}$	1,32	3,12	1,81 ± 0,19
	<b>Livingston and Scott</b>	$0,1173 \times \text{Poids}^{0,6466}$	1,36	3,56	1,81 ± 0,18
	<b>Yu et al</b>	$0,015925 \times (\text{Taille} \times \text{Poids})^{0,5}$	1,28	2,96	1,74 ± 0,16

La surface corporelle doit être multipliée par la dose en m<sup>2</sup> prescrite afin d'obtenir la quantité totale de médicaments à administrer.

Pour produire des formes prêtes à être administrées, il faudra prendre en compte la répartition des surfaces corporelles dans la population en plus de la tolérance veineuse, de la concentration et du temps d'administration.

## 2.9. Marché cible

Chaque pays possède sa propre réglementation concernant la distribution et l'utilisation des médicaments sur son territoire. La modification d'un produit existant entraîne des modifications en matière réglementaire.

Concernant ce projet, trois pays ayant des réglementations différentes afin d'obtenir un résultat acceptable par plusieurs autorités de santé ont été étudiés.

L'autorité réglementaire des États-Unis est la *Food and Drug Administration (FDA)*, celle du Canada est Santé Canada et celle du Royaume-Uni est le *National Health Service (NHS)*.

Le Royaume-Uni est pour le moment le seul parmi les trois pays cités à autoriser la standardisation des doses sur son territoire [57]. Pour les deux autres pays, ce sujet est en discussion.

## 2.10. Catégories des produits extravasants

Selon le *Guidelines on treatment of extravasation with cytotoxic drugs* [59] [60], la Doxorubicine, l'Épirubicine, le Docetaxel et l'Irinotecan sont des produits pouvant produire une extravasation. Cela signifie que le produit peut passer du sang vers les tissus environnants de façon anormale. D'après ce document, les produits extravasants peuvent être différenciés en cinq catégories :

---



- Vésicant : produit qui peut causer des douleurs, une inflammation, un gonflement et des dommages irréversibles des tissus (nécrose, perte de la fonction des membres inférieurs et de la mobilité)
- Exfoliant : produit capable de causer des inflammations et une mue, mais qui cause moins de dommages aux tissus que le précédent
- Irritant : produit causant de la douleur et une inflammation au niveau du site d'administration ou le long de la veine, mais dont il ne résulte que rarement des dommages irréversibles aux tissus
- Inflammatoire : produit causant des inflammations faibles à modérées
- Neutre : produit inerte ou neutre qui ne cause aucune inflammation ou aucun dommage.

La Doxorubicine et l'Épirubicine sont considérées comme des produits vésicants, le Docetaxel est considéré comme un produit exfoliant et l'Irinotecan comme un produit irritant. Même s'ils appartiennent à des catégories différentes ces produits sont tous extravasants; il faut donc les diluer avant de les injecter. Il est d'ailleurs conseillé de les injecter sous forme de perfusion (ou dans un Y lors d'une perfusion) au lieu d'injection en bolus.

Le Docetaxel et l'Irinotecan sont dilués à l'avance dans des poches à perfusion contenant du NaCl 0,9 % ou du glucose 5 %, car ils ne peuvent être administrés sous leur forme concentrée aux patients du fait de leur risque extravasant. En connaissant la stabilité à long terme de ces produits dans leur diluant, différents modes de conditionnement pourront être envisagés afin de garantir la stérilité des traitements sous leur forme diluée.

La Doxorubicine et l'Épirubicine sont injectées dans la tubulure de la perfusion du patient. Il faut donc que les seringues soient préparées à l'avance par le personnel de soin. L'injection du produit dans la tubulure doit se faire assez lentement pour éviter les risques d'extravasation du produit au site d'injection. Connaître la stabilité de ces produits dans leur diluant permettrait d'obtenir des préparations qui pourraient être administrées par perfusion.

---

Le produit serait plus dilué au moment de l'administration, ce qui limiterait les risques d'extravasation associés à l'administration.

Une connaissance de la stabilité à long terme de ces différents produits dans leurs solutions d'administration est un avantage pour leur préparation. Le fait de préparer les produits à l'avance réduit le nombre de manipulations par le personnel de soin, ce qui augmente la sécurité. Il en résulte également un gain de temps pour les patients, qui n'ont plus à attendre la préparation de leur médicament, et pour le personnel hospitalier, qui a moins de contraintes d'organisation de son temps de travail.

---

---

## CHAPITRE 3. MÉTHODOLOGIE

### 3.1. Paramètres et méthodes d'analyse des études de stabilité

Pour les études de stabilité, des paramètres à étudier ont été déterminés. Ils sont présentés dans le tableau 3-1. Il a été décidé de se concentrer sur plusieurs éléments qui peuvent avoir un impact sur la stabilité du produit. Il a été choisi d'étudier la plus faible concentration administrable à un patient pour chacun des produits. Pour l'Épirubicine et l'Irinotecan qui sont les produits testés en premier, une seule température a été étudiée. Pour les deux autres produits, il a été décidé d'étudier également une seconde température (de 25°C), car cela faciliterait l'entreposage des solutions à l'hôpital. Les deux diluants étudiés correspondent à ceux qui sont utilisés pour l'administration de ces produits. Enfin, le contenant choisi correspond à celui dans lequel le produit concentré est actuellement conditionné. Pour certains produits qui peuvent être sensibles à la lumière, il a été décidé de tester deux types de contenants des claires et des ambrés.

Tableau 3-1 - Paramètres étudiés pour les différentes études de stabilité

Paramètres	Épirubicine	Irinotecan	Docetaxel	Doxorubicine
Concentration étudiée	0,04 mg.mL <sup>-1</sup>	0,12 mg.mL <sup>-1</sup>	0,015 mg.mL <sup>-1</sup>	0,04 mg.mL <sup>-1</sup>
Température	5 °C		• 5 °C • 25 °C	
Diluants	• NaCl 0,9 % • Glucose 5 %			
Contenants	Bouteille en polypropylène claire	• Bouteille en polypropylène claire • Bouteille en polypropylène ambrée		

Les tests réalisés afin de déterminer la stabilité des produits sont inspirés de ceux qui sont effectués sur le site lors de la libération des lots des produits. Ces tests sont basés sur ceux requis par les exigences réglementaires.

Différents éléments sont étudiés :

- La concentration en principe actif

- Le pH
- L'apparence de la solution
- Le nombre de particules en suspension dans le produit

Des spécifications sont établies pour chacun de ces éléments. Elles sont présentées dans le tableau 3-2.

Tableau 3-2 - Spécifications des éléments étudiés lors des études de stabilité

Tests	Solution étudiée
<b>Quantification du principe actif</b>	Pas plus de 10% de variation par rapport à la concentration initiale
<b>pH</b>	À mesurer
<b>Apparence</b>	Pas de changement par rapport à la solution initiale
<b>Nombre de particules en suspension</b>  ≥ 10µm ≥ 25µm	Pas plus de 6 000 particules par contenant  Pas plus de 600 particules par contenant

### 3.1.1. Méthodes utilisées pour les études de stabilité

Les méthodes d'analyse utilisées pour les études de stabilité de l'Irinotecan, de l'Épirubicine et du Docetaxel, ont été développées en interne dans l'entreprise en utilisant comme références différentes pharmacopées (américaine [61], européenne [62], britannique [63] et japonaise [64]). Les différentes pharmacopées utilisées pour chaque test sont présentées dans le tableau 3-3.

Tableau 3-3 - Méthodes de référence pour les différents tests réalisés

	<b>Pharmacopée américaine (USP)</b>	<b>Pharmacopée britannique</b>	<b>Pharmacopée européenne</b>	<b>Pharmacopée japonaise</b>
<b>Quantification du principe actif</b>	Non	Non	Oui	Non
<b>pH</b>	Oui	Oui	Oui	Oui
<b>Apparence</b>	Non	Non	Non	Oui
<b>Compte de particules</b>	Oui	Oui	Oui	Oui

La quantification de la teneur en principe actif se fait par une méthode HPLC couplée à un détecteur UV.

La mesure du pH se fait à l'aide d'un pH-mètre.

Le compte de particules se fait à l'aide d'un compteur de particules qui utilise la diffraction laser.

Ces analyses sont réalisées à différents intervalles de temps présentés dans le tableau 3-4. Les temps choisis sont basés sur les recommandations de la FDA en fonction de la durée d'entreposage souhaitée [65].

Tableau 3-4 - Temps d'analyse pour chacun des produits

<b>Produits</b>	<b>Temps d'analyse</b>
<b>Irinotecan</b>	0, 1, 3, 6, 9, 12, 18 et 28 mois
<b>Épirubicine</b>	0, 1, 3, 6, 9, 12, 18 et 24 mois
<b>Docetaxel</b>	0, 7, 14, 30, 45, 60, 75 et 90 jours puis à 6, 9 et 12 mois
<b>Doxorubicine</b>	7, 14, 30, 45, 60, 75 et 90 jours puis à 6, 9 et 12 mois

### 3.1.2. Méthode HPLC développée pour la Doxorubicine

Selon la ligne directrice de la FDA intitulée *Guidance for Industry Analytical Procedures and Methods Validation* [66], une méthode analytique indicatrice de la stabilité est définie comme une procédure analytique validée qui permet la mesure précise et sûre des substances actives sans la présence des impuretés issues du procédé, des excipients et des produits de dégradation. L'objectif principal d'une méthode indicatrice de la stabilité est de suivre les résultats tout au long du temps pour garantir la sûreté, l'efficacité et la qualité du produit. Cette méthode est également un outil puissant pour la détermination des valeurs hors des spécifications (*out-of-trend*). [67]

Une méthode indicatrice de la stabilité doit permettre de déterminer la quantité de produits présente dans des échantillons. Elle doit être spécifique au produit et permettre également de quantifier les impuretés ou les produits de dégradation apparaissant lors de l'entreposage.

Les tests de dégradation forcée permettent de déterminer quels seront les éléments de dégradation qui apparaîtront en fonction des paramètres de stockage.

« Les résultats des tests sous contraintes fournissent des renseignements sur la stabilité intrinsèque de la substance pharmaceutique, les chemins possibles de dégradation, les produits éventuels de dégradation et la stabilité de l'activité déterminés à l'aide des procédures analytiques utilisées. Les tests sous contraintes sont normalement menés sur au moins un lot de la substance pharmaceutique et portent sur les effets de la chaleur, de l'humidité, de la lumière, de l'oxydation et de l'hydrolyse acide-base. Les données, les conditions de traitement et les résultats quantitatifs, qui s'appliquent en général aux essais et aux produits de dégradation, doivent être présentés dans des tableaux. » [68]

Les études de dégradation forcée se font en général de la façon suivante. On dissout ou dilue le produit à tester dans quatre différents diluants : de l'eau, du peroxyde, un milieu basique (en général de l'hydroxyde de sodium, NaOH, à 0.1 molaire) et un milieu acide (en général de l'acide chlorhydrique, HCl à 0.1 molaire). Ces solutions sont ensuite placées à une température de 60 °C pendant 3 heures. On teste les quatre échantillons par la même méthode

---

analytique indicatrice de stabilité que pour l'étude de stabilité. Il faut qu'il y ait au moins un des produits qui soit dégradé à plus de 10%, sinon on peut remettre les produits à 60 °C pendant plus longtemps.

Ces tests sont utiles pour déterminer quelles devront être les conditions de stockage du produit fini mais également des produits intermédiaires lors du procédé de fabrication.

L'équipement utilisé est une HPLC de la marque Shimadzu, la Figure 3-1 représente l'équipement utilisé.



Figure 3-1 - HPLC Shimadzu

Tout d'abord, il a fallu développer une méthode spécifique permettant de séparer le pic de la Doxorubicine et ceux des impuretés pouvant être présentes dans la solution ainsi que des produits de dégradation pouvant apparaître. La méthode HPLC développée est une méthode isocratique couplée à un détecteur UV. La colonne utilisée est une colonne Zorbax Eclipse XDB-C8, 5  $\mu\text{m}$ , 25 cm x 4.6 mm. Les paramètres de la méthode HPLC sont présentés dans le tableau 3-5.

Tableau 3-5 - Paramètres de l'analyse HPLC

<b>PDA longueur d'onde (nm)</b>	254
<b>Phases mobiles</b>	A:B 60:40 A : solution aqueuse avec 0,01 % de dodécylsulfate de sodium (SDS), pH ajusté à 2 B : mélange Acétonitrile:Méthanol (70:30 v/v)
<b>Temps d'analyse (min)</b>	40
<b>Débit (mL/min)</b>	1,0
<b>Température de la colonne (°C)</b>	40
<b>Température de l'échantillon (°C)</b>	5
<b>Volume d'injection (µL)</b>	10

La méthode développée a répondu aux exigences de la méthode indicatrice de stabilité selon *l'International Conference on Harmonization (ICH)*.

La spécificité de la méthode a été démontrée en analysant par HPLC différentes solutions contenant soit le produit fini (PF) soit le principe actif (PA) dans trois différents diluants (NaCl 0,9 %, glucose 5 % et dans la phase mobile A).

Les chromatogrammes présentés dans la Figure 3-2 correspondent aux résultats de l'analyse HPLC pour chaque solution.



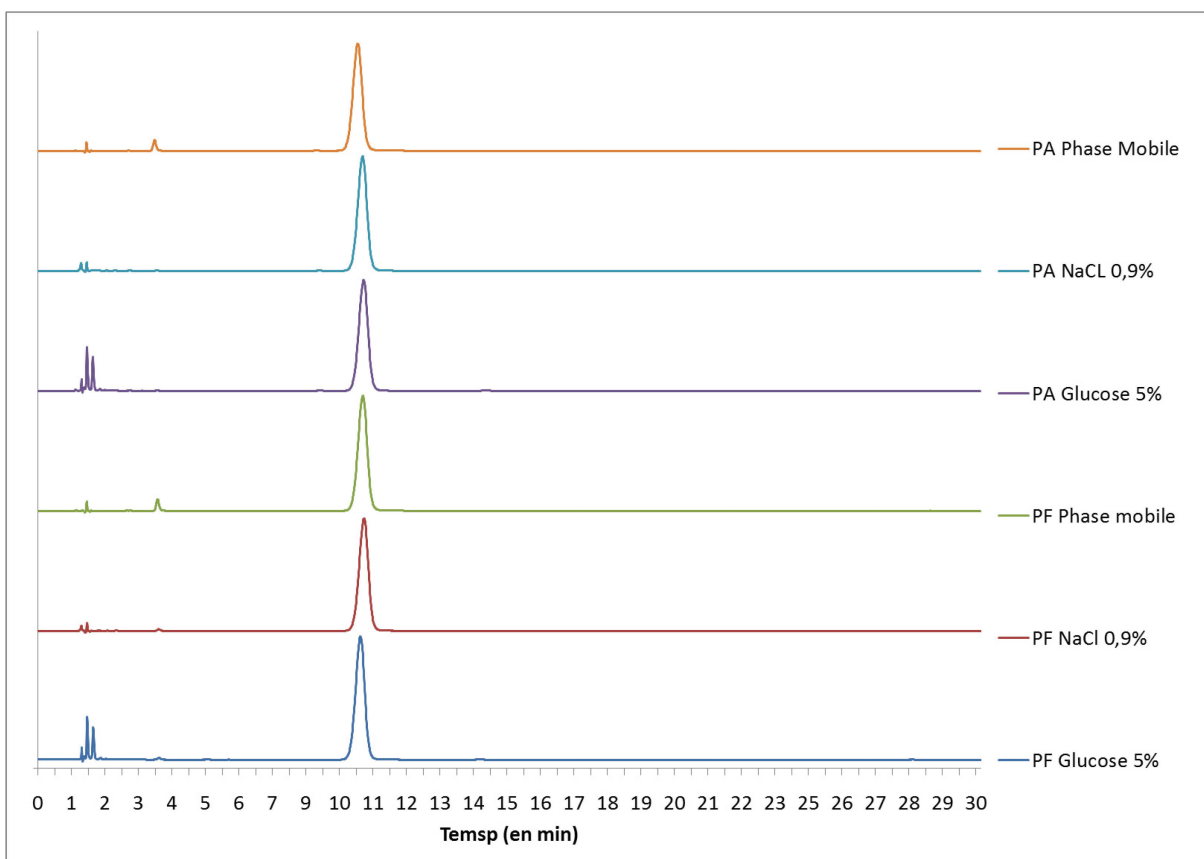


Figure 3-2 - Chromatogramme des différentes solutions de Doxorubicine

Le pic correspondant à la Doxorubicine est présent au même temps sur tous les chromatogrammes. Aucun autre pic n'apparaît proche de celui d'intérêt, quel que soit le diluant utilisé.

Lorsque le produit est fabriqué par l'entreprise avant de pouvoir être mis sur le marché, chaque lot doit passer plusieurs tests. La teneur en principe actif est testée ainsi que la présence d'impuretés. Pour vérifier si des impuretés sont présentes, une solution de résolution contenant les principales impuretés est également injectée. La méthode analytique utilisée étant différente de celle utilisée sur le site de production du produit, cette solution de résolution a également été injectée pour s'assurer que les impuretés n'étaient pas retenues de

la même façon que le principe actif. Les différents chromatogrammes sont présentés dans la Figure 3-3.

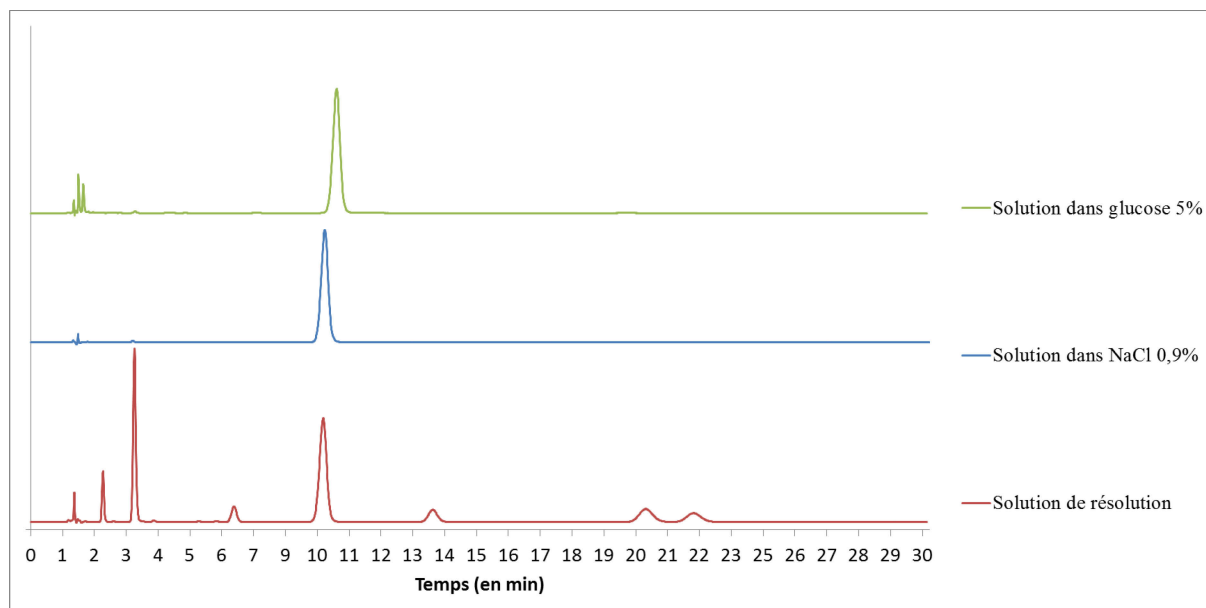


Figure 3-3 - Chromatogrammes permettant de déterminer la spécificité de la méthode

Les impuretés connues et présentes dans la solution de résolution apparaissent à des temps différents de celui de la Doxorubicine sur le chromatogramme. Les pics ne se confondent pas et il y a une bonne séparation entre chaque pic. La méthode d'analyse HPLC est bien spécifique au produit.

La concentration de l'étude de stabilité est de  $0,04 \text{ mg.mL}^{-1}$ . Une courbe de calibration a été injectée afin de s'assurer de la linéarité de la réponse dans la région d'étude visée. Une solution mère a été préparée avec chaque diluant. Différentes dilutions de cette solution mère ont permis de préparer la courbe de calibration. Afin de s'assurer que la réponse est linéaire, les concentrations de la courbe de calibration doivent comprendre les différentes concentrations possibles de la solution. Les concentrations choisies pour réaliser les courbes de calibrations sont présentées dans le tableau 3-6. Les courbes de calibrations obtenues sont présentées dans la figure 3-4 pour les solutions préparées avec du NaCl 0,9 % et dans la figure 3-5 pour celles préparées avec du glucose 5 %.

Tableau 3-6 - Concentration de la courbe de calibration

Pourcentage de la concentration cible (en %)	20	40	60	80	100	120
Concentration de la solution (mg.mL <sup>-1</sup> )	0.008	0.016	0.024	0.032	0.040	0.048

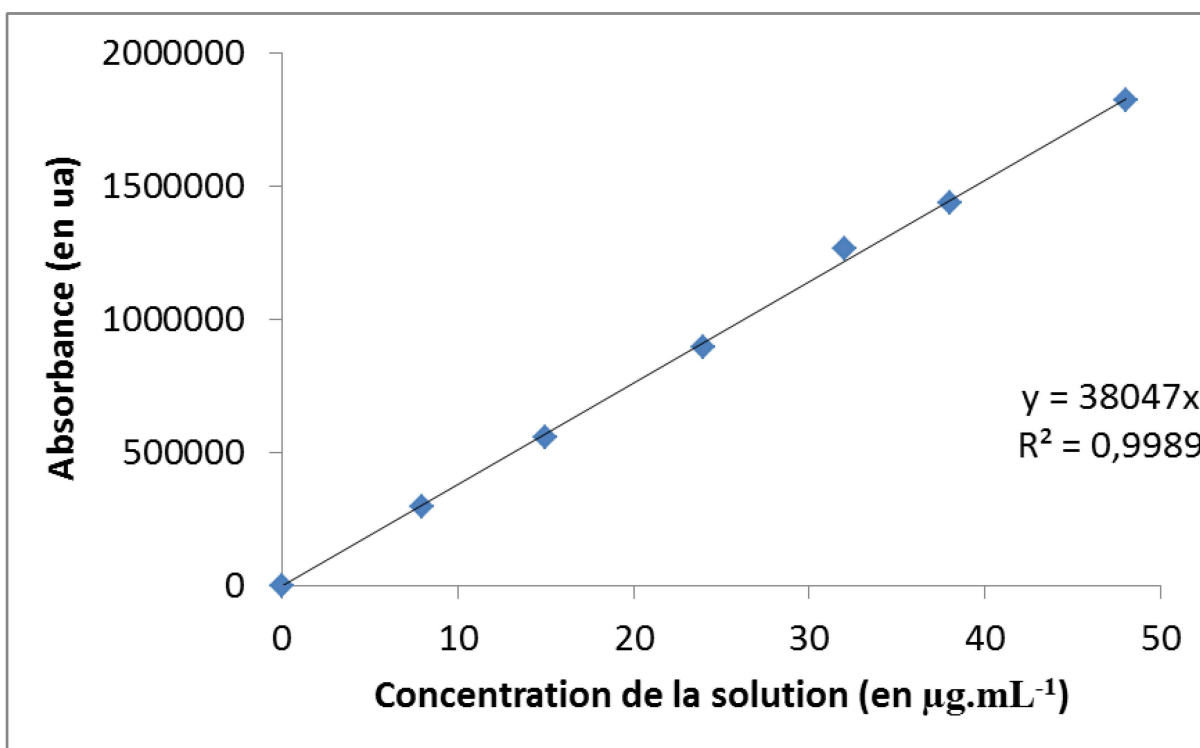


Figure 3-4 - Courbe de calibration de la solution de Doxorubicine préparée avec le NaCl 0,9 %

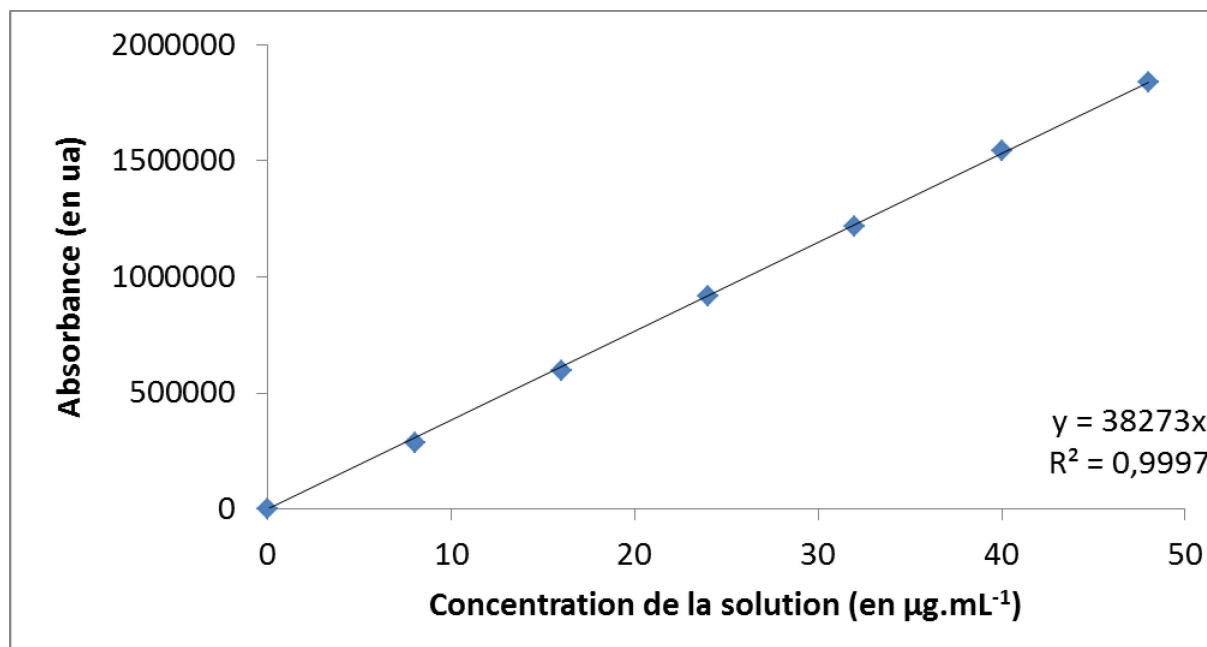


Figure 3-5 - Courbe de calibration de la solution de Doxorubicine préparée avec du glucose 5 %

Les deux graphiques précédents nous permettent de nous assurer de la linéarité de la réponse pour les solutions dans les deux diluants. Les coefficients de détermination des deux courbes sont proches de 1 (0,9989 pour la courbe de calibration préparée avec du NaCl 0,9 % et 0,9997 pour celle préparée avec du glucose 5 %), ce qui indique que l'équation de la droite permet de déterminer correctement la distribution des points.

Pour s'assurer que la méthode est fiable, des tests de reproductibilité et de répétabilité ont également été réalisés.

Pour savoir si la méthode est répétable, la même solution a été injectée plusieurs fois dans la même journée. Les résultats sont présentés dans le tableau 3-7 pour des solutions préparées dans le NaCl 0,9 % et dans le tableau 3-8 pour celles préparées dans le glucose 5 %. La variation intrajour est calculée selon l'équation 3.1.

$$Variation = \frac{1}{n} \sum |x - \bar{x}| \quad (3.1)$$

Avec ;

$n$  : le nombre d'éléments dans l'échantillon

$x$  : la valeur de la donnée

$\bar{x}$  : la moyenne des valeurs de l'échantillon

**Tableau 3-7 - Résultats des tests de répétabilité de la méthode pour les solutions préparées dans le NaCl 0,9%**

	<b>Aire sous la courbe</b>	<b>Concentration (mg.mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>% de la concentration initiale</b>
<b>NaCl 1</b>	1 509 574	39,26	98,2
<b>NaCl 2</b>	1 518 132	39,49	98,7
<b>NaCl 3</b>	1 535 409	39,94	99,8
<b>NaCl 4</b>	1 524 576	39,65	99,1
<b>NaCl 5</b>	1 524 554	39,65	99,1
<b>NaCl 6</b>	1 540 224	40,06	100,2

La variation intrajour est de 0,54 %.

**Tableau 3-8 - Résultats des tests de répétabilité de la méthode pour les solutions préparées dans le glucose 5 %**

	<b>Aire sous la courbe</b>	<b>Concentration (mg.mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>% de la concentration initiale</b>
<b>Glucose 1</b>	1 465 959	38,28	95,7
<b>Glucose 2</b>	1 478 721	38,61	96,5
<b>Glucose 3</b>	1 475 522	38,53	96,3
<b>Glucose 4</b>	1 477 684	38,58	96,5
<b>Glucose 5</b>	1 473 656	38,48	96,2
<b>Glucose 6</b>	1 489 208	38,88	97,2

La variation intrajour est de 0,47 %.

Pour savoir si la méthode est reproductible, la même solution est injectée à des jours différents. Entre temps, la solution est congelée afin d'éviter toute dégradation du produit entre les jours d'analyse. Les solutions ont été analysées à des intervalles de trois jours. Les résultats des tests de reproductibilité des solutions préparées avec du NaCl 0,9 % sont présentés dans le tableau 3-9 et celles préparées avec du glucose 5 % dans le tableau 3-10. La variation interjour se calcule avec l'équation 3.1.

Tableau 3-9 - Résultats des tests de reproductibilité de la méthode pour les solutions préparées dans le NaCl 0,9%

	<b>Aire sous la courbe</b>	<b>Concentration (mg.mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>% de la concentration initiale</b>
<b>NaCl 1</b>	1 488 653	38,72	96,8
<b>NaCl 2</b>	1 483 495	38,59	96,5
<b>NaCl 3</b>	1 482 770	38,57	96,4

La variation interjour est de 0,16 %.

Tableau 3-10 - Résultats des tests de reproductibilité de la méthode pour les solutions préparées dans le glucose 5 %

	<b>Aire sous la courbe</b>	<b>Concentration (mg.mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>% de la concentration initiale</b>
<b>Glucose 1</b>	1 513 983	39,53	98,8
<b>Glucose 2</b>	1 517 927	39,63	99,1
<b>Glucose 3</b>	1 511 138	39,46	98,6

La variation interjour est de 0,18 %.

Les variations inter- et intrajour sont faibles (proches de zéro), ce qui prouve que la méthode est robuste.

Des tests de dégradation forcée ont également été réalisés pour s'assurer qu'aucun produit de dégradation ne serait retenu de la même façon que la Doxorubicine par la méthode analytique utilisée.

Pour réaliser ces tests de dégradation forcée, une solution est préparée à partir du produit fini (celui qui sera utilisé pour l'étude de stabilité) à une concentration double de celle de l'étude de stabilité. Il a été choisi de doubler la concentration afin d'augmenter la quantité de produits de dégradation pouvant apparaître.

Cette solution est ensuite séparée dans différents contenants afin d'être diluée avec le même volume soit de :

- Diluant

- Eau (H<sub>2</sub>O)
- Peroxyde d'hydrogène à 3% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)
- Acide chlorhydrique à 0,1N (HCl)
- Hydroxyde de sodium 0,1N (NaOH)

Les solutions, à part celle avec le diluant qui sert de témoin négatif, ont été placées pendant 3 heures à 60 °C, avant d'être analysées selon la méthode analytique développée précédemment. Les chromatogrammes de ces solutions sont présentés dans la Figure 3-6.

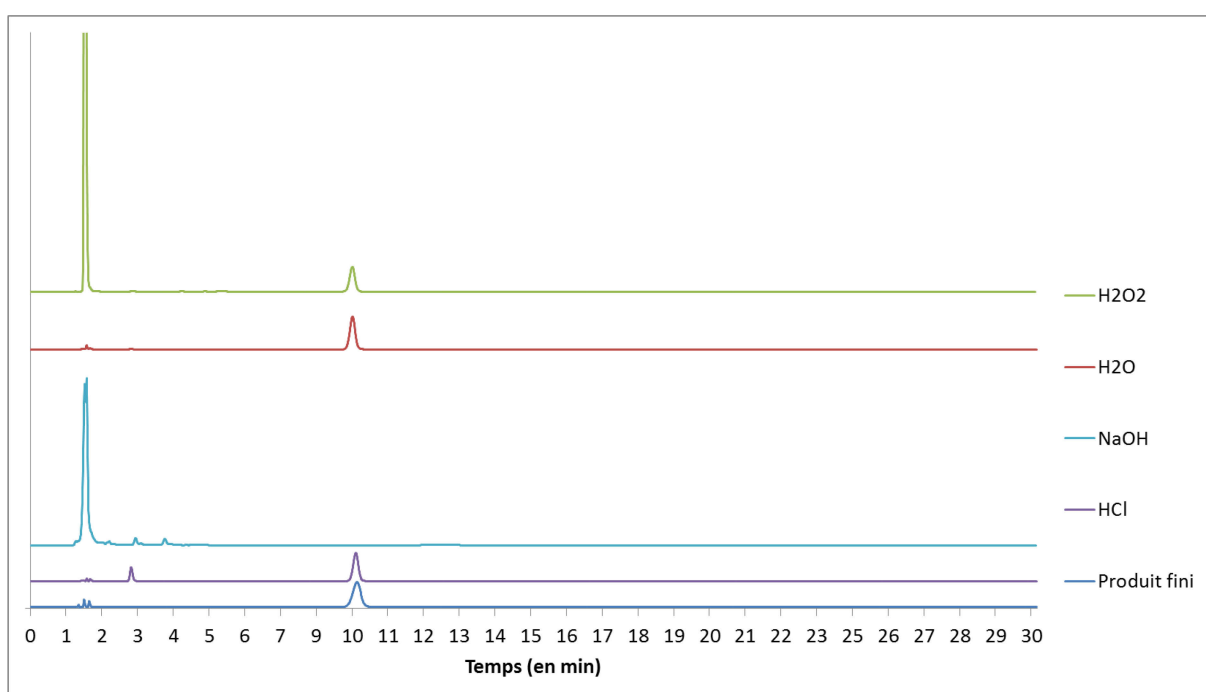


Figure 3-6 - Chromatogrammes des solutions après les tests de dégradation forcée

Les chromatogrammes montrent que la Doxorubicine est sensible à la chaleur et aux conditions acide, basique et oxydative. Les produits de dégradation n'apparaissent pas au même temps de rétention que la Doxorubicine.

Tous ces tests ont fait en sorte de démontrer que la méthode développée est spécifique à la Doxorubicine et qu'ils permettent de la différencier de ses produits de dégradation et de ses impuretés connues.

### 3.1.3. Analyse du compte de particules

Les solutions injectées dans le corps humain doivent être exemptes de particules en suspension. Le chapitre 788 de la Pharmacopée américaine (USP 788 – *Particulate Matter in injections*) décrit deux techniques permettant d'évaluer le nombre de particules en suspension ainsi que leur taille : l'analyse microscopique et l'analyse par blocage de la lumière. L'injection doit d'abord être testée par la méthode de blocage de la lumière puis si elle ne passe pas ce test alors le second test est réalisé. [69]

Différentes méthodes sont décrites dans le chapitre de la Pharmacopée américaine en fonction de la forme du produit. Dans le paragraphe suivant, ne sera détaillée que la méthode concernant les produits liquides, car c'est celle qui a été utilisée pour les analyses.

Pour les préparations liquides, il y a deux méthodes. La méthode est choisie en fonction du volume.

Si le volume de produit contenu est inférieur à 25 mL, il faut s'assurer d'avoir au moins 20 mL pour l'analyse. Pour cela, il est possible de mélanger dans un contenant propre plusieurs contenants plus petits après agitation (pour s'assurer d'avoir les particules en suspension). Trois aliquotes de 5 mL chacun seront mesurés.

Si le volume de produit contenu est supérieur ou égal à 25 mL, le système d'aspiration est placé au milieu du contenant pour effectuer les prélèvements. Trois aliquotes d'au moins 5 mL chacun doivent être analysés.

#### *Calcul pour les petits volumes recomposés*

Une moyenne des comptes des deux ou plus aliquotes est réalisée. Le nombre de particules contenu dans chaque contenant est calculé par l'équation 3.2.

$$\text{nombre de particules} = \frac{P * V_T}{V_A * n} \quad (3.2)$$



Avec

$P$  : la moyenne des particules comptées par portions analysées

$V_T$  : le volume total des échantillons analysés, en mL

$V_A$  : le volume d'un contenant, en mL

$n$  : le nombre de contenants mélangés

*Calcul pour les petits volumes non recomposés*

Le nombre de particules contenu dans le contenant est calculé par l'équation 3.3.

$$\text{nombre de particules} = \frac{P * V}{V_A} \quad (3.3)$$

Avec

$P$  : la moyenne des particules comptées par portions analysées

$V$  : le volume total de l'unité testée, en mL

$V_A$  : le volume de chaque portion analysée, en mL

*Calculs pour les grands volumes*

Le nombre de particules contenu dans le contenant est calculé par l'équation 3.4.

$$\text{nombre de particules} = \frac{P}{V} \quad (3.4)$$

---

Avec

$P$  : la moyenne des particules comptées par portions analysées

$V$  : le volume testé par portion, en mL

### *Interprétation*

La solution injectable rencontre les spécifications, si le nombre de particules calculé pour chaque unité testée ou pour chaque mélange d'échantillons testé ne dépasse pas les valeurs définies dans le tableau 3-11.

Tableau 3-11 - Limite d'acceptation du nombre de particules dans une solution injectable

	<b>Nombre de particules dont la taille est supérieure ou égale à 10 <math>\mu\text{m}</math></b>	<b>Nombre de particules dont la taille est supérieure ou égale à 25 <math>\mu\text{m}</math></b>
<b>Solution de petit volume</b>	6000 par contenant	600 par contenant
<b>Solution de grand volume</b>	25 par mL	3 par mL

### *L'équipement*

Un compteur de particules est un système qui permet, comme son nom l'indique, de déterminer le nombre de particules présentes dans un volume de liquide. Cependant l'appareil ne compte pas le nombre de particules présentes dans la solution, mais le nombre d'impacts lumineux que son détecteur reçoit si l'équipement utilise le *light scattering* (LS) ou le nombre d'obscurations qui ont lieu si l'équipement est *light obturing* (LO). Le principe repose en général sur la déviation d'un système lumineux.

Un compteur de particule est composé de différents éléments :

- Une seringue ou un système d'aspiration du liquide
- Une source lumineuse
- Une cellule qui permet la détection de la lumière

- Un logiciel qui analyse les données reçues par la cellule

Le compteur de particules LS-20 de Lighthouse Worldwide Solutions, représenté par la Figure 3-7, est muni d'une lumière laser et d'une cellule optique pour la détection des particules. Les particules en suspension dans un liquide vont bloquer la lumière du laser. La cellule détectrice compte le nombre de particules et détermine leur taille en se basant sur le temps pendant lequel la lumière est bloquée. Les résultats sont présentés par compte de particules en fonction de leur taille. La diffraction laser mesure la variation angulaire de l'intensité lumineuse diffusée lorsqu'un échantillon traverse le faisceau laser. La mesure de cette variation permet de déterminer la distribution de taille des particules. La taille des particules est inversement proportionnelle à la variation de l'angle. En effet, plus la particule est grosse, moins la variation sera importante. La détermination de la taille des particules à partir de l'intensité diffusée se fait grâce à la théorie de la diffusion de Mie. Les particules dont on cherche à déterminer la taille sont considérées comme sphériques.

Les tailles de particules mesurées sont de : 1,0, 2,0, 5,0, 7,0, 10,0, 15,0, 25,0 et 50,0  $\mu\text{m}$ .



Figure 3-7 - Compteur de particules LS-20

## 3.2. Analyse de la taille des particules

### 3.2.1. Équipement utilisé

La technique utilisée pour mesurer la taille des particules est la diffraction laser. Cette technique consiste à mesurer l'intensité de la lumière diffusée lors du passage d'un faisceau laser à travers un échantillon de particules dispersées.

L'équipement utilisé pour mesurer la distribution de taille des particules est l'analyseur de taille des particules LS 13 320 de Beckman Coulter. Il est représenté par la Figure 3-8.

Il possède deux modules qui permettent de mesurer des tailles de particules différentes.

Le premier module est l'*Universal Liquid Module*. C'est le module ayant la plus grande sensibilité, il permet de compter des particules ayant des tailles allant de 0,04 à 2 000  $\mu\text{m}$ . L'échantillon est dilué dans la cellule de mesure. Il est donc parfois difficile d'obtenir l'obscurité souhaitée, notamment avec des solutions claires. Ce module est présenté dans la Figure 3-9. [70]

Le second module est le *Micro Liquid Module*. Il permet de compter des particules ayant des tailles allant de 0,4 à 2000  $\mu\text{m}$ . Pour ce module, une cellule doit être remplie (cellule présentée dans la Figure 3-10). Il est possible de diluer ou non l'échantillon. L'obscurité est plus facile à obtenir. [70]



Figure 3-8 - Analyseur de taille des particules LS 13 320



Figure 3-9 - Cellule du module *Universal Liquid Module*



Figure 3-10 - Cellule du module *Micro Liquid module*

### 3.2.2. Analyse statistique

Afin de s'assurer que les variations entre les tailles des particules ne sont pas significatives, le logiciel Minitab a été utilisé pour déterminer si certaines des valeurs sont aberrantes. Ce logiciel propose différents tests pour déterminer si un échantillon contient des valeurs aberrantes :

- Le test de Grubb
- Le test de Dixon

Le logiciel conseille le test de Grubb si l'on ne sait pas si notre ensemble comprend ou non une donnée aberrante et le test de Dixon si on sait que notre ensemble possède au moins

---

une valeur aberrante. Ce dernier test a la capacité de surpasser l'effet de masque qui peut être créé par la présence de plusieurs valeurs aberrantes au sein du même ensemble.

Le test de Grubb permet de comparer une valeur par rapport à la moyenne des autres valeurs d'un ensemble. Si la valeur de  $G$  est plus grande que la valeur de  $G_{limite}$  alors la valeur est statistiquement différente des autres. Le calcul de la valeur de  $G$  est présenté dans l'équation 3.5 et celui de  $G_{limite}$  dans l'équation 3.6.

$$G = \frac{|Valeur - \bar{X}|}{S} \quad (3.5)$$

Avec :

$\bar{X}$  : la moyenne de l'ensemble des mesures

$S$  l'écart-type de l'ensemble de mesures

$G$  : la distance entre la valeur suspectée et la moyenne

$$G_{limite} = \frac{(N - 1)}{\sqrt{N}} \sqrt{\frac{t_{(\alpha/N, N-2)}^2}{N - 2 + t_{(\alpha/N, N-2)}^2}} \quad (3.6)$$

Le test de Dixon permet également de comparer une valeur par rapport à l'ensemble des données. Il est calculé de façon différente en fonction de la taille de l'ensemble. Il compare la distance entre la valeur aberrante et sa plus proche valeur divisée par l'étendue de l'ensemble. En fonction de la taille de l'échantillon, l'étendue avec la valeur aberrante ne se fait pas avec la première valeur suivante, mais avec celle d'après. Le calcul de la valeur est présenté dans l'équation 3.7. Le test de Dixon à choisir en fonction de la taille de l'ensemble étudié est précisé dans le tableau 3-12.

$$r_{ij} = \max \left\{ \frac{y_{i+1} - y_1}{y_{n-j} - y_1}, \frac{y_n - y_{n-i}}{y_n - y_{j+1}} \right\} \quad (3.7)$$

Avec

$r_{ij}$  : la statistique de Dixon ( $i = 1, 2; j = 0, 1, 2$ )

$y_i$  :  $i^{\text{e}}$  plus petite valeur de l'ensemble

$n$  : nombre d'observations de l'ensemble

**Tableau 3-12 - Choix du test de Dixon dans Minitab en fonction de la taille de l'échantillon**

<b>Effectif de l'ensemble</b>	<b>Choix du test dans Minitab</b>
Entre 3 et 7	r10 (ou Q)
Entre 8 et 10	r11
Entre 11 et 13	r21
Égal ou supérieur à 14	r22

### 3.3. Analyse par spectroscopie NIR

La spectroscopie proche infrarouge existe depuis les années 1960 et est largement utilisée dans l'industrie. C'est un des outils PAT les plus utilisés. Des lignes directrices spécifiques à cette technique ont été émises par l'Agence européenne des médicaments (*European Medicines Agency, EMA*) [71] et par l'agence américaine (*Food and Drug Administration, FDA*) [72].

Sa spécificité, la vitesse de réponse, la stabilité des longueurs d'onde, le grand nombre d'échantillons pouvant être analysés ainsi que le fait qu'il s'agisse d'une analyse non destructive en font un outil très attractif.

L'équipement utilisé est le MPA de Bruker, présenté en Figure 3-11. Il possède un porte-échantillon pour les échantillons liquides. Il peut fonctionner en transmittance et en réflectance.



Figure 3-11 - Équipement MPA de Bruker



---

## CHAPITRE 4. ÉTUDES PRÉLIMINAIRES

Ce projet est le fruit d'une collaboration avec l'entreprise Pfizer. Parmi les quatre produits choisis pour sa réalisation, deux ont fait l'objet d'études préliminaires : l'Irinotecan et l'Épirubicine. Les études de stabilité ont été réalisées par l'entreprise, j'ai réalisé l'analyse des résultats en collaboration avec eux.

### 4.1. Résultats des études préliminaires

#### 4.1.1. Irinotecan

L'analyse de la quantité d'Irinotecan est faite par une analyse de la solution suivant une méthode HPLC. Deux échantillons sont analysés à chaque temps. Les résultats sont présentés dans le Tableau 4-1 et sur la Figure 4-1.

Tableau 4-1 - Concentration restante en % de la concentration initiale

Temps (en mois)	Concentration (en % de la concentration initiale)							
	NaCl 0,9 %				Glucose 5 %			
	Bouteille en polypropylène claire		Bouteille en polypropylène ambrée		Bouteille en polypropylène claire		Bouteille en polypropylène ambrée	
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
1	102,07	101,86	101,65	102,02	101,89	100,49	101,72	102,48
3	101,08	100,25	100,13	100,78	100,46	101,35	100,31	100,58
6	99,74	98,91	100,00	99,45	99,59	99,76	99,70	99,76
9	100,65	100,03	100,79	100,40	100,43	100,78	100,75	100,99
12	93,96	94,04	94,30	92,27	93,78	95,24	93,18	95,22
18	97,93	97,06	97,41	96,82	97,75	97,78	97,98	98,10
28	101,03	100,56	100,92	99,80	101,22	101,21	101,36	101,01

Certaines valeurs sont au-dessus du 100% de la concentration initiale. Cela correspond à l'erreur associée à la préparation des solutions utilisées pour la courbe de calibration qui sont différentes à chaque temps d'analyse.

La valeur cible de la préparation est de 0,12 mg.mL<sup>-1</sup>, car elle correspond à la plus petite concentration injectable à un patient. Il a été décidé pour ces études de stabilité d'étudier dans un premier temps les concentrations les plus faibles injectables. Pour évaluer la perte de produit lors de l'étude, la valeur au temps initial (premier jour de l'étude) est considérée comme le 100 %. Les autres valeurs sont calculées en pourcentage par rapport à la valeur initiale. Les résultats présentés sur la **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** correspondent, pour chaque temps d'analyse, à la moyenne des deux valeurs du **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**

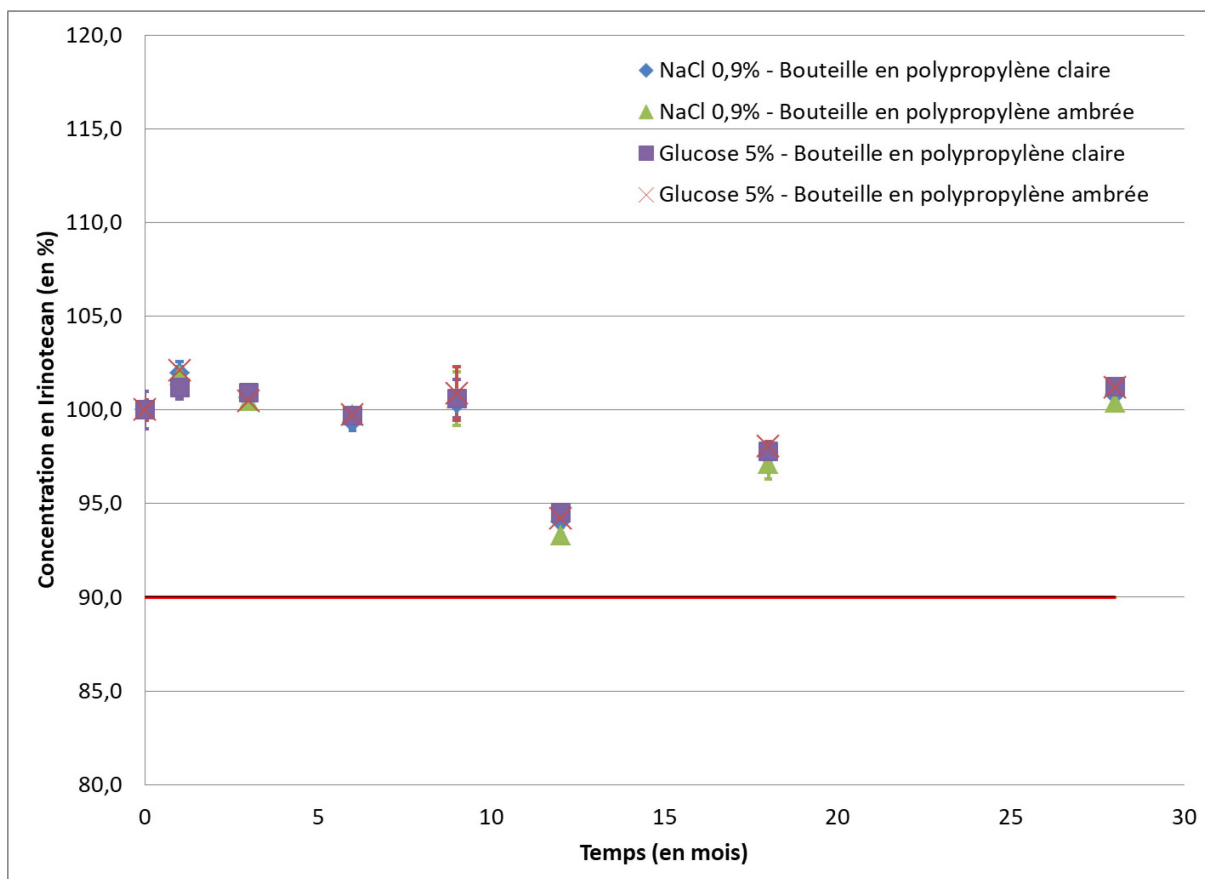


Figure 4-1 - Évolution de la concentration exprimée en pourcentage d'Irinotecan au cours du temps

La concentration de l'Irinotecan reste supérieure aux spécifications, moins de 10 % de perte de la concentration initiale, même après 28 mois (deux ans et quatre mois) lorsque le

produit est conservé à 5 °C quel que soit le diluant (NaCl 0,9 % ou glucose 5 %) et quel que soit le type de contenant (bouteille en polypropylène claire ou ambrée).

Le compte de particules a été réalisé à chaque temps d'analyse.

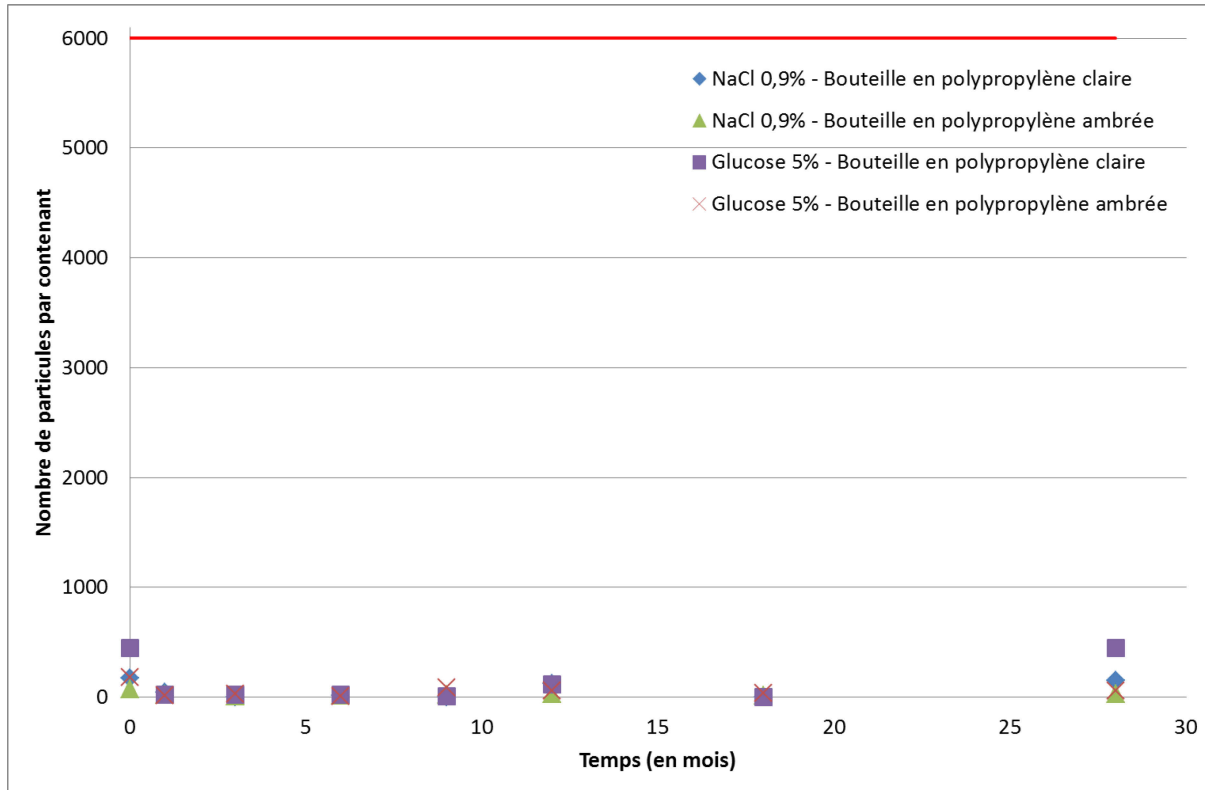
Pour les bouteilles en polypropylène claires, une seule bouteille est utilisée à chaque analyse ; le volume d'une bouteille est de 50 mL, ce qui est suffisant pour un test.

Pour les bouteilles en polypropylène ambrées, la réalisation d'une analyse exige deux bouteilles. Les bouteilles contiennent 20 mL de produit et la méthode utilisée nécessite plus de produits. La méthode utilisée nécessite 25 mL pour la réalisation du test.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 4-2 et la Figure 4-2 pour les particules ayant une taille supérieure à 10 µm et dans le Tableau 4-3 et la Figure 4-3 pour les particules ayant une taille supérieure à 25 µm.

**Tableau 4-2 - Nombre de particules plus grosses que 10 µm par contenant**

Temps (en mois)	Nombre de particules $\geq 10 \mu\text{m}$ par contenant			
	NaCl 0,9 %		Glucose 5 %	
	Bouteille en polypropylène claire	Bouteille en polypropylène ambrée	Bouteille en polypropylène claire	Bouteille en polypropylène ambrée
0	175	70	445	178
1	45	20	25	15
3	0	6	25	26
6	15	14	25	10
9	0	24	5	84
12	125	28	115	58
18	0	12	0	38
28	155	26	450	58

Figure 4-2 - Nombre de particules  $\geq 10 \mu\text{m}$  par contenantTableau 4-3 - Nombre de particules plus grosses que  $25 \mu\text{m}$  par contenant

Temps (en mois)	Nombre de particules $\geq 25 \mu\text{m}$ par contenant			
	NaCl 0,9 %		Glucose 5 %	
	Bouteille en polypropylène claire	Bouteille en polypropylène ambrée	Bouteille en polypropylène claire	Bouteille en polypropylène ambrée
0	15	6	15	6
1	5	6	0	5
3	0	2	5	6
6	5	2	5	0
9	0	18	0	76
12	30	4	40	34
18	0	2	0	28
28	60	22	355	38

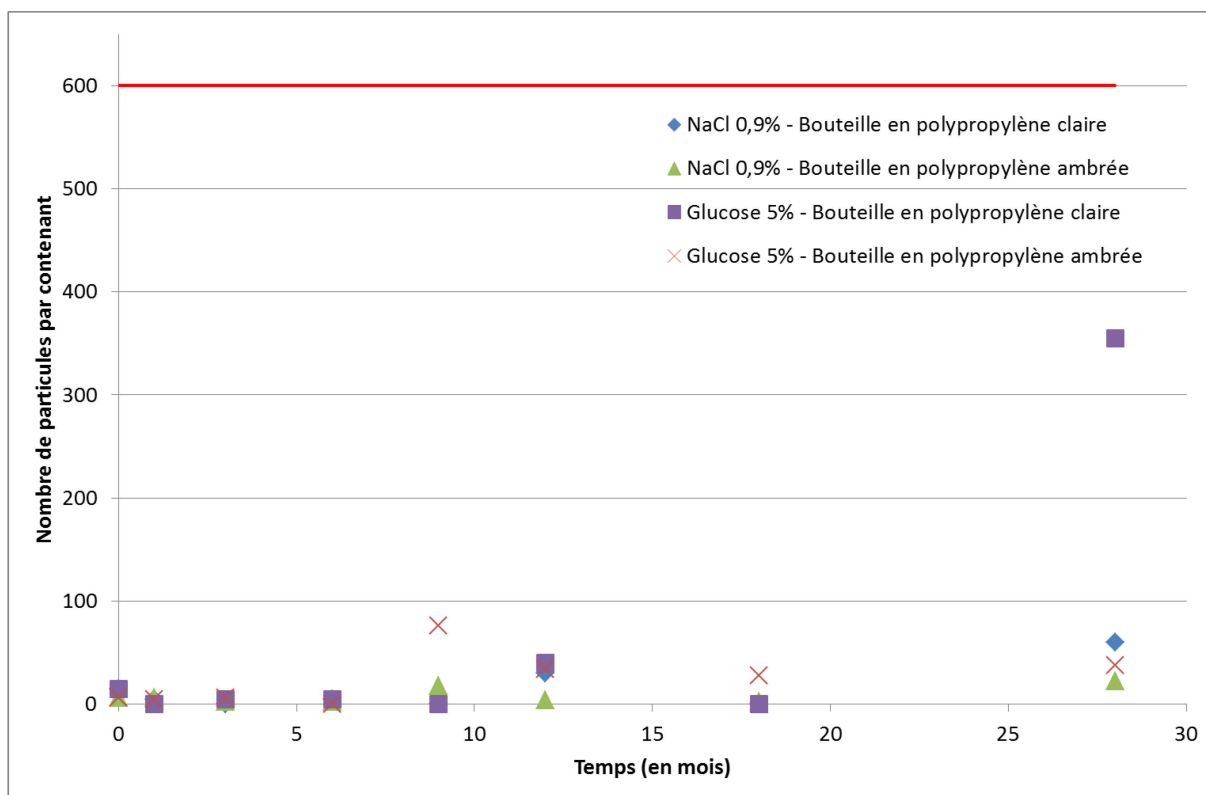


Figure 4-3 - Nombre de particules  $\geq 25 \mu\text{m}$  par contenant

Le nombre de particules par contenant est en dessous des spécifications pour toutes les conditions testées.

Avant chaque analyse, les solutions sont inspectées pour s'assurer que la couleur et l'aspect général restent les mêmes. Cette inspection permet aussi de s'assurer qu'il n'y a pas de particules visibles présentes.

Durant toute l'étude, les solutions sont restées transparentes, d'une couleur jaune pâle, et aucune particule visible n'a été observée.

Le pH a été mesuré à chaque temps. Aucune valeur cible n'a été spécifiée; cette mesure permet de suivre l'évolution du pH dans les solutions au cours du temps. Les résultats sont présentés dans le Tableau 4-4 et la Figure 4-4.

Tableau 4-4 - pH des solutions lors de l'étude de stabilité

Temps (en mois)	pH des solutions			
	NaCl 0,9 %		Glucose 5 %	
	Bouteille en polypropylène claire	Bouteille en polypropylène ambrée	Bouteille en polypropylène claire	Bouteille en polypropylène ambrée
0	4,63	4,63	4,36	4,36
1	4,63	4,63	4,26	4,27
3	4,59	4,60	4,31	4,30
6	4,61	4,61	4,27	4,41
9	4,57	4,56	4,26	4,23
12	4,59	4,62	4,28	4,24
18	4,62	4,62	4,19	4,16
28	4,49	4,48	4,12	4,10

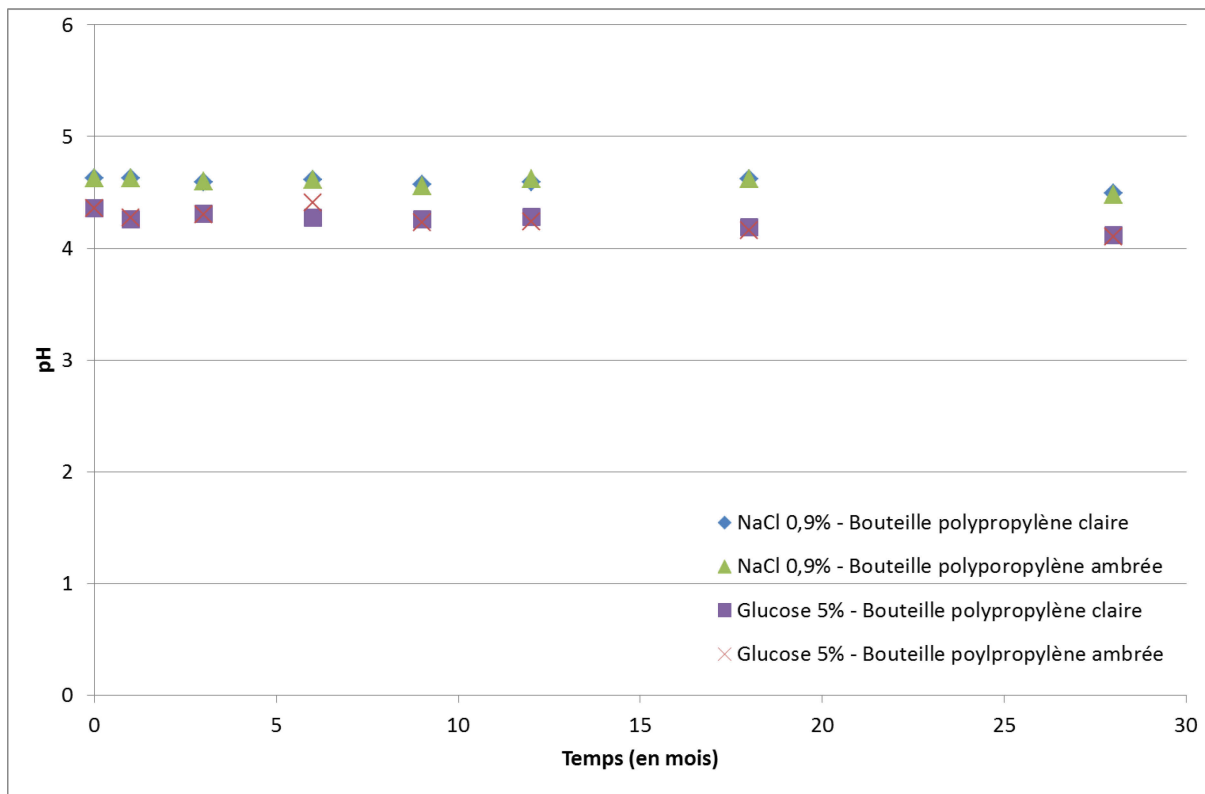


Figure 4-4 - Évolution du pH au cours du temps dans les solutions d'Irinotecan

Le pH ne varie pas au cours du temps, variation de 0,15 unité de pH pour les solutions préparées avec du NaCl 0,9% et de 0,31 unité de pH pour les solutions préparées avec du glucose 5%.

Cette étude a permis de démontrer que l'Irinotecan est stable pendant 28 mois lorsqu'il est conservé à 5 °C, en solution dans du NaCl 0,9 % ou dans du glucose 5 %, qu'il soit ou non protégé de la lumière.

#### 4.1.2. Épirubicine

L'analyse de la quantité restante d'Épirubicine est faite par l'analyse de la solution par une méthode HPLC. Deux échantillons sont analysés à chaque temps. Le résultat présenté est la moyenne de ces deux valeurs, les barres d'erreur sont trop petites pour être vue sur le graphique.

Les solutions d'Épirubicine ont été testées seulement dans des bouteilles en polypropylène claires.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 4-5 et sur la Figure 4-5.

**Tableau 4-5 - Concentration restant en % de la concentration initiale**

Temps (en mois)	Concentration (en % de la concentration initiale)			
	Bouteille en polypropylène claire			
	NaCl 0,9 %		Glucose 5 %	
0	100,00	100,00	100,00	100,00
1	100,94	98,73	107,12	104,88
3	99,28	97,90	106,89	105,16
6	98,94	98,70	106,97	105,53
9	98,91	98,44	107,00	106,25
12	93,36	89,69	104,14	102,50
18	89,68	90,08	106,33	105,69
24	79,82	79,79	99,18	98,13

Certaines valeurs sont au-dessus du 100% de la concentration initiale. Cela correspond à l'erreur associée à la préparation des solutions utilisées pour la courbe de calibration qui sont différentes à chaque temps d'analyse.

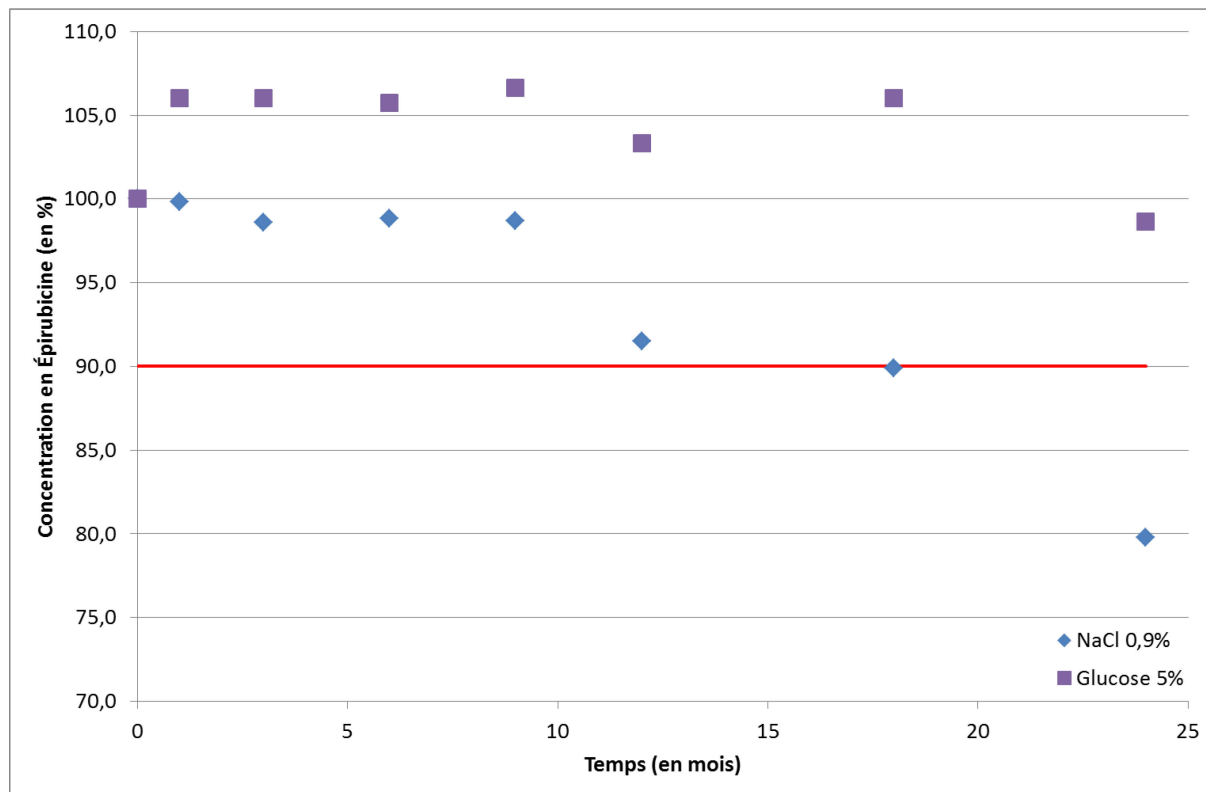


Figure 4-5 - Évolution de la concentration exprimée en pourcentage d'Épirubicine au cours du temps

La concentration de l'Épirubicine reste supérieure aux spécifications, moins de 10 % de perte de la concentration initiale, lorsque le produit est en solution dans du glucose à 5 % pendant les 24 mois de l'étude de stabilité. Lorsque le produit est en solution dans du NaCl 0,9 %, une perte de plus de 10 % de la concentration initiale apparaît à partir de 18 mois.

Le compte de particules a été réalisé à chaque temps d'analyse.

Pour les bouteilles en polypropylène claires, une seule bouteille est utilisée à chaque analyse, le volume d'une bouteille est de 50 mL ce qui est suffisant pour un test.

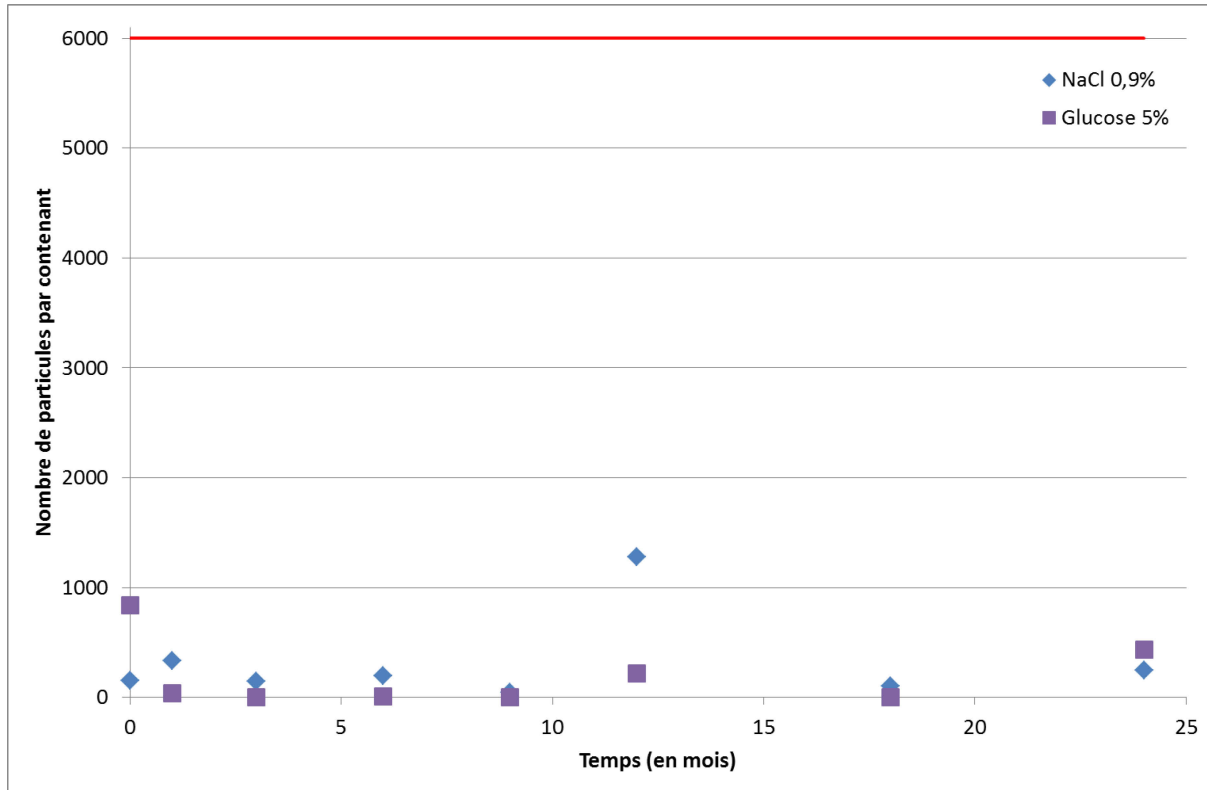


En ce qui a trait aux bouteilles en polypropylène ambrées, il en faut deux pour la réalisation d'une analyse. Les bouteilles contiennent 20 mL de produit et la méthode utilisée nécessite plus de produits.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 4-6 et la Figure 4-6 pour les particules ayant une taille supérieure à 10  $\mu\text{m}$  et dans le Tableau 4-7 et la Figure 4-7 pour les particules ayant une taille supérieure à 25  $\mu\text{m}$ .

**Tableau 4-6 - Nombre de particules plus grosses que 10  $\mu\text{m}$  par contenant**

<b>Temps (en mois)</b>	<b>Nombre de particules <math>\geq 10 \mu\text{m}</math> par contenant</b>	
	<b>Bouteille en polypropylène claire</b>	
	<b>NaCl 0,9%</b>	<b>Glucose 5%</b>
0	150	835
1	135	35
3	145	5
6	200	10
9	45	5
12	1280	215
18	105	5
24	250	435

Figure 4-6 - Nombre de particules  $\geq 10 \mu\text{m}$  par contenantTableau 4-7 - Nombre de particules plus grosses que  $25 \mu\text{m}$  par contenant

Temps (en mois)	Nombre de particules $\geq 25 \mu\text{m}$ par contenant	
	Bouteille en polypropylène claire	
	NaCl 0,9 %	Glucose 5 %
0	50	70
1	15	5
3	25	0
6	75	0
9	10	0
12	185	85
18	15	5
24	140	135

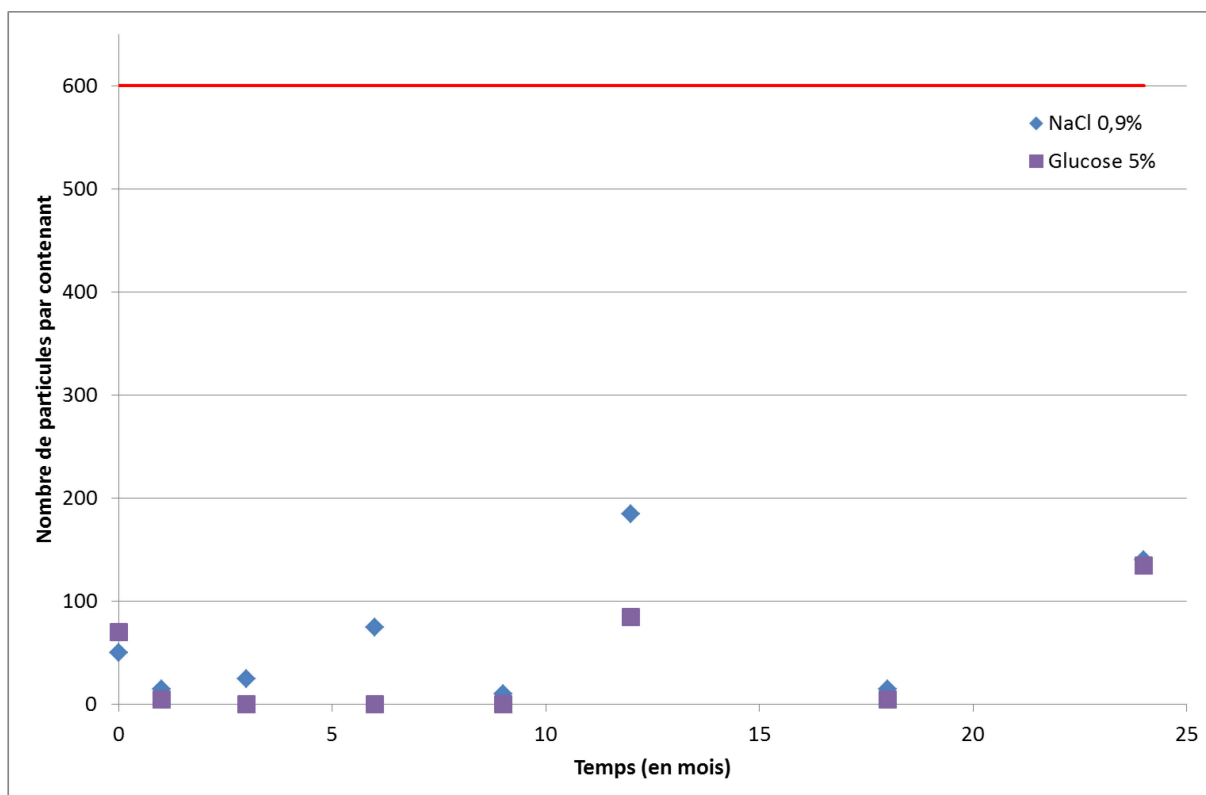


Figure 4-7 - Nombre de particules  $\geq 25 \mu\text{m}$  par contenant

Le nombre de particules par contenant est en dessous des spécifications pour toutes les conditions testées.

Avant chaque analyse, les solutions sont inspectées pour s'assurer que la couleur et l'aspect général restent les mêmes. Cette inspection permet aussi de s'assurer qu'il n'y a pas de particules visibles présentes.

Durant toute l'étude, les solutions sont restées transparentes, d'une couleur rouge, et aucune particule visible n'a été observée.

Le pH a été mesuré à chaque temps. Aucune valeur cible n'a été spécifiée, cette mesure permet de suivre l'évolution du pH dans les solutions au cours du temps. Les résultats sont présentés dans le Tableau 4-8 et la Figure 4-8.

Pour les solutions préparées avec du glucose 5 %, le premier point est élevé (7,05) puis il chute à 4.35 après un mois.

Tableau 4-8 - pH des solutions

Temps (en mois)	pH des solutions	
	Bouteille en polypropylène claire	
	NaCl 0,9 %	Glucose 5 %
0	5,30	7,05
1	5,23	4,35
3	5,10	4,28
6	5,05	4,31
9	4,86	4,26
12	4,89	4,24
18	4,88	4,23
24	4,67	4,23

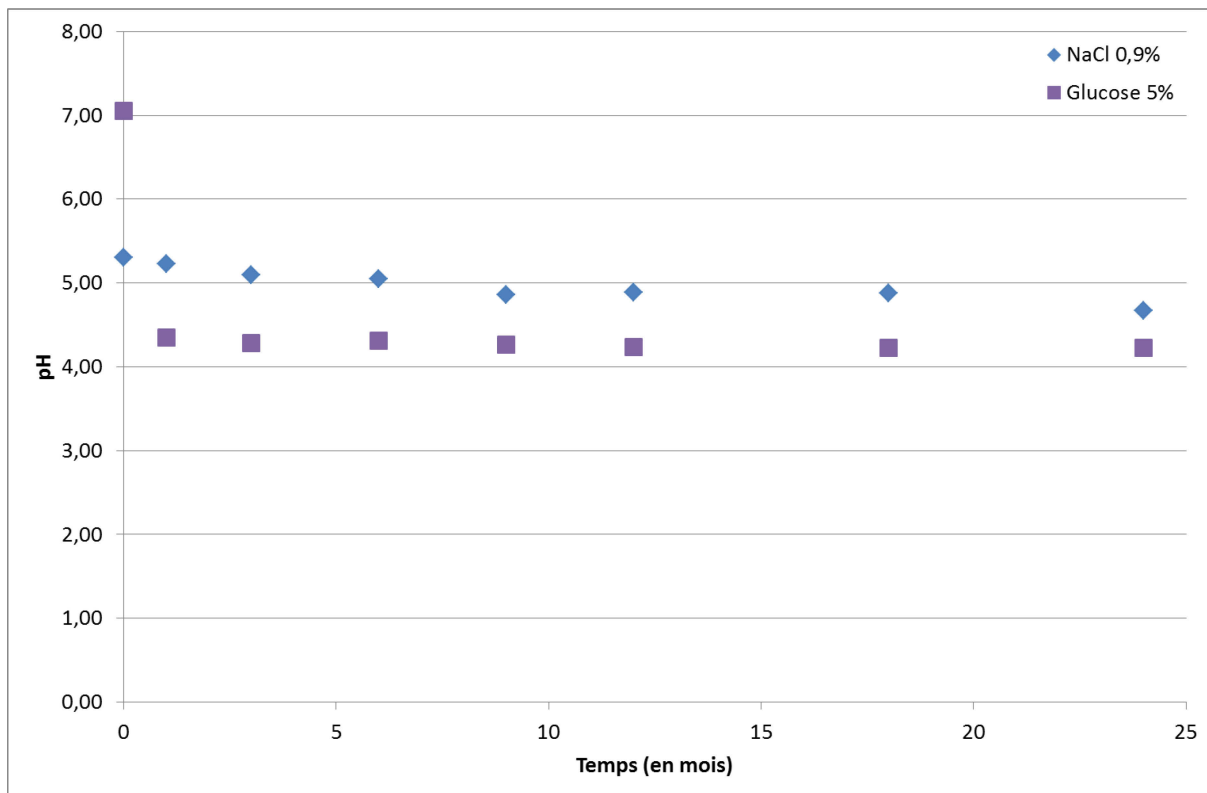


Figure 4-8 - Évolution du pH au cours du temps dans les solutions d'Épirubicine

Le pH des solutions de glucose 5 % est de 4,5 (compris entre 3,2 et 6,5) et celui des solutions d'Épirubicine est de 3,0. Le pH de la solution ne peut donc pas être de 7,05 au temps

initial. De plus, une solution a été refaite à la même concentration est le pH a été mesuré au temps initial trois fois, celui-ci est de  $4,32 \pm 0,03$ . Le premier point de la courbe des solutions dans le glucose 5 % est une erreur. Pour le reste de l'étude le pH oscille entre 4,35 et 4,23. On peut considérer qu'il reste stable entre un et 28 mois.

Le pH dans les solutions de NaCl 0,9 % varie de 5,30 à 4,67 entre le temps initial et la dernière mesure après 24 mois. Le pH varie pour les solutions d'Épirubicine préparées avec le NaCl 0,9 %; c'est aussi dans ces solutions que l'on observe une perte de produit.

La Figure 4-9 représente l'évolution du pH et de la concentration en Épirubicine en fonction du temps.

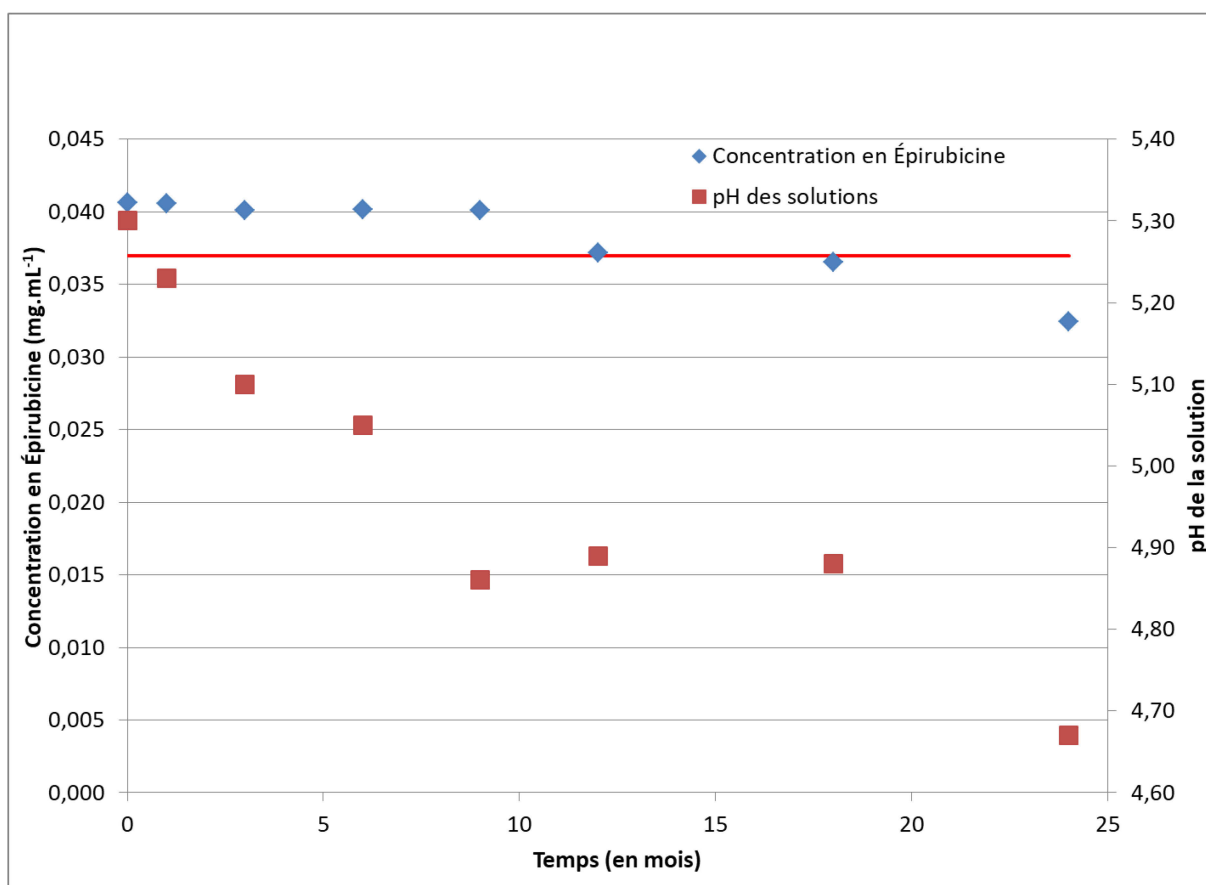


Figure 4-9 - Évolution de la concentration et du pH au cours du temps dans les solutions d'Épirubicine préparées avec du NaCl 0,9 %

La concentration en Épirubicine reste stable tant que le pH de la solution est au-dessus de 4,90. On observe une baisse de la concentration de produit pour des pH inférieurs.

La Figure 4-10 représente la concentration en Épirubicine en fonction du pH de la solution.

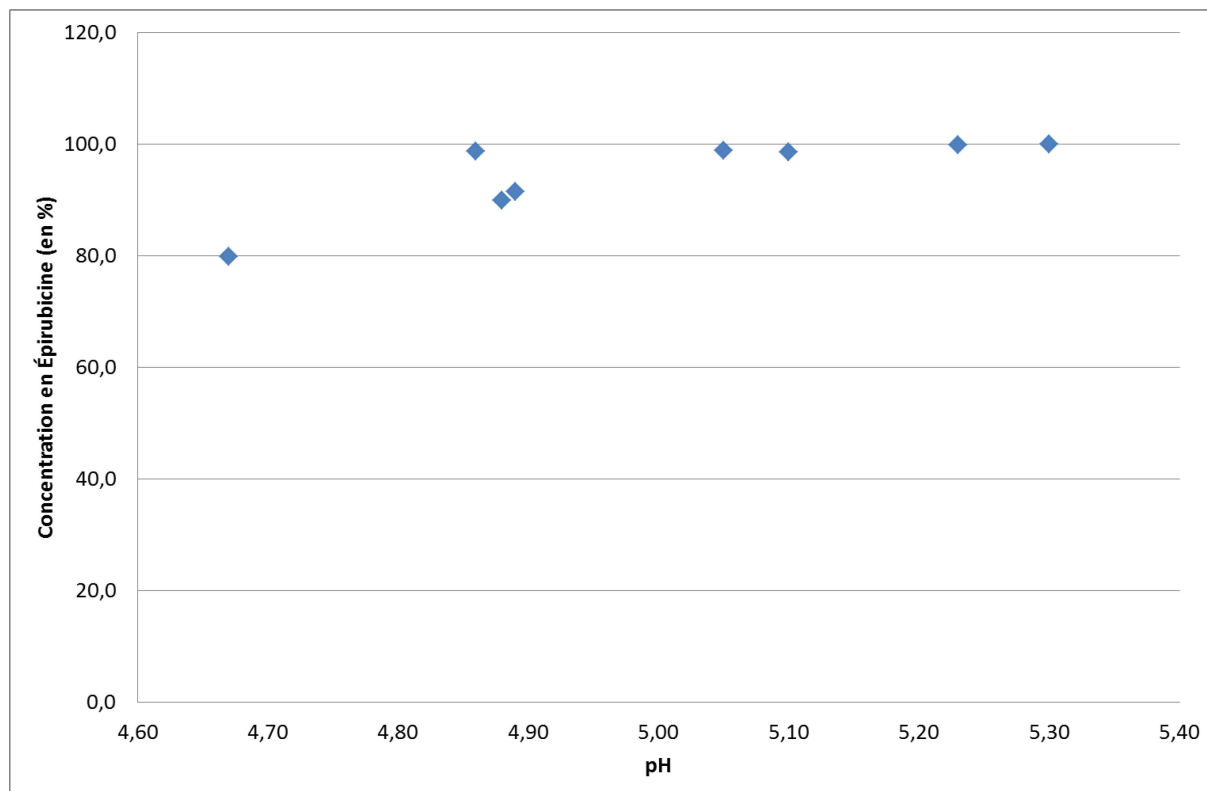


Figure 4-10 - Évolution de la concentration en Épirubicine en fonction du pH pour les solutions préparées dans du NaCl 0,9%

Pour un pH entre 4,67 et 4,90, on observe une baisse de la concentration. Ce pH ne correspond pas à un pKa de l'Épirubicine. L'évolution du pH se faisant au cours du temps, cette étude ne permet pas de conclure si la diminution du pH entraîne la dégradation de l'Épirubicine ou si la dégradation de l'Épirubicine provoque la diminution du pH dans la solution. Pour les solutions préparées avec du glucose 5%, le pH reste constant ainsi que la concentration, il n'a pas été possible de mettre en évidence avec ces données si la diminution du pH entraîne la diminution de la concentration ou si c'est l'inverse.

Cette étude a permis de démontrer que l'Épirubicine est stable pendant 24 mois lorsqu'elle est conservée à 5 °C, en solution dans du glucose 5 %. Les solutions d'Épirubicine préparées avec du NaCl 0,9 % sont stables pendant 12 mois.

## 4.2. Conclusion des études préliminaires

D'après les conseils d'utilisation de ces produits donnés dans le RCP, il est recommandé d'utiliser ces produits soit dans les 12 heures suivant la préparation de la solution si le produit est entreposé à température ambiante, soit dans les 24 heures s'il est réfrigéré [14][13]. Le RCP ne précise pas pour quelles concentrations. Les données recensées dans la littérature donnent une stabilité maximum de 84 jours pour l'Irinotecan [26] pour des concentrations de  $0,4 \text{ mg.mL}^{-1}$  et  $2,8 \text{ mg.mL}^{-1}$  à des températures de  $2-8 \text{ }^{\circ}\text{C}$  ou  $15-25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  et de 180 jours pour l'Épirubicine [25] pour une concentration de  $2,0 \text{ mg.mL}^{-1}$  à  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  et sans lumière. Grâce à cette étude, nous avons montré que les solutions peuvent être préparées à l'avance et conservées à  $5 \text{ }^{\circ}\text{C}$  pendant des périodes plus longues.

L'Irinotecan est stable jusqu'à 28 mois aussi bien dans du chlorure de sodium à 0,9 % que dans du glucose 5 % à une concentration de  $0,12 \text{ mg.mL}^{-1}$ .

L'Épirubicine est stable jusqu'à 12 mois dans du chlorure de sodium à 0,9 % et jusqu'à 24 mois dans du glucose 5 % à une concentration de  $0,04 \text{ mg.mL}^{-1}$ .

---





---

## CHAPITRE 5. DOCETAXEL

### 5.1. Étude de stabilité

Une étude de stabilité a été réalisée pour le Docetaxel.

Pour la réalisation de cette étude, deux solutions de Docetaxel ont été préparées à partir de 27,0 mL de Docetaxel et 3573,0 mL de diluant (soit NaCl 0,9 %, soit glucose 5 %). Les solutions ont ensuite été filtrées sous pression avec un filtre de 0,22 µm avant d'être réparties dans des bouteilles en polypropylène claires ou ambrées.

#### 5.1.1. Résultats de l'étude de stabilité

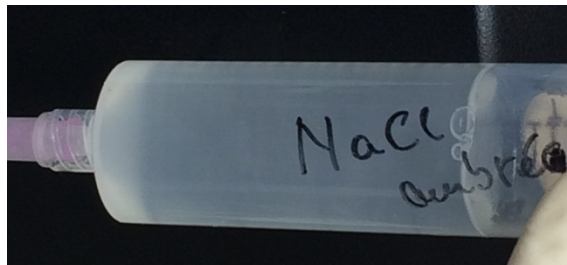
L'analyse de la quantité de Docetaxel au temps initial a pu se faire le jour même, mais celle du compte de particules a dû attendre le jour suivant, car l'équipement n'était pas sur place. Les bouteilles ont donc été placées à température ambiante avant l'analyse du compte de particules. Les résultats des comptes de particules du temps initial sont présentés dans le Tableau 5-1. Le nombre n correspond au nombre de bouteilles qui ont été analysées. Les bouteilles ont été analysées après une nuit à température ambiante (25°C).

**Tableau 5-1 - Compte des particules dans les solutions de Docetaxel**

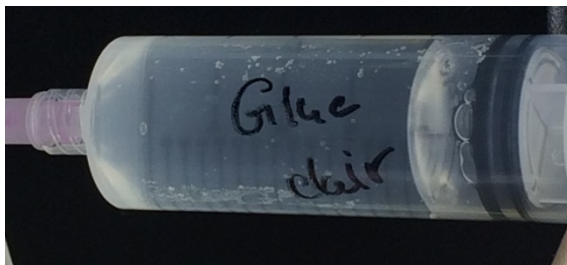
<b>Diluant</b>	<b>Contenant</b>	<b>Nombre de particules par contenant</b>	
<b>NaCl 0,9 %</b>	<b>Bouteille en polypropylène claire (n=3)</b>	4,0 ± 2,0	311,3 ± 4,2
	<b>Bouteille en polypropylène ambrée (n=2)</b>	556350,0 ± 16223,9	36016,0 ± 7583,0
<b>Glucose 5 %</b>	<b>Bouteille en polypropylène claire (n=2)</b>	215793,0 ± 22575,1	36673,0 ± 19446,9
	<b>Bouteille en polypropylène ambrée (n=1)</b>	5233562,0	29682,0

Le compte était très élevé dans les solutions de NaCl 0,9 % pour les bouteilles ambrées et dans les solutions dans le glucose 5 % dans les deux types de contenants. Les solutions étaient troubles. Les limites étant de 600 particules par contenant pour des particules plus grandes que 25  $\mu\text{m}$  et de 6000 particules pour celles de plus de 10  $\mu\text{m}$ .

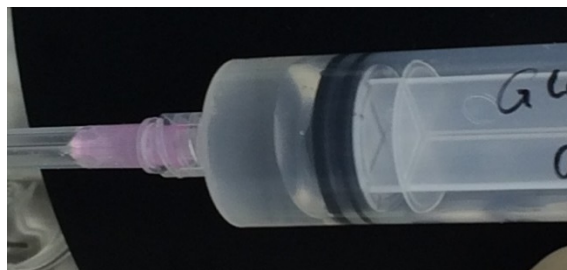
La Figure 5-1, la Figure 5-2 et la Figure 5-3 montrent les solutions de Docetaxel qui n'ont pas été analysées par le compteur de particules.



**Figure 5-1 - Solution de Docetaxel dans du NaCl 0,9 % dans une bouteille en polypropylène ambrée à T0**



**Figure 5-2 - Solution de Docetaxel dans du glucose 5 % dans une bouteille en polypropylène claire à T0**



**Figure 5-3 - Solution de Docetaxel dans du glucose 5 % dans une bouteille en polypropylène ambrée à T0**

Ces solutions sont troubles, elles ne passent pas non plus l'inspection visuelle.

L'analyse HPLC a été faite le même jour que l'étude de stabilité. Des solutions à différentes concentrations ont été préparées dans les deux diluants afin d'obtenir des courbes de calibration. L'analyse HPLC n'a pas donné de résultats analysables, les solutions ayant précipité dans les flacons. Les échantillons des solutions préparées pour la courbe de calibration n'ont pas précipité. La précipitation n'étant apparue que dans les flacons contenant les solutions de l'étude de stabilité, elle n'est pas due aux conditions dans l'HPLC.

### 5.1.2. Conclusion de l'étude de stabilité

Les résultats obtenus montrent que les solutions de Docetaxel ne sont pas stables après une journée, quel que soit le diluant (NaCl 0,9 % ou glucose 5 %) ou le contenant (bouteille polypropylène claire ou ambrée). On observe un grand nombre de particules dans les différentes solutions. Des études concernant la taille de ces particules ainsi que leur vitesse d'apparition ont été réalisées et sont rapportées ci-dessous. Une étude a également été réalisée pour déterminer la répartition du Docetaxel entre les particules et la solution.

## 5.2. Analyse de la taille des particules

Les solutions de Docetaxel étant troubles et sachant que le Docetaxel pouvait précipiter en solution [39][73], une étude de la taille des particules a été réalisée avec les bouteilles préparées pour l'étude de stabilité. Cette étude a pour but d'essayer de déterminer une cinétique d'apparition des particules et de leur augmentation ou non de taille au cours du temps.

Pour les solutions préparées avec du NaCl 0,9 % et contenues dans les bouteilles en polypropylène claires, l'obscuration a été suffisante seulement une seule fois durant les deux mois de l'étude, au jour 43 pour une bouteille entreposée à 25 °C. Pour toutes les autres mesures, l'obscuration était insuffisante. Un exemple de solution donnant une obscuration insuffisante est présenté dans la Figure 5-4.

---

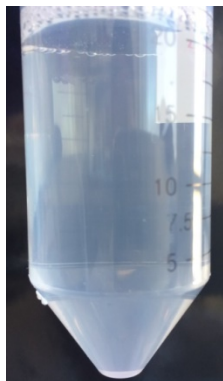


Figure 5-4- Solution préparée avec du NaCl 0,9 % contenue dans une bouteille claire à 25 °C après 13 jours

Pour les solutions préparées avec du NaCl 0,9 % et contenues dans les bouteilles en polypropylène ambrées, la solution se comporte différemment en fonction de la température d'entreposage.

La Figure 5-5 et la Figure 5-8 montrent l'évolution de la taille moyenne des particules au cours du temps en fonction de la température d'entreposage ainsi que du diluant utilisé.

Le Tableau 5-2 présente les résultats pour les solutions préparées avec du NaCl 0,9 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène ambrées.

Il n'y a pas de valeurs pour la température de 40 °C avant le jour 21, car aucune solution n'a été entreposée à cette température pour l'étude de stabilité. Dans le cadre de l'étude de suivi de la taille des particules, il a été décidé d'ajouter cette température pour déterminer si la température avait une influence sur l'évolution de la taille des particules.

Des bouteilles ayant été entreposées à 25 °C pendant le début de l'étude de stabilité ont ensuite été placées à 40 °C au jour 13. La première mesure pour ces bouteilles a été réalisée au jour 21 et la dernière au jour 50, car il n'y avait plus de bouteilles disponibles.

L'obscuration n'était plus possible avec ce module après 29 jours, un second module a été testé, le *Micro liquid module*. L'obscuration était plus facile à obtenir, mais ce module ne

permet pas de détecter les particules ayant des tailles inférieures à 0,4  $\mu\text{m}$ . Le même module est utilisé pour l'analyse de toutes les conditions.

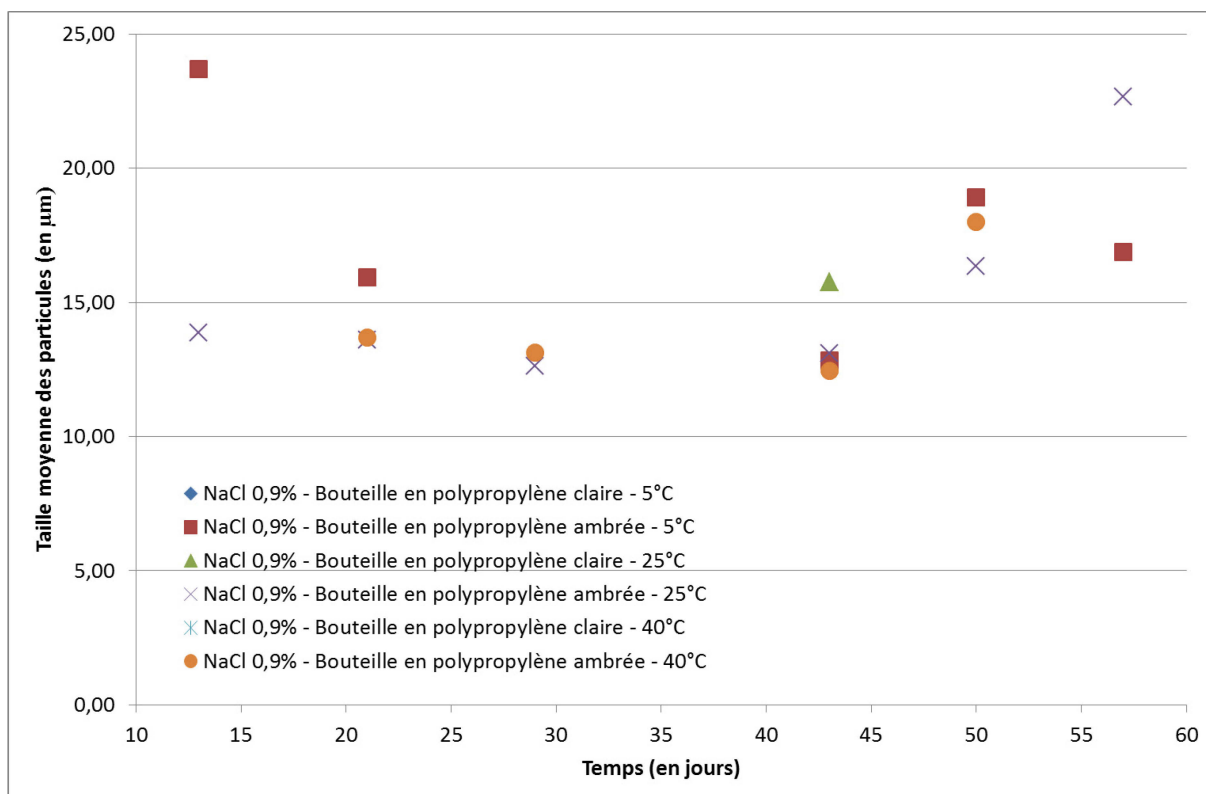


Figure 5-5 - Évolution de la taille moyenne des particules dans les solutions de Docetaxel préparées avec du NaCl 0,9 % en fonction du temps

Les analyses des solutions préparées avec du NaCl 0,9 % et entreposées dans des bouteilles de polypropylène claires n'ont pas donné de résultats, car les solutions n'ont pas permis d'obtenir une obscuration nécessaire pour que l'équipement puisse fonctionner sauf pour un seul point : la première mesure réalisée avec le *Micro liquid module* au jour 43. Les jours suivants avec ce même module n'ont pas été mesurables, car l'obturation n'a jamais été suffisante pour obtenir une mesure.

Tableau 5-2 - Taille moyenne des particules dans les solutions préparées avec du NaCl 0,9 % et entreposées dans des bouteilles en polypropylène ambrées

Température d'entreposage		5 °C	25 °C	40 °C
Taille moyenne des particules (en µm, moy±SD, n=3)	Jour 13	23,7 ± 0,2	13,7 ± 0,1	Pas de mesure
	Jour 21	15,9 ± 0,2	13,6 ± 0,1	13,7 ± 0,1
	Jour 29	Pas d'obscuration	12,6 ± 0,1	13,1 ± 0,2
	Jour 43	12,8 ± 0,2	13,1 ± 0,2	12,4 ± 0,1
	Jour 50	18,9 ± 1,7	16,4 ± 0,7	18,0 ± 2,5
	Jour 57	16,9 ± 0,6	22,7 ± 1,2	Pas de mesure

Dans les bouteilles ambrées, la taille des particules varie entre 12,4 µm (pour les solutions au jour 43 à 40 °C) et 23,7 µm (pour les solutions au jour 13 à 5 °C).

Pour cet ensemble de données, il ne semble pas y avoir de valeurs aberrantes, le test de Grubb est donc réalisé à l'aide du logiciel Minitab afin de confirmer cela. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 5-6. D'après ce test, aucune valeur n'est aberrante dans cet échantillon.

#### Outlier Test: NaCl 0,9% bouteille ambrée

##### Method

Null hypothesis All data values come from the same normal population  
 Alternative hypothesis Smallest or largest data value is an outlier  
 Significance level  $\alpha = 0,05$

##### Grubbs' Test

Variable	N	Mean	StDev	Min	Max	G	P
NaCl 0,9% bouteille ambr	15	15,833	3,636	12,400	23,700	2,16	0,276

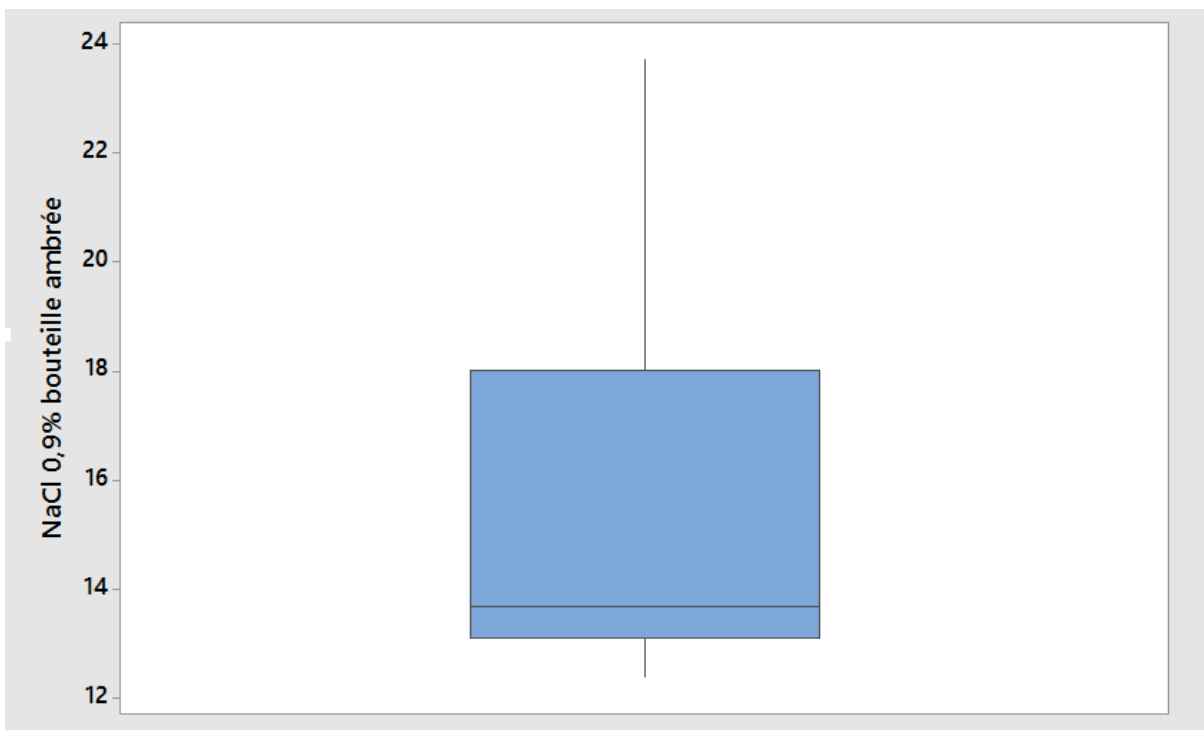
\* NOTE \* No outlier at the 5% level of significance

Figure 5-6 - Résultats du test de Grubb pour les solutions préparées avec du NaCl 0,9 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène ambrées

La valeur  $\alpha$  représente l'erreur de type I. Cela correspond au risque de rejeter l'hypothèse nulle alors qu'elle est vraie. Dans notre cas, cela reviendrait à dire que toutes les valeurs suivent une distribution normale alors que ce n'est pas le cas. Il a été choisi de prendre pour valeur  $\alpha$  0,05 cela signifie que l'intervalle de confiance de notre résultat est de 95%. [74]

La valeur p (p-value) du test est plus grande que la valeur  $\alpha$  donc on ne rejette pas l'hypothèse nulle. Il n'y a pas de valeur aberrante pour un  $\alpha$  de 0,05.

Il est aussi possible de visualiser des valeurs aberrantes en traçant un diagramme en boîte à moustache. Celui pour cet ensemble est représenté par la Figure 5-7.



**Figure 5-7 - Boîte à moustache représentant la taille des particules dans les solutions de Docetaxel préparées avec du NaCl 0,9 % et contenues dans des bouteilles de polypropylène ambrées**

Aussi bien le test de Grubb que la représentation en boîte à moustache ne donnent pas de valeur aberrante. La taille des particules ne semble pas évoluer au cours du temps pour les solutions préparées avec du NaCl 0,9 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène ambrées, quelle que soit la température d'entreposage.

Pour les solutions préparées avec du glucose 5 %, il a été possible d'obtenir une obscuration suffisante pour les différentes conditions d'entreposage lors du premier jour de test. Le module a été changé en même temps (jour 43) que pour les solutions préparées avec le NaCl 0,9 %.

Le Tableau 5-3 présente les résultats pour les solutions préparées avec du glucose 5 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène claires.

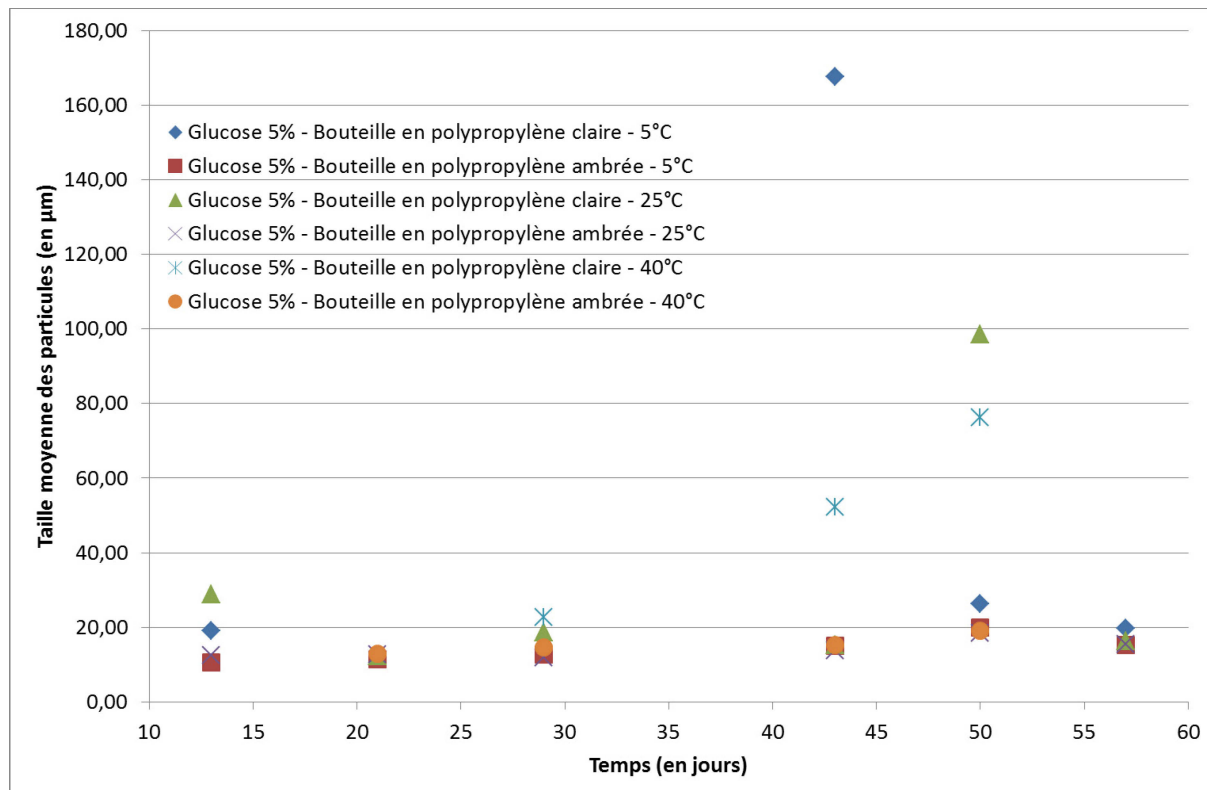


Figure 5-8 - Évolution de la taille moyenne des particules dans les solutions de Docetaxel préparées avec du glucose 5 % en fonction du temps

Tableau 5-3 - Taille moyenne des particules dans les solutions préparées avec du glucose 5 % et entreposées dans des bouteilles en polypropylène claires

Température d'entreposage		5 °C	25 °C	40 °C
Taille moyenne des particules (en µm, moy±SD, n=3)	Jour 13	19,0 ± 0,4	28,8 ± 0,1	Pas de mesure
	Jour 21	Pas d'obscuration	12,4 ± 0,3	Pas d'obscuration
	Jour 29	Pas d'obscuration	18,7 ± 0,5	22,8 ± 0,4
	Jour 43	167,7 ± 18,0	15,2 ± 0,6	52,2 ± 3,1
	Jour 50	26,4 ± 0,5	98,6 ± 8,5	76,3 ± 1,5
	Jour 57	19,6 ± 0,1	16,3 ± 0,8	Pas de mesure



La taille moyenne des particules entreposées dans les bouteilles ambrées et préparées avec du glucose 5 % varie beaucoup.

Au jour 43, les tailles moyennes des solutions entreposées à 5 et 40 °C sont plus importantes que celles des solutions préparées avec du NaCl 0,9 % le même jour et aux mêmes températures.

Au jour 50, les solutions entreposées à 25 et 40 °C ont des tailles plus importantes que celles des solutions préparées avec du NaCl 0,9 % le même jour et aux mêmes températures.

Néanmoins au jour 57, les tailles des particules sont dans le même ordre de grandeur que les solutions préparées avec du NaCl 0,9 %.

Dans cet ensemble, des valeurs aberrantes semblent être présentes. Le test de Dixon est réalisé à l'aide du logiciel Minitab. L'ensemble étant composé de 13 valeurs le test choisi est le r21. Les résultats de ce test sont présentés dans la Figure 5-9.

#### Outlier Test: Glucose 5% Bouteille claire

##### Method

Null hypothesis All data values come from the same normal population  
 Alternative hypothesis Smallest or largest data value is an outlier  
 Significance level  $\alpha = 0,05$

##### Dixon's r21 Ratio Test

Variable	N	Min	x[2]	x[3]	x[N-2]	x[N-1]	Max	r21	P
Glucose 5% Bouteille cla	13	12,4	15,2	16,3	76,3	98,6	167,7	0,60	0,028

x[i] denotes the ith smallest observation.

##### Outlier

Variable	Row	Outlier
Glucose 5% Bouteille cla	13	167,7

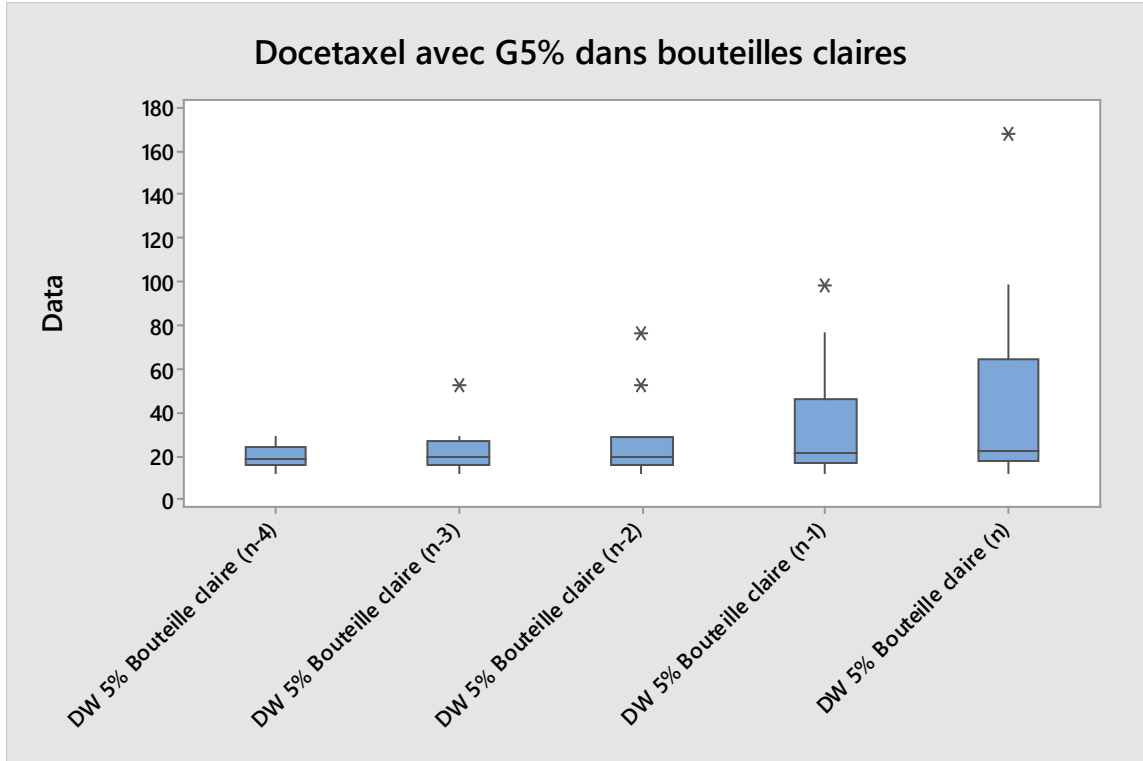
Figure 5-9 - Résultats du test de Grubb pour les solutions préparées avec du glucose 5 % et contenue dans des bouteilles en polypropylène claires

La valeur 167,7 est aberrante. Pour savoir si d'autres valeurs sont aberrantes, elle est retirée de l'échantillon et le test est réalisé avec les autres valeurs. Cette étape est répétée

jusqu'à ce qu'aucune valeur aberrante ne soit détectée. Les résultats sont présentés dans le Tableau 5-4. La Figure 5-10 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** représente les diagrammes en boîte à moustache pour les différents ensembles. Les astérisques représentent les valeurs aberrantes. Tant que la p-value est supérieure à  $\alpha$ , il y a une valeur aberrante.

**Tableau 5-4 - Résultats des tests de Dixon pour les solutions de Docetaxel avec du glucose 5 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène claires**

Variable	N	Test/valeur de $r_{ij}$	p	Valeur aberrante
DW 5% - Bouteilles claires (n)	13	r21 / 0,60	0,028	167,7
DW 5% - Bouteilles claires (n-1)	12	r21 / 0,56	0,043	98,6
DW 5% - Bouteilles claires (n-2)	11	r21 / 0,78	0,001	76,3
DW 5% - Bouteilles claires (n-3)	10	r11 / 0,63	0,011	52,2
DW 5% - Bouteilles claires (n-4)	9	r11 / 0,20	0,952	aucune



**Figure 5-10 - Boîte à moustache représentant la taille des particules dans les solutions de Docetaxel préparées avec du glucose 5 % et contenues dans des bouteilles de polypropylène claires**

Ces différents tests ont permis de mettre en évidence quatre valeurs aberrantes : 52,2  $\mu\text{m}$ , 76,3  $\mu\text{m}$ , 98,6  $\mu\text{m}$  et 167,7  $\mu\text{m}$ . On remarque que pour le troisième test (n-2 valeurs), il y a deux valeurs qui sont aberrantes, ceci est confirmé par le test suivant à n-3 valeurs.

Les valeurs obtenues pour les solutions entreposées à 40 °C (52,2  $\mu\text{m}$  et 76,3  $\mu\text{m}$ ) sont aberrantes par rapport aux données obtenues pour les autres températures. De plus les tailles moyennes des particules pour ces solutions semblent augmenter au cours du temps (pour les trois mesures obtenues). Par manque de solution, il n'a pas été possible de continuer les mesures au-delà du temps jour 50, mais il semblerait que la taille des particules augmente avec le temps pour ces conditions.

Les autres valeurs aberrantes (167,7  $\mu\text{m}$  à 5 °C et 98,8  $\mu\text{m}$  à 25 °C) ne permettent pas de mettre en évidence une tendance concernant l'évolution de la taille des particules. Ces résultats ne sont pas apparus le même jour, un problème avec l'équipement (problème de calibration) ne peut pas être une explication pour ces valeurs aberrantes.

Les variations dans les tailles de particules ne semblent pas suivre de tendance identifiable.

Le Tableau 5-5 présente les résultats pour les solutions préparées avec du glucose 5 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène ambrées.

**Tableau 5-5 - Taille moyenne des particules dans les solutions préparées avec du glucose 5 % et entreposées dans des bouteilles en polypropylène ambrées**

Température d'entreposage		5 °C	25 °C	40 °C
Taille moyenne des particules (en $\mu\text{m}$ , moy $\pm$ SD, n=3)	Jour 13	10,6 $\pm$ 0,1	12,5 $\pm$ 0,3	Pas de mesure
	Jour 21	11,5 $\pm$ 0,1	12,8 $\pm$ 0,2	13,0 $\pm$ 0,2
	Jour 29	12,6 $\pm$ 0,2	12,0 $\pm$ 0,2	14,7 $\pm$ 0,4
	Jour 43	15,0 $\pm$ 0,3	13,7 $\pm$ 0,5	15,3 $\pm$ 0,5
	Jour 50	20,0 $\pm$ 0,8	18,5 $\pm$ 0,8	19,0 $\pm$ 4,5
	Jour 57	15,2 $\pm$ 0,3	15,6 $\pm$ 0,4	Pas de mesure

Le test de Grubb est réalisé pour savoir si certaines des valeurs obtenues sont aberrantes par rapport à l'ensemble des données. La Figure 5-11 et la Figure 5-12 représentent respectivement les résultats obtenus pour le test de Grubb et la représentation en boîte à moustache les résultats obtenus pour les solutions préparées avec du glucose 5 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène ambrées.

### **Outlier Plot of G5% Bouteille claire (n-4)**

### **Outlier Test: Glucose 5% Bouteille ambrée**

#### Method

Null hypothesis All data values come from the same normal population  
Alternative hypothesis Smallest or largest data value is an outlier  
Significance level  $\alpha = 0,05$

#### Grubbs' Test

Variable	N	Mean	StDev	Min	Max	G	P
Glucose 5% Bouteille amb	16	14,506	2,746	10,600	20,000	2,00	0,533

\* NOTE \* No outlier at the 5% level of significance

**Figure 5-11 - Résultats du test de Grubb pour les solutions préparées avec du glucose 5 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène ambrées**

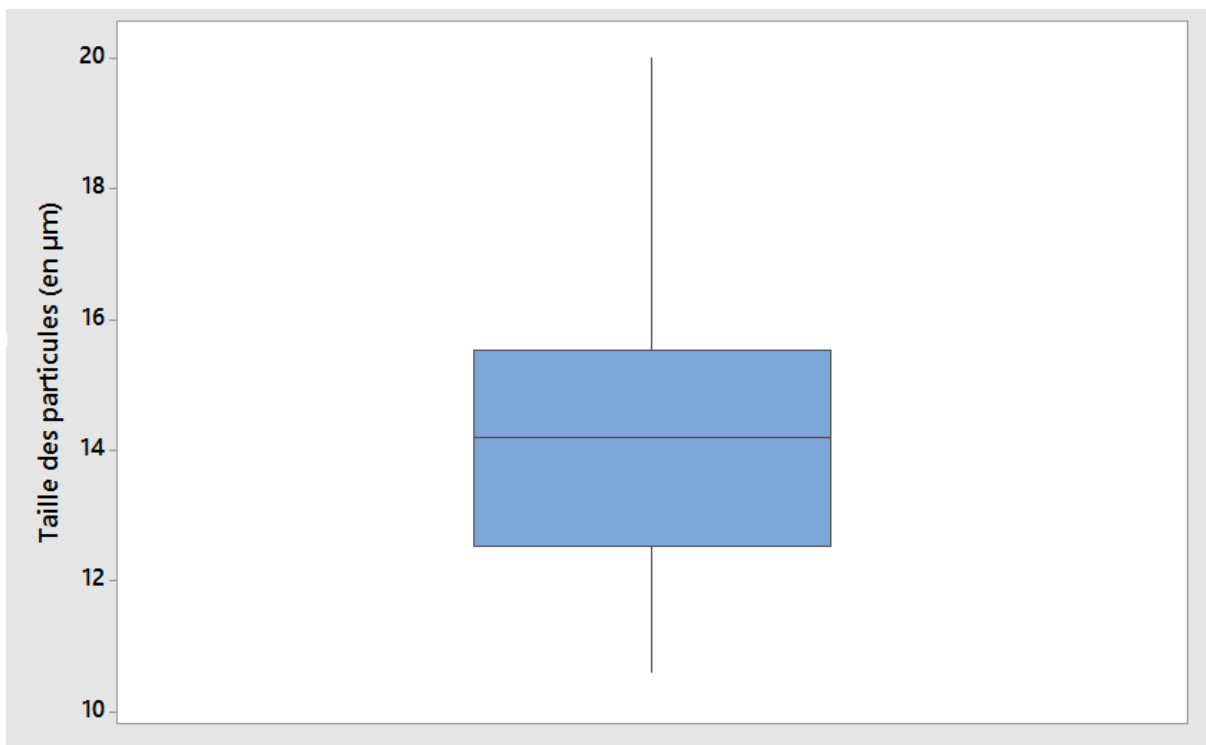
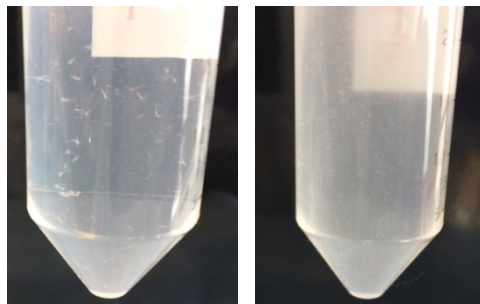


Figure 5-12 – Boîte à moustache représentant la taille des particules dans les solutions de Docetaxel préparées avec du glucose 5 % et contenues dans des bouteilles de polypropylène ambrées

Aucune valeur n'est considérée comme aberrante par ce test. Les tailles des particules ne varient pas de manière significative.

Les tailles des particules restent stables (variation entre 10,6  $\mu\text{m}$  et 20,0  $\mu\text{m}$ ), quelle que soit la température d'entreposage pour les solutions préparées avec du glucose 5 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène ambrées.

Le fait de ne pas avoir assez d'obscurité pour avoir une mesure ne signifie pas que la solution est exempte de particules. Sur la Figure 5-13, l'image de gauche présente une solution préparée dans du NaCl 0,9 % et maintenue à 40 °C dans une bouteille en polypropylène claire. L'obscurité n'a pas pu être obtenue bien que l'on puisse voir des particules à l'œil nu. L'image de droite présente une solution préparée dans du glucose 5 % et conservée dans les mêmes conditions. L'obscurité avec cette solution a été suffisante pour obtenir une mesure.



**Figure 5-13 - Solutions de Docetaxel préparée dans du NaCl 0,9 % (à gauche) et dans du glucose 5 % (à droite) contenues dans des bouteilles en polypropylène claires et entreposées à 40 °C**

Le contenant semble avoir un impact sur la taille des particules. En effet, les solutions contenues dans des bouteilles en polypropylène claires semblent avoir des particules de plus grandes tailles que celles contenues dans des bouteilles en polypropylène ambrées.

Les autres paramètres (température d'entreposage et diluant utilisé) ne semblent pas influencer sur la taille moyenne des particules.

### 5.3. Étude de précipitation

#### 5.3.1. Avec les solutions préparées pour l'étude de stabilité

À la suite de la découverte de ces particules, la question s'est posée de savoir si le Docetaxel est contenu dans les particules ou dans la solution. On a également voulu savoir s'il y avait une évolution au cours du temps de la répartition du Docetaxel entre les deux phases. Si le Docetaxel est uniquement présent dans les particules, cela implique que c'est lui qui précipite et il faudra chercher à comprendre ce mécanisme. Si le Docetaxel est présent uniquement dans la solution, cela implique qu'un autre élément de la composition du médicament précipite. Dans ce cas, il faudra déterminer lequel et travailler sur une nouvelle formulation afin de prévenir cette précipitation.

Une étude a été réalisée suivant la Figure 5-14. 1 mL a été prélevé des bouteilles puis centrifugé pendant 1 h 30 à 14 000 rpm afin de séparer les particules en suspension de la solution. Le précipité obtenu est séparé du surnageant puis solubilisé dans 1 mL de diméthylsulfoxyde (DMSO). Les échantillons sont vortexés pendant 20 secondes avant de remplir les flacons HPLC.

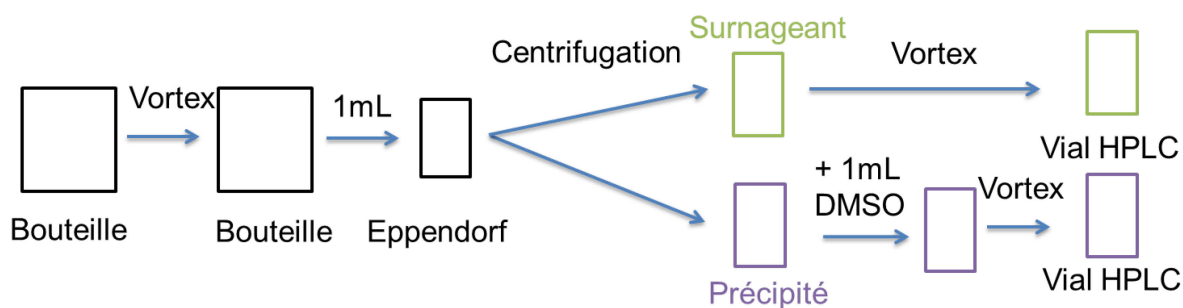


Figure 5-14- Schéma de la réalisation de la séparation du surnageant et du précipité

Les tests sont répétés avec 3 bouteilles différentes et chaque échantillon est analysé deux fois. Les résultats présentés dans le Tableau 5-6 et le

Tableau 5-7 correspondent à la moyenne des six analyses réalisées (les trois bouteilles analysées deux fois) avec l'écart-type associé.

Tableau 5-6 - Répartition du Docetaxel entre les phases de la suspension dans les bouteilles en polypropylène claires entreposées à 5 °C

% de Docetaxel par rapport à la concentration initiale					
Diluant		NaCl 0,9 %		Glucose 5 %	
Phases		Surnageant	Précipité	Surnageant	Précipité
Jours	22	101,6 ± 0,71	1,6 ± 1,27	28,1 ± 1,28	70,1 ± 2,63
	41	51,6 ± 6,44	41,3 ± 11,8	24,4 ± 1,94	72,7 ± 9,41
	99			19,7 ± 0,08	66,9 ± 4,81

Tableau 5-7 - Répartition du Docetaxel entre les phases de la suspension dans les bouteilles en polypropylène claires entreposées à 25 °C

% de Docetaxel par rapport à la concentration initiale					
Diluant		NaCl 0,9 %		Glucose 5 %	
Phases		Surnageant	Précipité	Surnageant	Précipité
Jours	43	98,6 ± 0,79	1,6 ± 0,66	18,6 ± 0,90	82,4 ± 1,07
	57	55,6 ± 29,86	33,9 ± 36,60	14,8 ± 0,18	84,4 ± 0,45
	86	22,3 ± 0,83	72,0 ± 6,63	11,9 ± 0,90	80,5 ± 0,94

Dans les solutions de Docetaxel préparées avec du glucose 5 %, le Docetaxel est présent en majorité dans le précipité (70 % dans les solutions conservées à 5 °C et 80-85 % dans les solutions conservées à 25 °C). Il ne semble pas y avoir d'évolution dans le temps entre les deux phases ce que l'on peut voir dans la Figure 5-15 et dans la Figure 5-16. On observe une perte de la quantité totale de la concentration au dernier point mesuré pour chacune des solutions. Cela peut être dû à une perte de produit lors de la séparation entre le surnageant et le précipité.

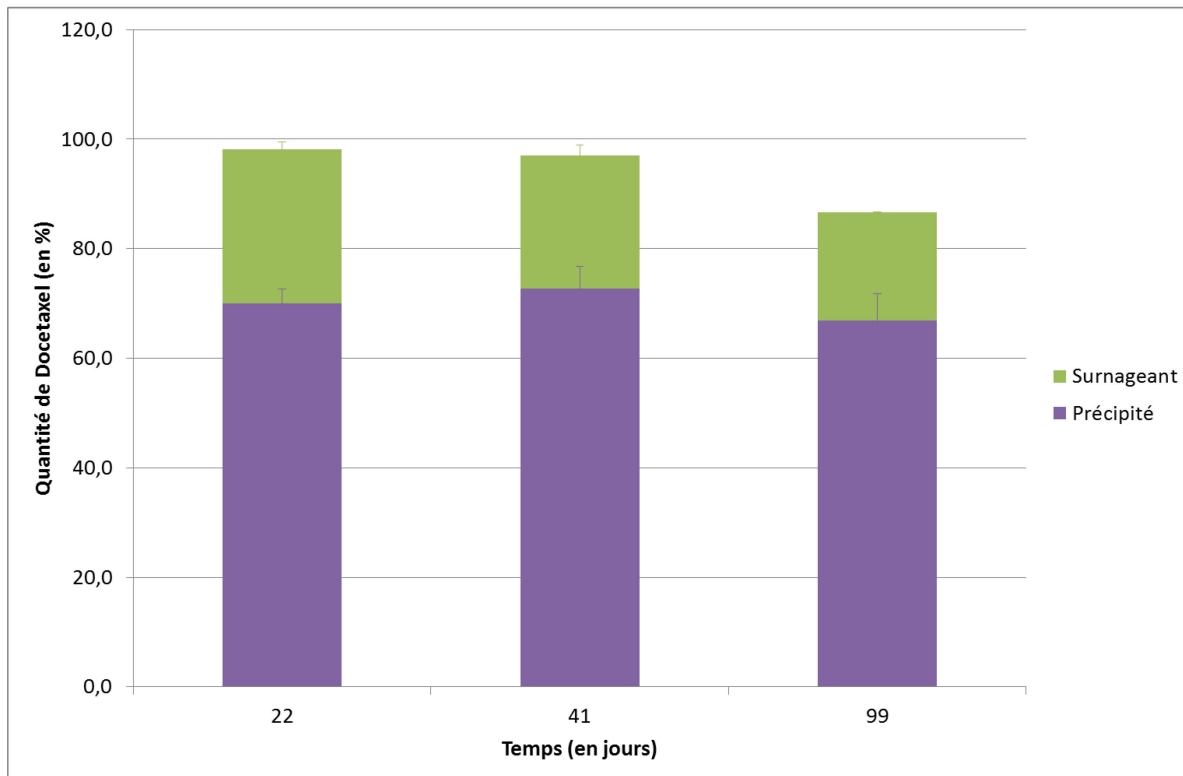




Figure 5-15 - Solution de Docetaxel préparée dans du glucose 5 % contenue dans des bouteilles en polypropylène claires à 5 °C

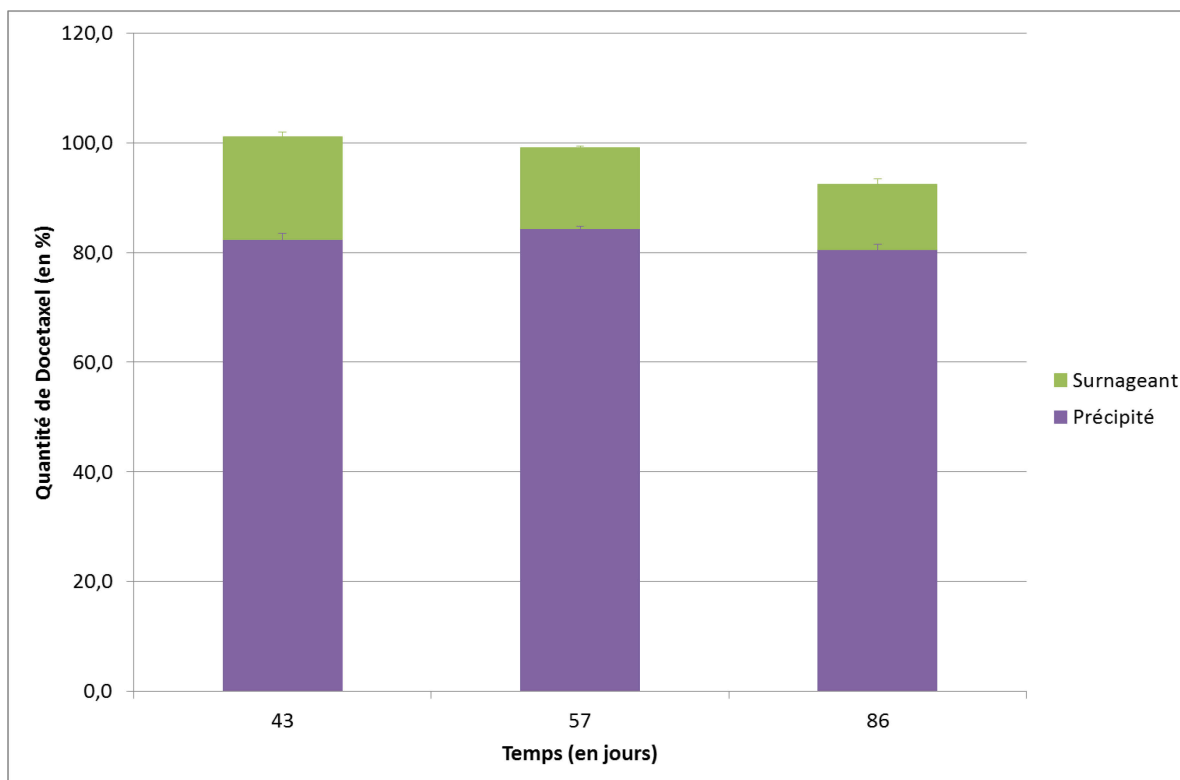


Figure 5-16 - Solution de Docetaxel préparée dans du glucose 5 % contenue dans des bouteilles en polypropylène claires à 25 °C

Dans les solutions de Docetaxel préparées avec du NaCl 0,9 %, le Docetaxel est d'abord présent en majorité dans le surnageant à 22 jours pour les solutions conservées à 5 °C et 43 jours pour les solutions conservées à 25 °C. Puis la concentration en Docetaxel diminue dans le surnageant et augmente dans le précipité. Ceci est présenté dans la Figure 5-17 et dans la Figure 5-18.

Les solutions ayant peu ou pas de Docetaxel dans le précipité correspondent aux solutions pour lesquelles, même après centrifugation, le précipité était quasiment inexistant. Le précipité ou les particules en suspension seraient donc constitués de Docetaxel.

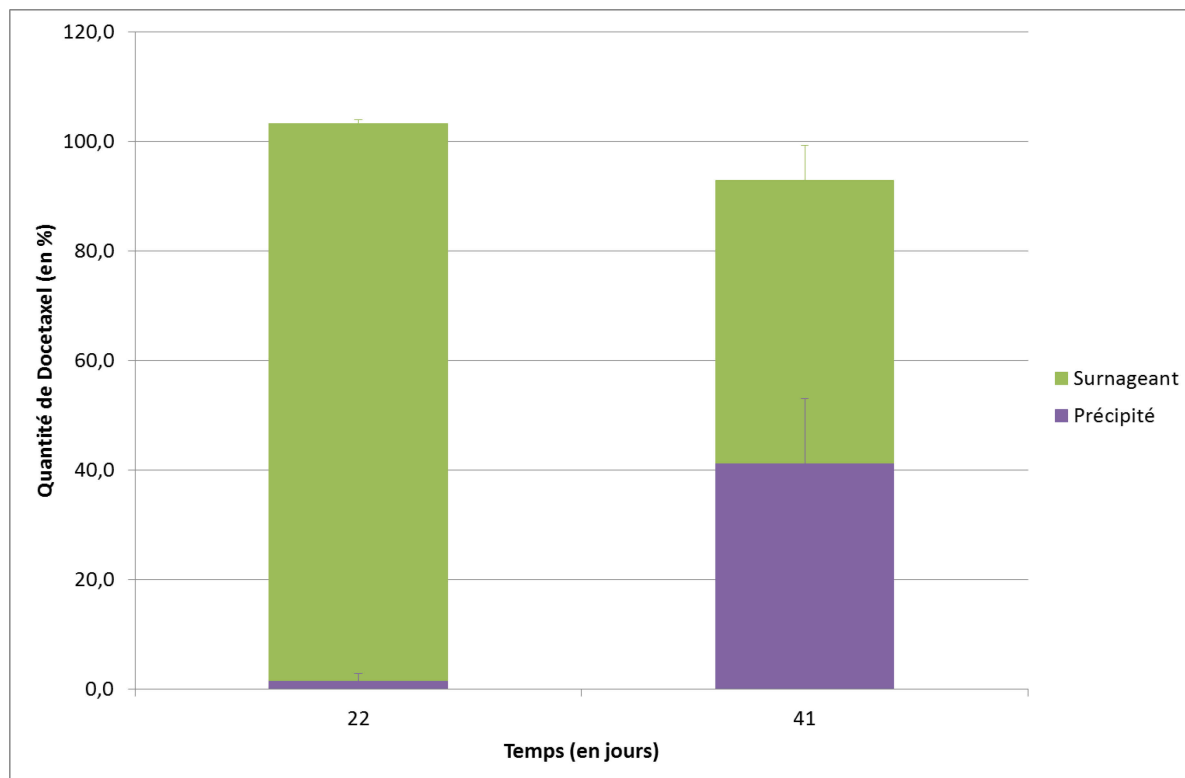


Figure 5-17 - Solution de Docetaxel préparée dans du NaCl 0,9 % contenue dans des bouteilles en polypropylène claires à 5 °C

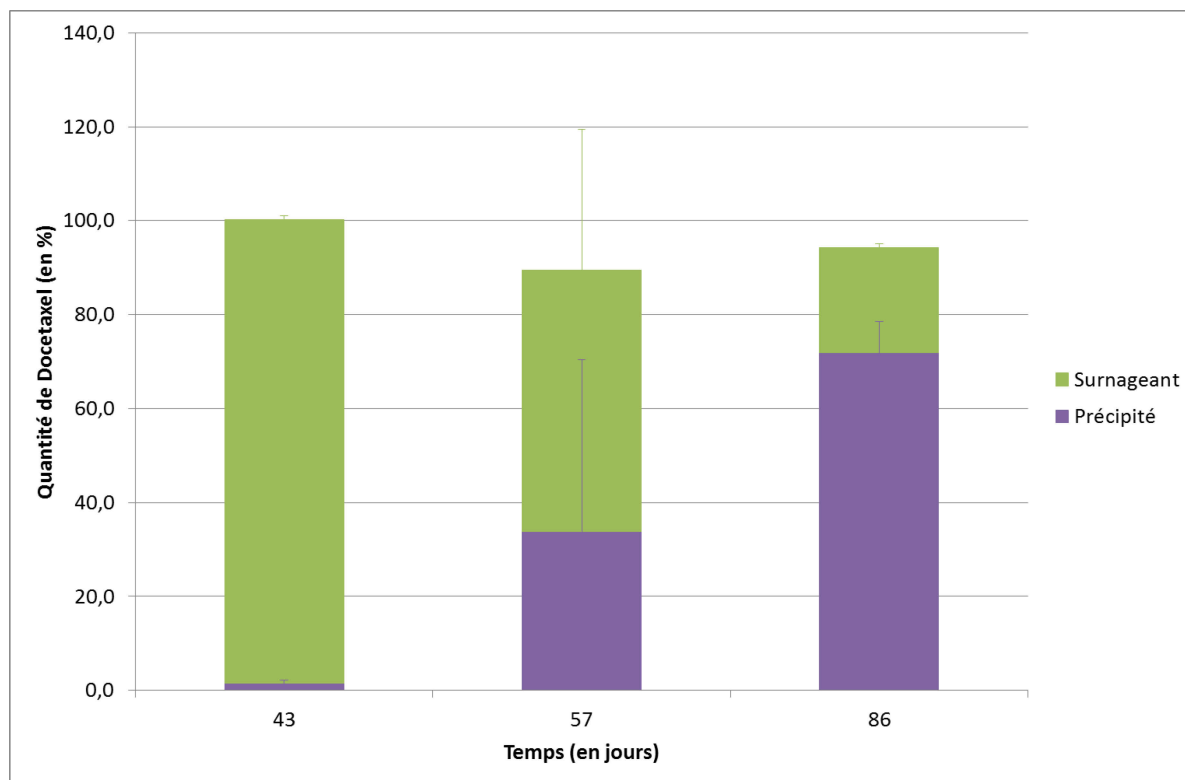


Figure 5-18 - Solution de Docetaxel préparée dans du NaCl 0,9 % contenue dans des bouteilles en polypropylène claires à 25 °C

Au jour 57, il y a une grande variation entre les analyses des trois bouteilles entreposées à 25 °C. Dans la bouteille A, le Docetaxel est presque uniquement présent dans le surnageant. Dans la bouteille C, le Docetaxel semble se répartir entre les deux phases alors que dans la bouteille B, il est préférentiellement présent dans le précipité. Ces résultats sont présentés dans la Figure 5-19.

La formation des particules de Docetaxel lorsqu'il est en solution avec du NaCl 0,9 % et contenu dans des bouteilles en polypropylène claires, se fait autour de ce temps (57 jours) lors d'un entreposage à 25 °C.

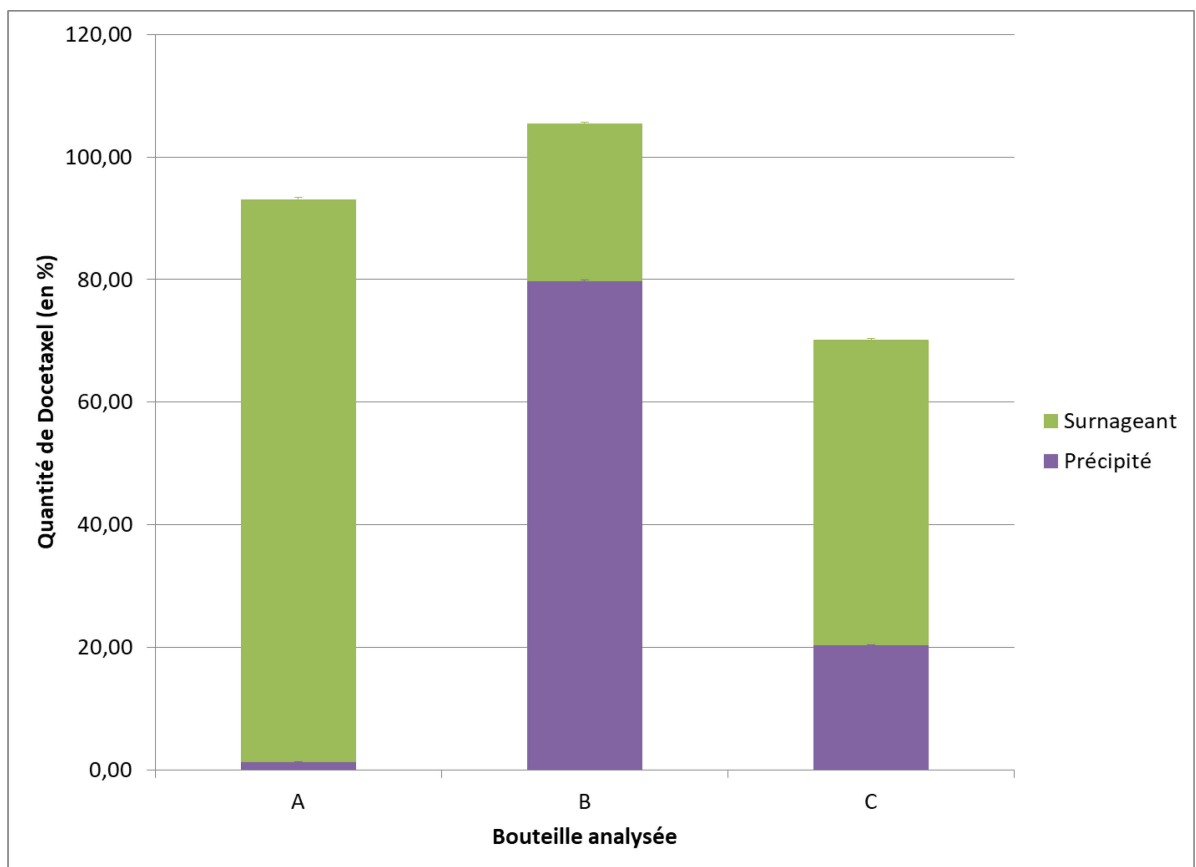


Figure 5-19 - Résultats pour les différentes bouteilles entreposées à 25 °C au jour 57

L'étude de la répartition du Docetaxel a permis de démontrer que le Docetaxel est présent dans le précipité. L'apparition des particules est reliée à la diminution de la quantité de Docetaxel dans le surnageant.

L'apparition des particules de Docetaxel dans les solutions préparées avec du glucose 5 % s'est faite avant le début des mesures autour du jour 22 pour les solutions entreposées à 5 °C et au jour 43 pour les solutions à 25 °C. Il ne semble pas y avoir d'évolution dans le temps par la suite.

Pour les solutions préparées avec du NaCl 0,9 %, l'apparition des particules se fait plus tard. Cela commence autour du jour 41 pour les solutions entreposées à 5 °C et autour du jour 57 pour les solutions entreposées à 25 °C. La grande variabilité entre les bouteilles entreposées à 25 °C est due au fait que la précipitation a commencé uniquement dans certaines bouteilles au jour 57.

Par manque de solutions disponibles, il n'a pas été possible de continuer l'étude pour savoir si la répartition du Docetaxel dans les deux phases avait atteint un plateau ou si elle allait encore évoluer pour les solutions préparées avec du NaCl 0,9 %.

### 5.3.2. Suivi de l'évolution temporelle du nombre de particules

Une nouvelle solution a ensuite été préparée deux fois à des dates différentes (lot A et lot B). La concentration choisie est de 0,3 mg.mL<sup>-1</sup> dans du NaCl 0,9 %. Il a été décidé de doubler la concentration en Docetaxel pour favoriser l'apparition de particules dans la solution. Les solutions ont été filtrées sous vide avec un filtre de 0,22 µm avant le remplissage des bouteilles en polypropylène claires. Ces dernières ont été entreposées à 25 °C.

Des analyses ont été réalisées toutes les heures entre le moment de la préparation et le temps 8 heures puis entre 22 et 25 heures. Un compte de particules ainsi qu'une analyse HPLC ont été réalisés. Le but de ce test est de déterminer s'il y a un lien entre

---

l'augmentation du nombre de particules en suspension et la quantité de Docetaxel restant dans la solution.

La Figure 5-20 représente le nombre de particules en fonction du temps pour le lot A. La Figure 5-21 représente le nombre de particules en fonction du temps pour le lot B et la Figure 5-22 correspond aux mêmes données, mais en gardant les mêmes valeurs pour l'axe du nombre des particules que pour le lot A. Cela permet de voir les valeurs qui sont au-dessus de la limite pour les particules ayant une taille supérieure à 10  $\mu\text{m}$ .

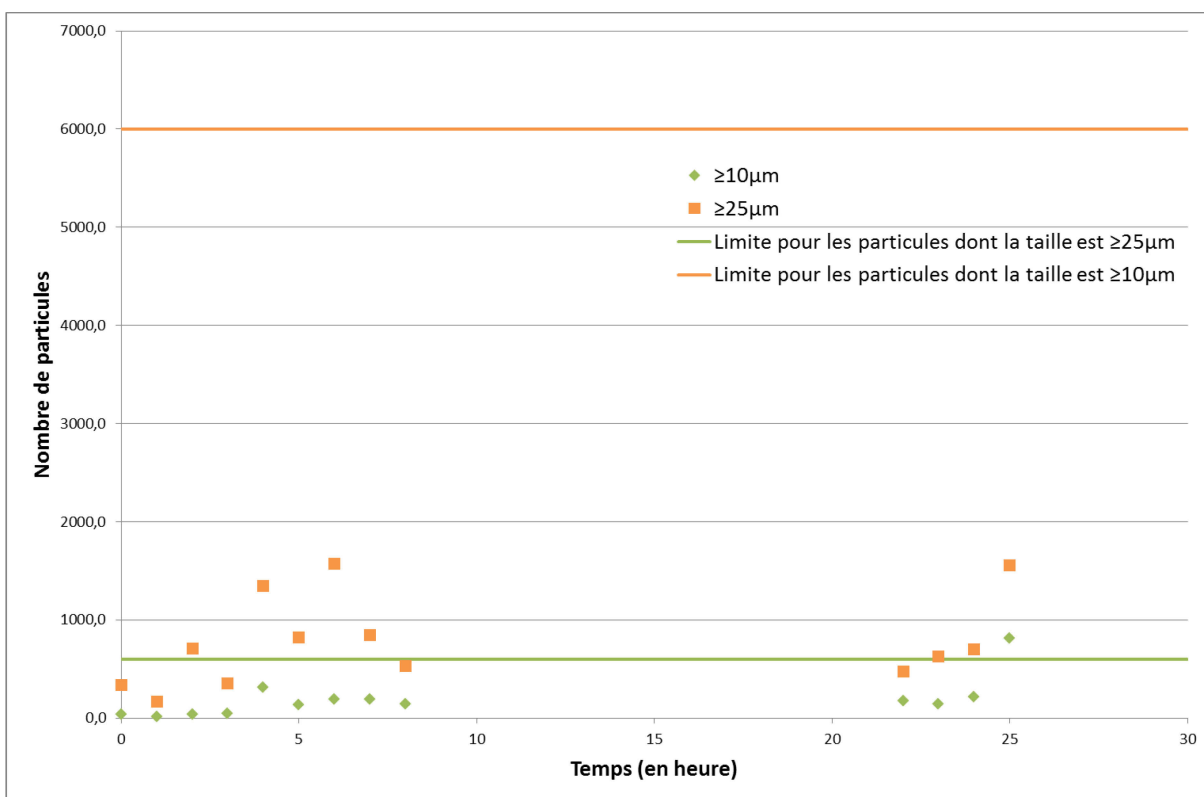


Figure 5-20 - Nombre de particules en fonction du temps pour le lot A

Au cours des analyses de la première solution préparée (lot A), le nombre de particules présentes dans la solution est inférieur aux spécifications.

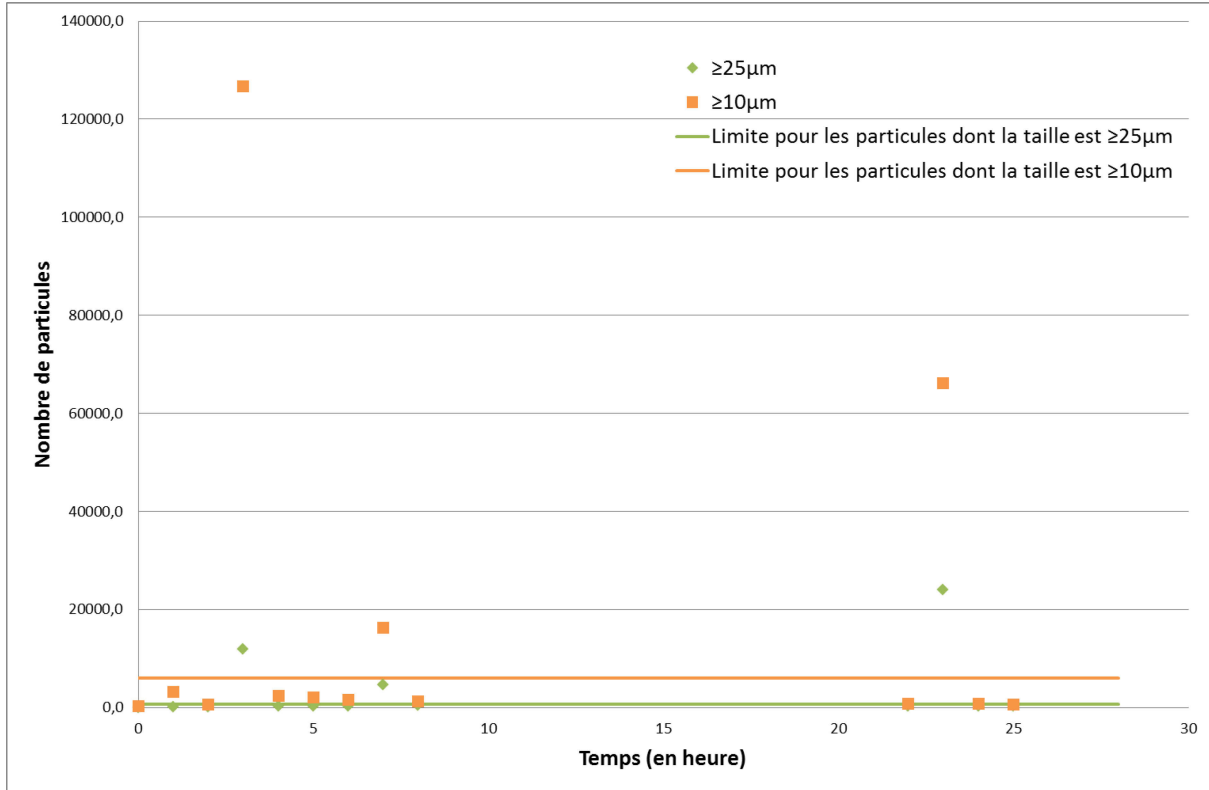


Figure 5-21 - Nombre de particules en fonction du temps pour le lot B

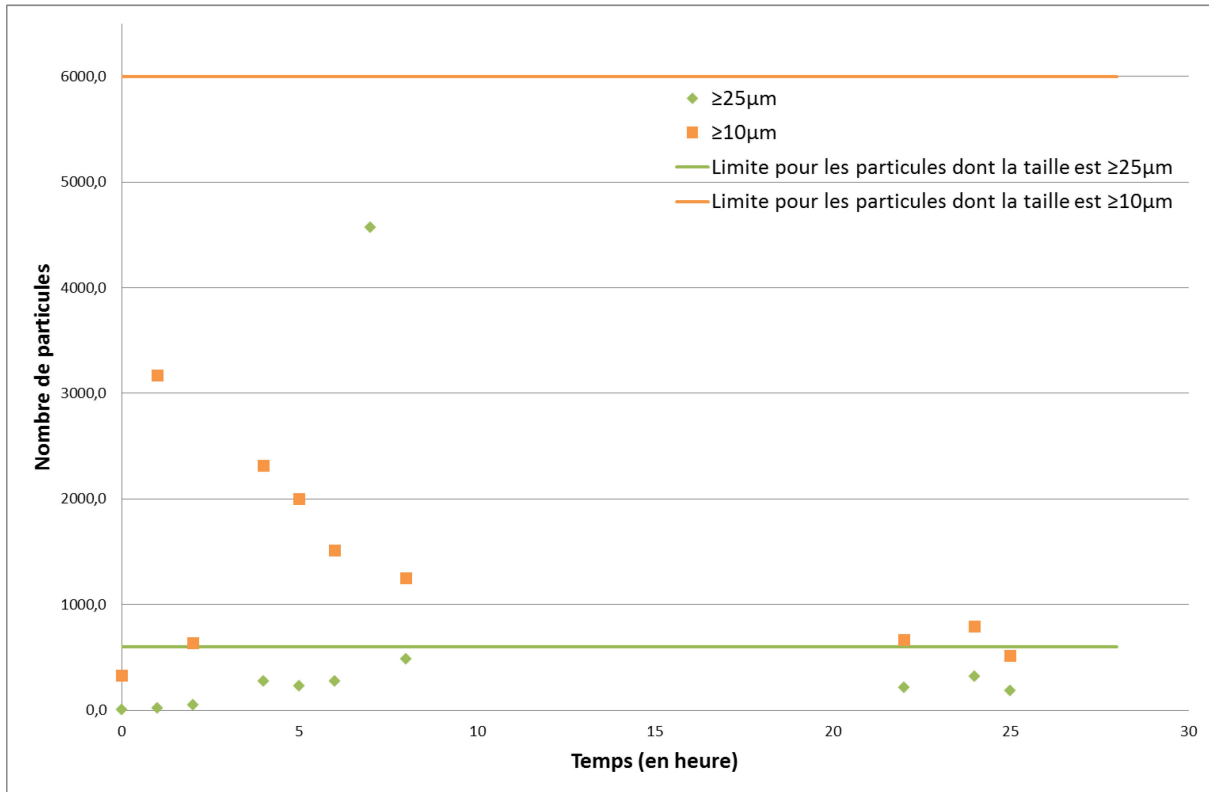


Figure 5-22 - Nombre de particules en fonction du temps pour le lot B (centré sur les limites)

Au cours des analyses de la seconde solution préparée (lot B), le nombre de particules présentes dans la solution est à trois reprises au-dessus des spécifications, aux temps 3 heures, 7 heures et 23 heures.

Dans chaque bouteille utilisée pour un compte de particules, un prélèvement a été réalisé. Ce dernier a servi à la réalisation d'une analyse HPLC afin de suivre la concentration en Docetaxel dans la solution au cours du temps. Chaque échantillon a été analysé deux fois.

La concentration en Docetaxel varie en fonction du temps.

Pour le lot A, la concentration en Docetaxel varie entre 100 % et 80 % jusqu'à sept heures, puis après huit heures on observe une chute de la concentration allant de 70,4 % jusqu'à 51,9 % à 25 heures (fin de l'étude).

Pour le lot B, les trois temps pour lesquels le nombre de particules est plus élevé que les spécifications correspondent aux concentrations les plus faibles en Docetaxel en solutions :

- À 3 heures : 71,1 % de Docetaxel
- À 7 heures : 77,5 % de Docetaxel
- À 23 heures : 67,9 % de Docetaxel

Pour les autres temps, la concentration en Docetaxel varie entre 100 % et 80 % de la concentration initiale. Ces résultats sont présentés dans la Figure 5-23.

---

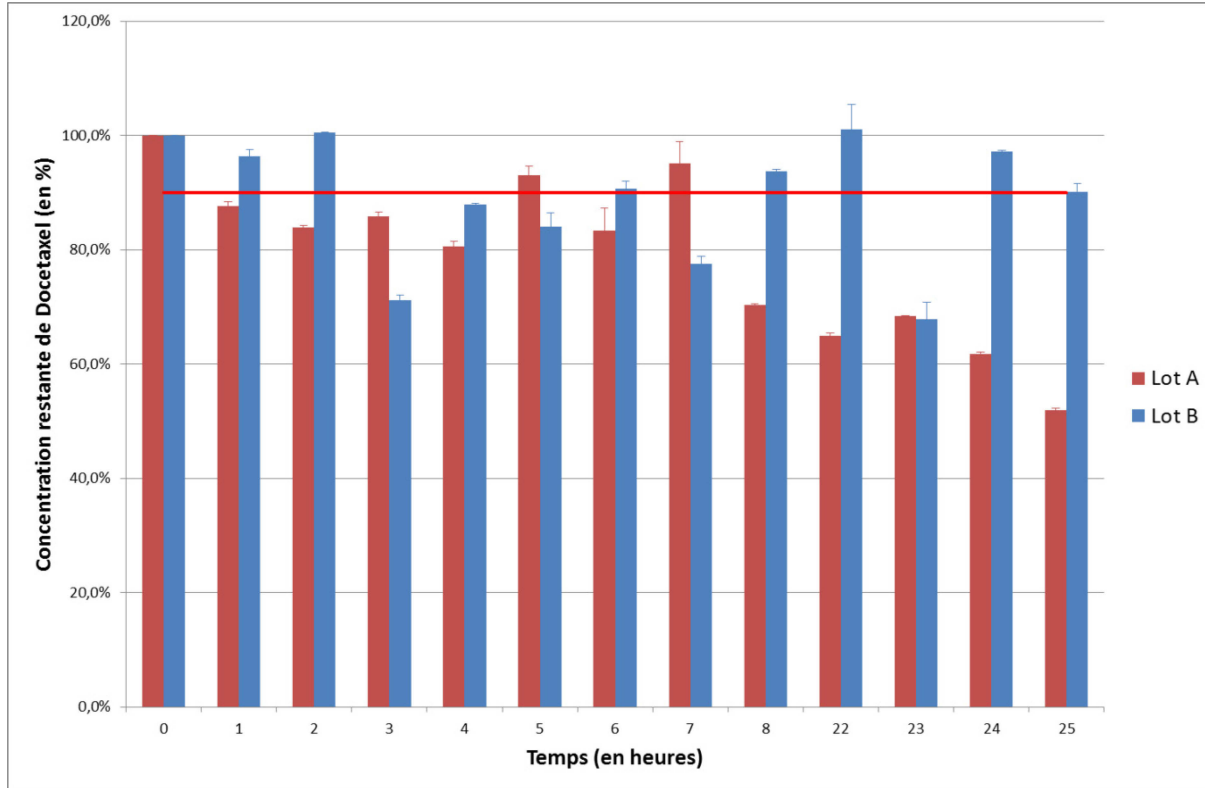


Figure 5-23 - Concentration en Docetaxel dans les solutions au cours du temps

Cette étude ne permet pas d'établir une cinétique d'apparition des particules dans les solutions de Docetaxel au cours du temps. La variation au sein des bouteilles semble indépendante du temps.

L'apparition plus ou moins rapide des particules est due à un autre facteur, possiblement la présence d'un élément dans la solution ou le contenant qui initie la création des particules.

Plusieurs articles [39][73] notent également l'apparition de la précipitation du Docetaxel dans certains de leur conditionnement. Ces articles n'apportent pas d'éléments permettant de comprendre la raison de cette précipitation. Il est recommandé dans le résumé des caractéristiques du produit d'inspecter la poche à perfusion pour des risques de précipitation avant administration [11]. Le processus d'apparition de la précipitation lui n'est pas connu.



Les autres produits composant la solution concentrée de Docetaxel sont le propylène glycol, le polysorbate 80-HX, l'acide citrique, l'édétate de disodium et de l'éthanol absolu. Les valeurs des solubilités de chacun des excipients sont présentées dans le Tableau 5-8.

**Tableau 5-8 - Seuil de solubilité des excipients des solutions concentrées de Docetaxel**

<b>Composé</b>	<b>Solubilité</b>
Propylène glycol	$10^6 \text{ mg.L}^{-1}$ [75]
Polysorbate 80-HX	$1.9 \cdot 10^2 \text{ mg.L}^{-1}$ [76]
Acide citrique	$3.83 \cdot 10^5 \text{ mg.L}^{-1}$ [77]
Édétate de sodium	$1.0 \cdot 10^6 \text{ mg.L}^{-1}$ [78]
Éthanol absolu	$10^6 \text{ mg.L}^{-1}$ [79]

Les concentrations des excipients dans les solutions diluées de Docetaxel sont en dessous des seuils de solubilité.

La concentration en Docetaxel est plus faible dans le surnageant lorsque le nombre de particules est très élevé (à 3, 7 et 23 heures pour le lot B), ce qui concorde avec l'étude précédente en ce qui a trait à la répartition du Docetaxel entre les deux phases (surnageant et précipité).

Cela corrobore l'étude précédente qui a mis en évidence la présence de Docetaxel dans le précipité formé par les particules.

Cette étude n'a pas permis de déterminer une cinétique d'apparition des particules dans les solutions.

### 5.3.3. Étude de la répartition du Docetaxel entre les deux phases

Afin de confirmer les résultats obtenus précédemment, une nouvelle solution a été préparée pour étudier la répartition du Docetaxel dans les deux phases lors de la cristallisation du produit.

Des solutions de  $1,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  dans du NaCl 0,9 % et dans du glucose 5 % sont entreposées à  $40^\circ\text{C}$  jusqu'à l'obtention d'un précipité important. Neuf flacons en verre ont été préparés pour chaque solution. Les flacons sont observés à différents temps pour savoir si un précipité se forme.

Dans les flacons contenant la solution préparée avec le NaCl 0,9 %, aucune précipitation n'apparaît entre le temps 0 et 98 jours.

Dans les flacons contenant la solution préparée avec le glucose 5 %, une légère précipitation apparaît à partir du jour 2 dans deux flacons comme dans la Figure 5-24. Cette précipitation va augmenter au cours des jours suivants comme la Figure 5-25. Par contre dans les sept autres flacons aucune précipitation n'apparaît.



Figure 5-24 - Apparition d'un cristal après 2 jours dans un flacon contenant une solution de Docetaxel dans le glucose 5 % à  $40^\circ\text{C}$

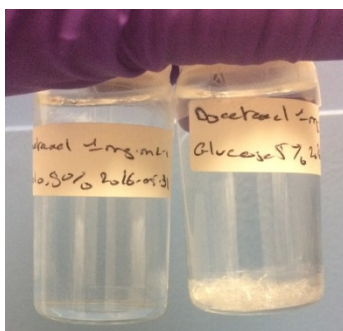


Figure 5-25 - Solution de Docetaxel dans du NaCl 0,9 % (à gauche) et dans du glucose 5 % (à droite) après 6 jours à  $40^\circ\text{C}$

Au jour 53, une des solutions de Docetaxel est analysée. Le précipité contient bien le Docetaxel.

Au jour 98, 100  $\mu\text{L}$  sont prélevés de la solution faite avec du glucose 5 % qui a précipité et sont injectés dans trois flacons dans lesquels la solution de Docetaxel préparée avec le NaCl 0,9 % n'avait pas précipité et dans deux flacons préparés avec le glucose 5 % (Figure 5-26) et qui n'ont pas précipité.

Une précipitation apparaît dans tous les flacons contaminés, mais toujours pas dans les autres flacons. Il semblerait que pour que la précipitation apparaisse il faille un noyau initial pour initier la formation des cristaux.



Figure 5-26 - Solution de Docetaxel dans du glucose 5 % présentant une précipitation sans contamination (à gauche) après contamination (au centre et à droite)

Deux flacons contenant des solutions non contaminées préparées avec le glucose 5 % sont devenus troubles après 117 jours (Figure 5-27). Après centrifugation, deux phases séparées sont distinguables. La partie claire a été analysée par HPLC.

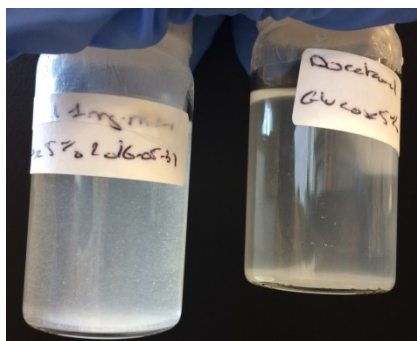


Figure 5-27 - Solution de Docetaxel dans du glucose 5 % devenue troubles

Les trois solutions sans précipitation visible avec chaque diluant ont été analysées ainsi que les surnageants des solutions présentant des précipitations, la solution qui a présenté une précipitation naturellement et celles dont la précipitation a été induite par une contamination. Les résultats sont présentés dans la Figure 5-28.

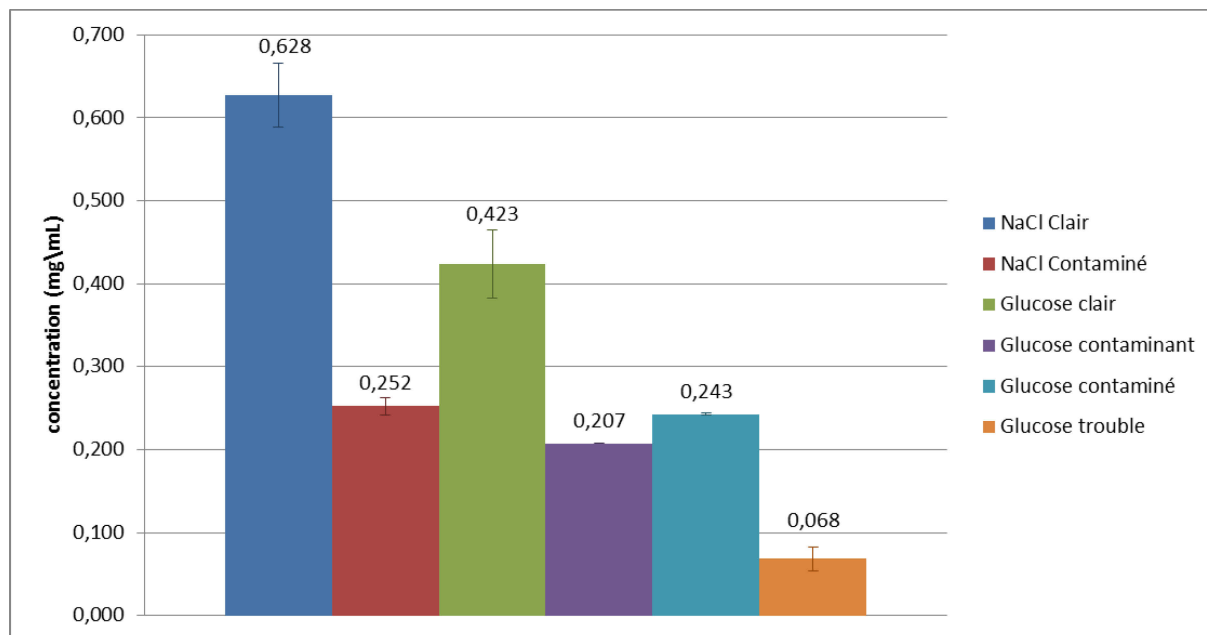


Figure 5-28 - Concentration en Docetaxel dans le surnageant des différentes solutions

La concentration restant dans le surnageant de la solution qui a permis de contaminer les autres solutions est de 20 % de la concentration initiale. La concentration dans les solutions contaminées est de 24-25 % de la concentration initiale. Les solutions ne présentant pas de précipitation ont une concentration restante de 63 % pour les solutions faites avec du NaCl 0,9 % et de 41 % pour celles préparées avec du glucose 5 %.

Les solutions troubles préparées avec du glucose ont une concentration restante en Docetaxel de 7 %.

Même si aucune précipitation n'est visible, le Docetaxel n'est pas stable en solution à 40 °C. L'apparition de cristaux ou de turbidité dans la solution engendre une diminution de la concentration de Docetaxel dans le surnageant par rapport aux solutions restées claires. La

dégradation du Docetaxel n'engendre pas forcément la formation de particules. Néanmoins, lorsque des particules apparaissent, la quantité de Docetaxel restant dans la solution diminue encore plus fortement.

Cette étude confirme également la nécessité de la présence d'un élément permettant l'initiation de la précipitation.

#### 5.3.4. Influence de la concentration initiale en Docetaxel

L'influence de la concentration en Docetaxel dans la solution initiale a été évaluée en parallèle. Différentes solutions ont été préparées avec le glucose 5 % et avec le NaCl 0,9 % avec des concentrations allant de 0,5 à 1,0 mg.mL<sup>-1</sup>. Trois flacons pour chaque concentration ont été préparés.

Après 20 jours, dans les solutions faites avec le glucose 5 %, un seul flacon présente une précipitation pour une concentration de 0,6 mg.mL<sup>-1</sup> (Figure 5-29)

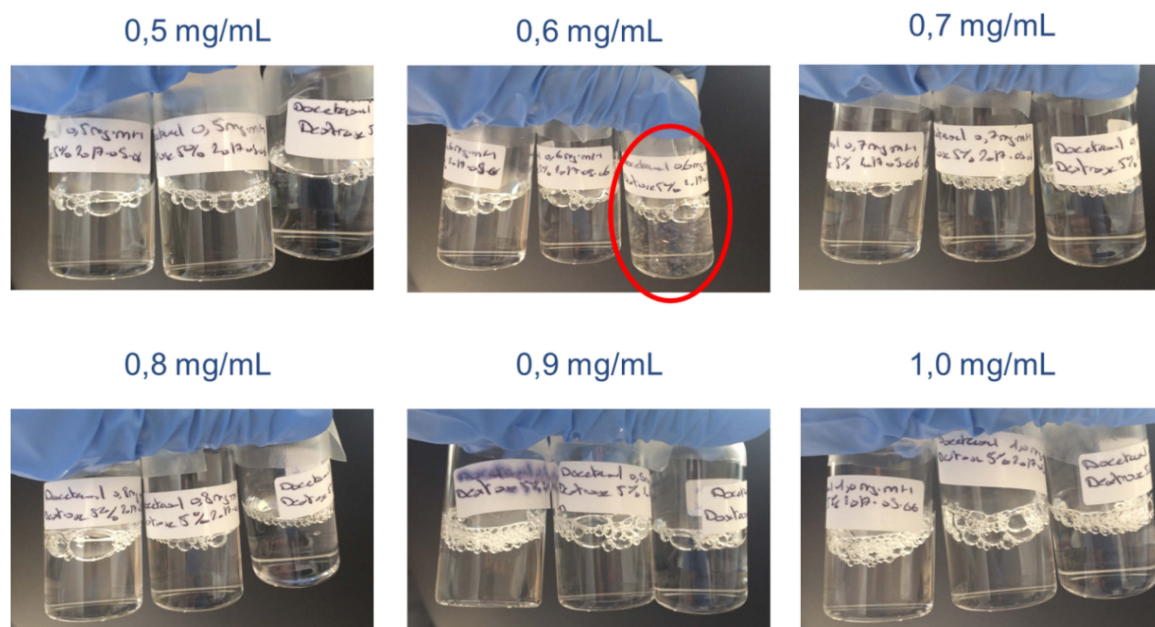


Figure 5-29 - Solution de Docetaxel préparée avec du glucose 5 % après 20 jours

Après 20 jours dans les solutions faites avec le NaCl 0,9 %, un seul flacon présente une précipitation à  $1,0 \text{ mg.mL}^{-1}$  (Figure 5-30)

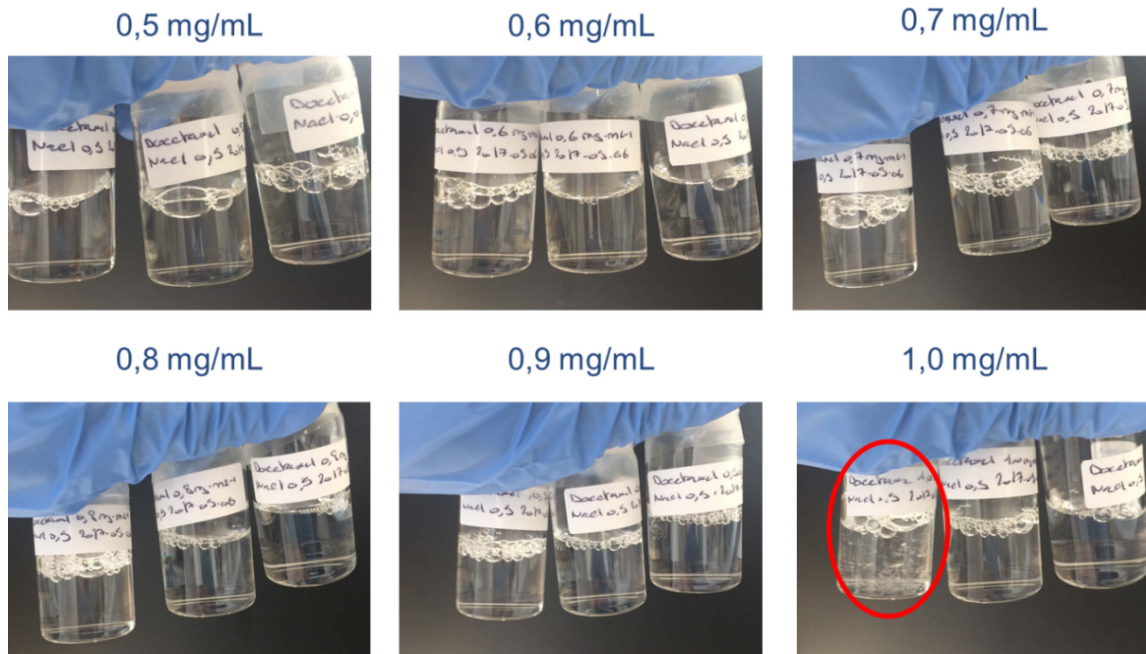


Figure 5-30 - Solution de Docetaxel préparée avec du NaCl 0,9 % après 20 jours

Après 88 jours, dans les solutions préparées avec du glucose 5 %, des précipités apparaissent dans un flacon ayant une concentration de  $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ , le flacon présentant une précipitation à  $0,6 \text{ mg.mL}^{-1}$  la présente toujours.

On observe des solutions troubles aux concentrations suivantes :  $0,8 \text{ mg.mL}^{-1}$  (les trois flacons),  $0,9 \text{ mg.mL}^{-1}$  (dans deux flacons) et  $1,0 \text{ mg.mL}^{-1}$  (dans deux flacons).

La Figure 5-31 représente les différentes solutions, celles présentant une précipitation sont entourées d'un cercle rouge.

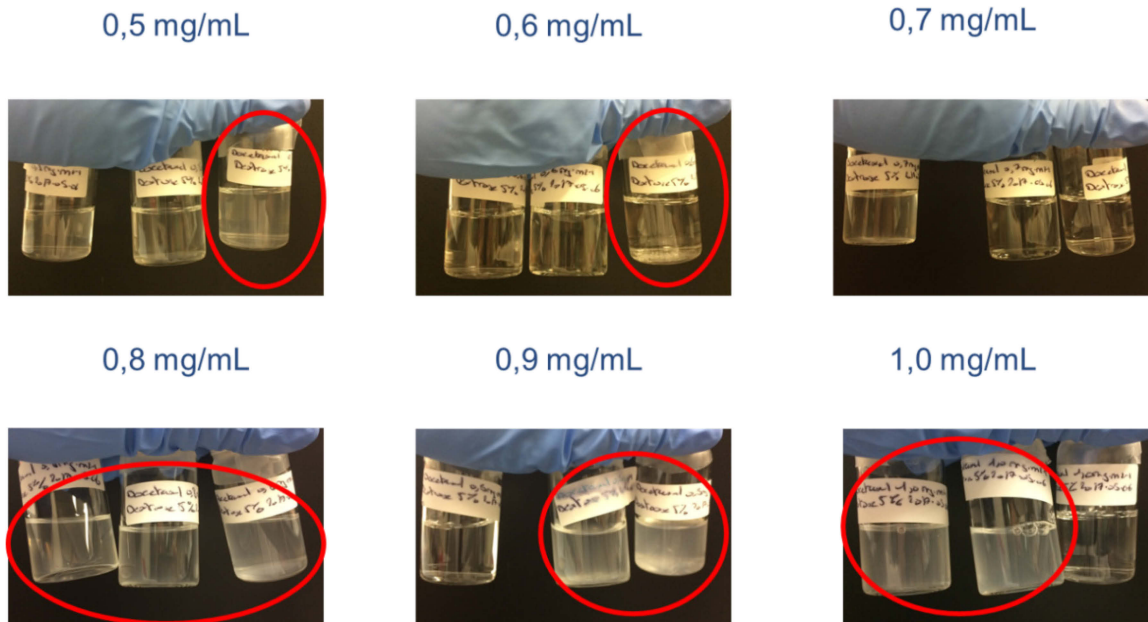


Figure 5-31 - Solution de Docetaxel préparée avec du glucose 5 % après 88 jours

Après 88 jours dans les solutions préparées avec du NaCl 0,9 %, des précipitations apparaissent dans un flacon ayant une concentration de  $0,9 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  et dans deux flacons ayant une concentration de  $1,0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (Figure 5-32).

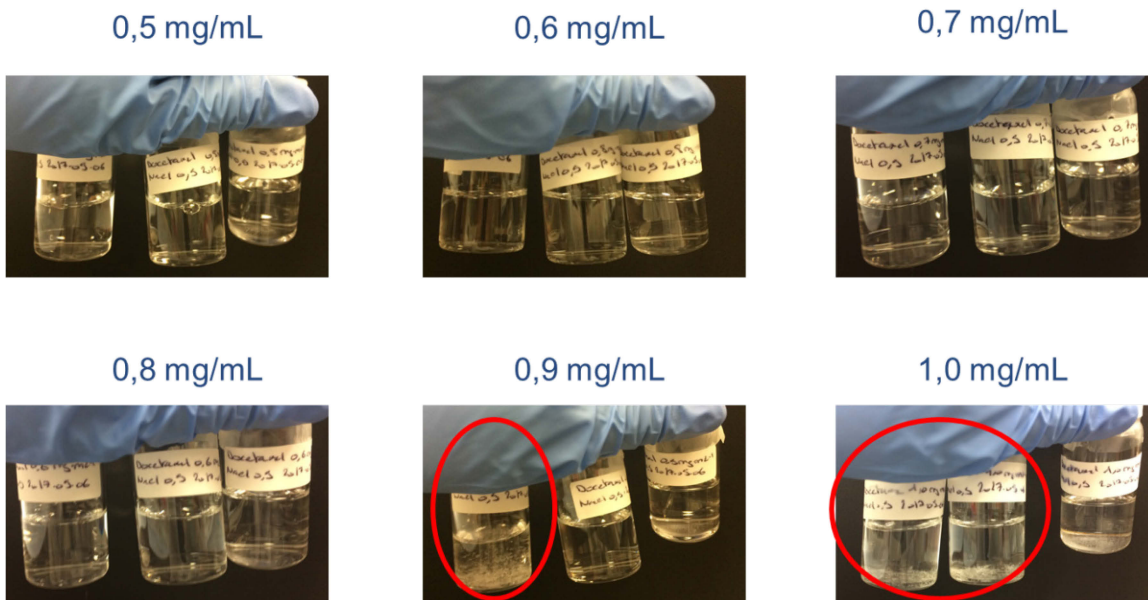


Figure 5-32 - Solution de Docetaxel préparée avec du NaCl 0,9 % après 88 jours

Le Tableau 5-9 résume l'apparition des particules dans les solutions en fonction de la concentration et du temps.

Tableau 5-9- Nombre de solutions présentant un précipité

Diluants		Nombre de solutions présentant un précipité											
		NaCl 0,9%						Glucose 5%					
Concentration (mg.mL <sup>-1</sup> )		0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
Temps (en jours)	20	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
	88	0	0	0	0	1	2	1	1	0	3	2	2

Cette étude ne permet pas de définir une concentration minimale à partir de laquelle la précipitation apparaît à chaque fois.

#### 5.4. Conclusion générale sur le Docetaxel

Les différentes études réalisées avec le Docetaxel ont permis de démontrer qu'il n'est pas stable en solution. En effet lors de l'étude de stabilité, après une journée, les solutions ont présenté un nombre élevé de particules lorsqu'elles étaient préparées avec du glucose 5% que le contenant soit des bouteilles en polypropylène claires ou ambrées et avec du NaCl 0,9% dans des bouteilles en polypropylène ambrées. Pour toutes les solutions, la quantification du Docetaxel n'a pas pu se faire, car les solutions ont précipité dans les fioles HPLC.

L'étude des particules retrouvées dans les solutions a montré qu'il s'agissait de Docetaxel. La présence de particules en suspension est donc un indicateur de sa non-stabilité. Néanmoins, l'absence de particules en solution ne permet pas à elle seule de conclure que le produit est stable. En effet, certaines solutions ne présentent pas de particules après plusieurs heures, mais la concentration en produit baisse. En l'absence de particules, le produit doit être administré dans les heures suivant sa préparation.

L'étude de l'évolution de la taille des particules a mis en évidence que le contenant a un impact sur la taille des particules. En effet, les solutions contenues dans des bouteilles en



polypropylène claires semblent avoir des particules de plus grandes tailles que celles contenues dans des bouteilles en polypropylène ambrées. Les autres paramètres (température d'entreposage et diluant utilisé) ne semblent pas influencer sur la taille moyenne des particules.

L'étude de la répartition du Docetaxel a permis de démontrer que le Docetaxel est présent dans le précipité. L'apparition des particules est reliée à la diminution de la quantité de Docetaxel dans le surnageant. L'apparition des particules de Docetaxel dans les solutions préparées avec du glucose 5 % se fait plus rapidement que dans les solutions préparées avec du NaCl 0,9%. L'apparition des particules se fait également plus rapidement lorsque les solutions sont entreposées à 5 °C plutôt qu'à 25 °C. Ces résultats sont présentés dans le Tableau 5-10.

**Tableau 5-10 - Apparition de la précipitation dans les solutions de Docetaxel**

<b>Diluant</b>	<b>NaCl 0,9%</b>		<b>Glucose 5 %</b>	
	<b>5 °C</b>	<b>25 °C</b>	<b>5 °C</b>	<b>25 °C</b>
<b>Température (°C)</b>	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C
<b>Précipitation (en jours)</b>	Commence jour 41	Commence jour 57	Avant jour 22	Avant jour 43

Un suivi sur une journée de l'apparition de particules de Docetaxel a été réalisé pour reproduire ce qu'il s'est passé durant le premier jour de l'étude de stabilité. Cette étude n'a pas permis de déterminer une cinétique d'apparition des particules dans les solutions. En effet, les particules n'apparaissent pas à partir d'un certain temps. Leur apparition semble plus dépendre de leur contenant. Néanmoins, la concentration en Docetaxel est plus faible dans le surnageant lorsque le nombre de particules est très élevé, ce qui concorde avec l'étude précédente en ce qui a trait à la répartition du Docetaxel entre les deux phases (surnageant et précipité).

Afin de confirmer la présence de Docetaxel dans le précipité, des solutions très concentrées en Docetaxel par rapport à la concentration de l'étude de stabilité ont été réalisées. La précipitation n'est apparue spontanément que dans deux solutions sur dix-huit. La précipitation est apparue dans tous les flacons qui ont été contaminés par une des solutions ayant présenté une précipitation naturelle. La concentration dans le surnageant à la fin de l'étude est faible pour toutes les solutions comme résumé dans le Tableau 5-11.

Tableau 5-11 - Concentration (en % de la concentration initiale) de Docetaxel dans le surnageant

Solutions	Concentration dans le surnageant à la fin de l'étude (en % de la concentration initiale)
Solution ayant spontanément précipitée	20%
Solution ayant précipitée après contamination	24-25%
Solution préparée avec du NaCl 0,9% ne présentant pas de précipitation	63%
Solution préparée avec du glucose 5% ne présentant pas de précipitation	41%
Solutions troubles préparées avec du glucose 5%	7%

L'apparition de cristaux ou de turbidité dans la solution engendre une diminution de la concentration de Docetaxel dans le surnageant par rapport aux solutions restées claires. La dégradation du Docetaxel n'engendre pas forcément la formation de particules. Néanmoins, lorsque des particules apparaissent, la quantité de Docetaxel restant dans la solution diminue encore plus fortement.

Une concentration minimale en dessous de laquelle la précipitation n'apparaîtrait pas ou au-dessus de laquelle elle apparaîtrait toujours n'a pas pu être mise en évidence. En effet, certaines solutions précipitent pour des concentrations de  $0.5 \text{ mg.mL}^{-1}$  alors que d'autres ayant une concentration plus élevée ne vont pas précipiter. L'inspection de chaque solution est nécessaire. Il faut s'assurer de l'absence de tout élément pouvant entraîner la précipitation (défaut dans le contenant, particule présente dans les contenants ou dans les équipements permettant le mélange et la préparation des solutions).

---

## CHAPITRE 6. DOXORUBICINE

### 6.1. Étude de stabilité

Pour la réalisation de cette étude, deux solutions de Doxorubicine ont été préparées à partir de 43,2 mL de Doxorubicine HCl et 2116,8 mL de diluant (soit NaCl 0,9 %, soit glucose 5 %). Les solutions ont ensuite été filtrées sous pression avec un filtre de 0,22  $\mu\text{m}$  avant d'être réparties dans des bouteilles en polypropylène claires ou ambrées. La moitié des bouteilles est ensuite entreposée à 5°C et l'autre moitié à 25°C. Les paramètres étudiés et les méthodes utilisées ont été développés dans le chapitre 3.

La Figure 6-1 montre les bouteilles remplies de solutions au début de l'étude.



Figure 6-1 - Solutions de Doxorubicine mises en bouteilles

#### 6.1.1. Résultats de l'étude de stabilité

##### *Analyse de la quantité de Doxorubicine restante*

Trois bouteilles sont dédiées à l'analyse de la quantité de Doxorubicine restante. Cela permet de suivre l'évolution de la quantité de Doxorubicine au cours du temps. Les trois bouteilles entreposées dans chaque condition sont vortexées pendant 20 secondes. Un volume de 1 mL est ensuite prélevé de chaque bouteille. De ce volume, 500  $\mu\text{L}$  sont utilisés pour l'analyse HPLC immédiatement et le reste est conservé au congélateur à -80 °C au cas où il faudrait analyser de nouveau certains points. Les bouteilles sont ensuite scellées de nouveau et

entreposées dans leurs conditions initiales jusqu'à la prochaine analyse. Les résultats sont présentés dans le Tableau 6-1 et dans la Figure 6-2 pour les solutions entreposées à 5 °C et la Figure 6-3 pour les solutions entreposées à 25 °C.

Tableau 6-1 - Concentration restante en % de la concentration initiale

Temps (en jours)	Concentration (en % de la concentration initiale)							
	NaCl 0,9 %				Glucose 5 %			
	Bouteille en polypropylène claire		Bouteille en polypropylène ambrée		Bouteille en polypropylène claire		Bouteille en polypropylène ambrée	
	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C
<b>0</b>	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
<b>7</b>	99,80 ± 0,18	97,83 ± 0,45	100,05 ± 0,30	98,05 ± 0,22	99,94 ± 0,07	99,48 ± 0,37	100,33 ± 0,27	99,57 ± 0,19
<b>14</b>	99,04 ± 0,18	97,46 ± 0,53	99,26 ± 0,33	97,81 ± 0,34	99,69 ± 0,48	99,39 ± 0,36	99,64 ± 0,13	99,23 ± 0,58
<b>30</b>	98,68 ± 0,44	95,59 ± 0,69	99,79 ± 0,45	96,57 ± 0,85	98,24 ± 0,46	97,06 ± 0,98	97,81 ± 0,71	95,37 ± 0,77
<b>45</b>	102,08 ± 0,16	96,46 ± 0,55	102,26 ± 0,36	98,22 ± 0,52	100,46 ± 0,82	98,31 ± 1,35	101,34 ± 0,15	97,76 ± 1,10
<b>60</b>	96,29 ± 0,43	91,62 ± 0,70	97,16 ± 0,44	92,24 ± 0,64	99,30 ± 1,23	96,24 ± 0,45	100,02 ± 0,72	96,20 ± 1,05
<b>75</b>	100,56 ± 0,35	94,06 ± 1,01	100,83 ± 0,36	95,53 ± 1,34	102,34 ± 0,23	98,22 ± 0,69	102,64 ± 0,41	98,45 ± 0,22
<b>90</b>	98,25 ± 0,39	90,73 ± 0,94	98,84 ± 0,61	92,03 ± 0,93	99,21 ± 0,89	93,60 ± 0,61	98,63 ± 1,31	94,70 ± 0,41
<b>180</b>	95,08 ± 0,39	<b>82,14 ±</b> <b>0,33</b>	94,98 ± 1,15	<b>85,82 ±</b> <b>0,49</b>	98,85 ± 1,83	90,71 ± 0,83	98,72 ± 1,02	91,65 ± 1,85
<b>270</b>	94,84 ±0,85	<b>76,73 ±</b> <b>0,55</b>	96,68 ± 1,04	<b>80,39 ±</b> <b>0,86</b>	98,88 ± 3,21	<b>86,29 ±</b> <b>1,74</b>	100,08 ± 0,43	<b>87,38 ±</b> <b>1,10</b>
<b>360</b>	94,38 ± 0,79	<b>73,81 ±</b> <b>1,01</b>	96,78 ± 0,74	<b>77,68 ±</b> <b>0,73</b>	100,20 ± 3,78	<b>82,74 ±</b> <b>0,99</b>	99,65 ± 2,20	<b>86,37 ±</b> <b>1,46</b>

Les valeurs en rouge représentent les valeurs qui sont en dessous des spécifications choisies pour cette étude de stabilité.

Certaines valeurs sont au-dessus du 100% de la concentration initiale. Cela correspond à l'erreur associée à la préparation des solutions utilisées pour la courbe de calibration qui sont différentes à chaque temps d'analyse.

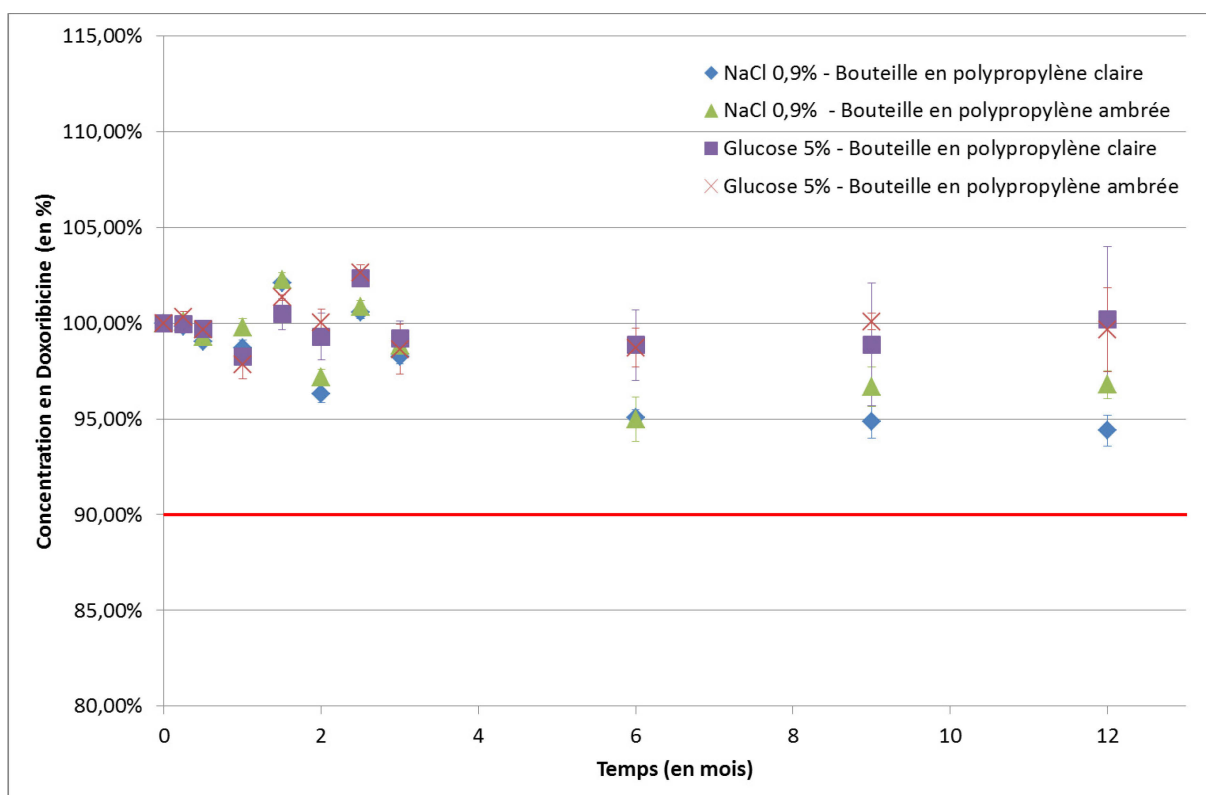


Figure 6-2 - Évolution de la concentration en Doxorubicine au cours du temps, à 5 °C

Lorsque les solutions de Doxorubicine sont conservées à 5 °C, la concentration restante est de plus de 94 % de la concentration initiale pour les deux diluants et dans les deux types de contenant.

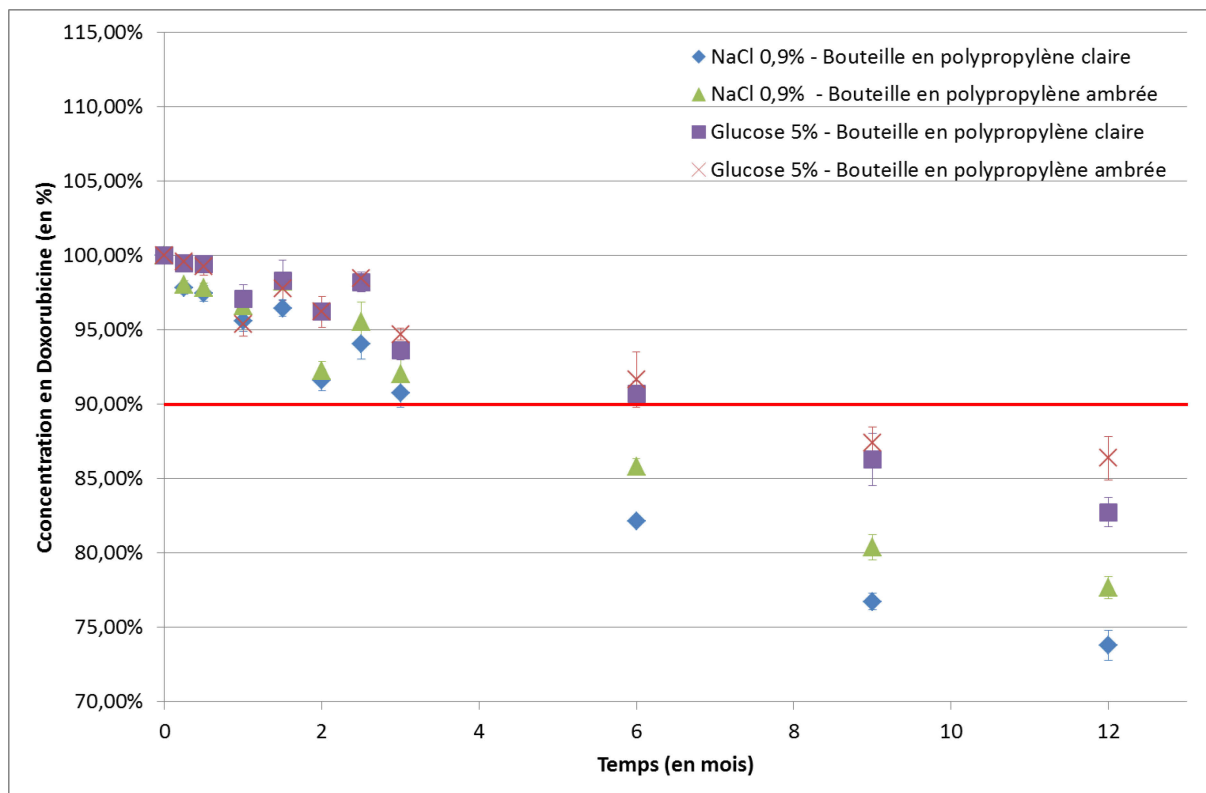


Figure 6-3 – Évolution de la concentration en Doxorubicine au cours du temps, à 25 °C

Lorsque les solutions sont conservées à 25 °C, la concentration restante en Doxorubicine décroît plus rapidement. Pour les solutions préparées dans le NaCl 0,9 %, la quantité de Doxorubicine restante ne rencontre plus les spécifications après 3 mois quel que soit le contenant. Pour les solutions préparées dans le glucose 5 %, la quantité restante de Doxorubicine ne rencontre plus les spécifications après 6 mois quel que soit le contenant.

#### *Analyse du nombre de particules dans les solutions de Doxorubicine*

À chaque temps d'analyse, trois bouteilles sont sorties de leurs conditions initiales pour le compte de particules. Des tests avec de l'eau purifiée sont réalisés au début, au milieu et à la fin des tests afin de s'assurer que l'appareil est propre et n'a pas été contaminé par le produit. Avant chaque test de produit, l'appareil est rincé par trois volumes équivalents d'eau purifiée. Les résultats pour les particules ayant une taille supérieure à 10  $\mu\text{m}$  sont présentés dans le Tableau 6-2 et la Figure 6-4.

Tableau 6-2 - Nombre de particules plus grosses que 10 µm par contenant

Temps (en jours)	Nombre de particules ≥ 10 µm par contenant							
	NaCl 0,9 %				Glucose 5 %			
	Bouteille en polypropylène claire		Bouteille en polypropylène ambrée		Bouteille en polypropylène claire		Bouteille en polypropylène ambrée	
	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C
<b>0</b>	26,0 ±	26,0 ±	35,3 ±	35,3 ±	24,0 ±	24,0 ±	45,3 ±	45,3 ±
	10,6	10,6	15,1	15,1	15,9	15,9	18,9	18,9
<b>7</b>	56,7 ±	17,3 ±	17,3 ±	19,3 ±	14,0 ±	14,0 ±	26,0 ±	14,0 ±
	37,2	4,2	7,0	10,1	0,0	4,0	12,0	5,3
<b>14</b>	80,0 ±	60,0 ±	38,0 ±	52,7 ±	19,3 ±	24,0 ±	22,0 ±	12,7 ±
	48,5	37,0	31,2	60,0	8,1	5,3	14,4	8,3
<b>30</b>	66,0 ±	50,7 ±	48,7 ±	18,0 ±	74,0 ±	28,0 ±	47,3 ±	16,7 ±
	52,5	21,9	28,4	3,5	38,6	5,3	31,0	10,1
<b>45</b>	135,3 ±	71,3 ±	85,3 ±	100,0 ±	16,7 ±	18,7 ±	22,0 ±	11,3 ±
	36,3	11,7	54,9	66,9	8,3	8,1	5,3	2,3
<b>60</b>	57,3 ±	132,7 ±	23,3 ±	186,0 ±	13,3 ±	43,3 ±	16,0 ±	14,7 ±
	35,1	47,6	8,3	126,8	5,8	40,5	10,0	6,4
<b>75</b>	113,3 ±	152,0 ±	63,3 ±	82,7 ±	24,0 ±	30,0 ±	17,3 ±	22,0 ±
	44,7	71,5	40,1	65,4	8,7	14,4	5,0	10,6
<b>90</b>	48,0 ±	199,3 ±	22,7 ±	86,0 ±	22,0 ±	12,7 ±	19,3 ±	8,0 ±
	19,1	104,0	11,0	36,7	6,9	2,3	3,1	5,3
<b>180</b>	22,7 ±	454,0 ±	58,0 ±	90,0 ±	4,7 ±	136,7 ±	43,3 ±	53,3 ±
	17,2	189,8	41,0	63,2	1,2	76,0	54,3	20,8
<b>270</b>	25,3 ±	249,3 ±	36,0 ±	1376,7	14,0 ±	20,0 ±	27,3 ±	32,0 ±
	16,3	71,8	13,1	± 346,7	10,6	7,2	23,4	2,0
<b>360</b>	18,0 ±	3626,0	26,7 ±	2700,0	21,3 ±	72,0 ±	14,0 ±	56,7 ±
	7,2	± 1715,0	11,0	± 1089,5	9,9	44,7	10,6	32,1

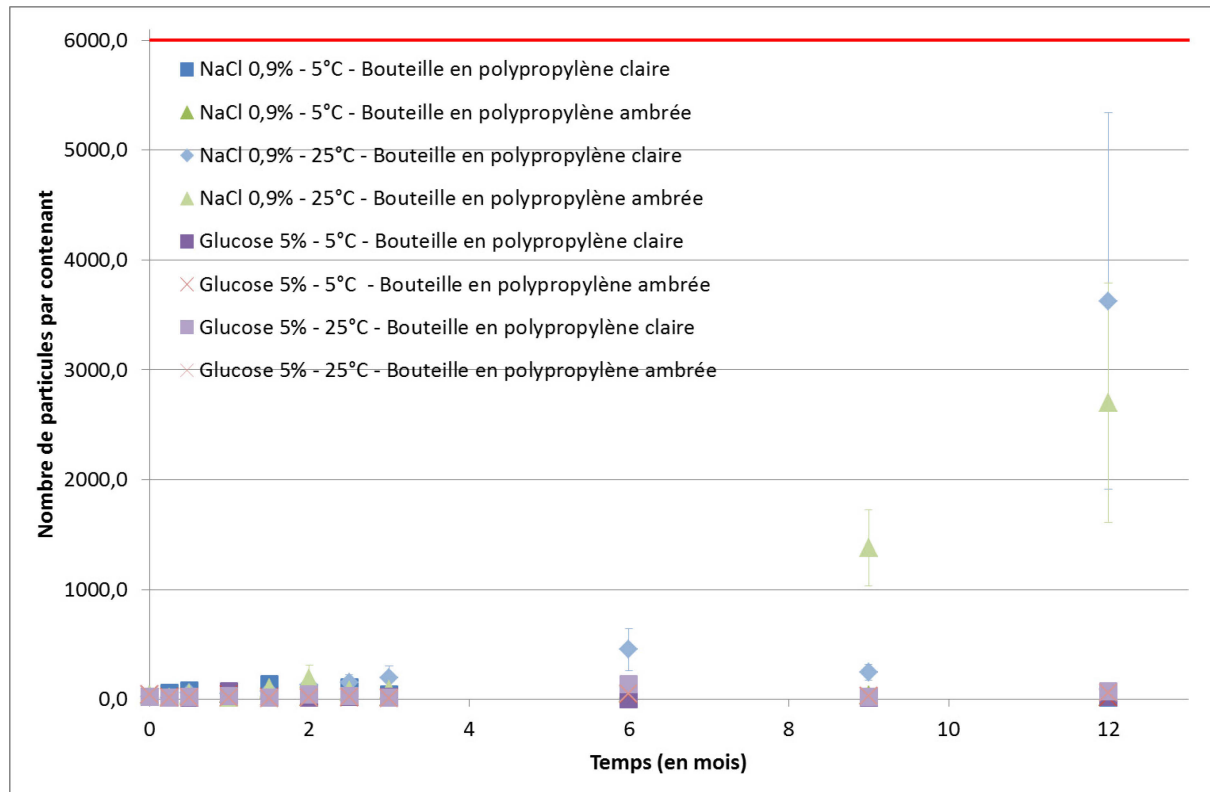


Figure 6-4 - Évolution du nombre de particules  $\geq 10 \mu\text{m}$  par contenant en fonction du temps

Les résultats pour les particules ayant une taille supérieure à  $25 \mu\text{m}$  sont présentés dans le Tableau 6-3 et la Figure 6-5.



Tableau 6-3 - Nombre de particules plus grosses que 25 µm par contenant

Temps (en jours)	Nombre de particules $\geq 25 \mu\text{m}$ par contenant							
	NaCl 0,9 %				Glucose 5 %			
	Bouteille en polypropylène claire		Bouteille en polypropylène ambrée		Bouteille en polypropylène claire		Bouteille en polypropylène ambrée	
	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C
<b>0</b>	0,7 ± 1,2	0,7 ±	2,0 ±	2,0 ±	0,0 ±	0,0 ±	0,7 ±	0,7 ±
		1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2	1,2
<b>7</b>	3,3 ± 2,3	0,7 ±	0,7 ±	2,0 ±	4,7 ±	0,0 ±	7,3 ±	2,0 ±
		1,2	1,2	0,0	1,2	0,0	5,8	0,0
<b>14</b>	2,0 ± 0,0	1,3 ±	2,7 ±	1,3 ±	2,0 ±	0,7 ±	4,7 ±	0,7 ±
		1,2	1,2	1,2	0,0	1,2	3,1	1,2
<b>30</b>	0,7 ± 1,2	7,3 ±	2,0 ±	6,7 ±	0,0 ±	2,0 ±	1,3 ±	0,0 ±
		4,2	3,5	7,0	0,0	2,0	2,3	0,0
<b>45</b>	2,0 ± 0,0	5,3 ±	2,7 ±	2,7 ±	0,7 ±	0,7 ±	2,7 ±	0,7 ±
		3,1	3,1	3,1	1,2	1,2	1,2	1,2
<b>60</b>	2,0 ± 2,0	4,7 ±	0,7 ±	8,0 ±	0,0 ±	0,7 ±	0,0 ±	1,3 ±
		2,3	1,2	9,2	0,0	1,2	0,0	1,2
<b>75</b>	6,7 ± 4,2	8,7 ±	6,7 ±	2,0 ±	0,7 ±	0,0 ±	0,0 ±	1,3 ±
		2,3	4,2	2,0	1,2	0,0	0,0	1,2
<b>90</b>	1,3 ± 1,2	8,7 ±	4,0 ±	2,0 ±	1,3 ±	0,7 ±	1,3 ±	0,0 ±
		6,1	2,0	0,0	1,2	1,2	1,2	0,0
<b>180</b>	2,0 ± 2,0	16,7 ±	6,7 ±	2,7 ±	1,3 ±	1,3 ±	22,0 ±	5,3 ±
		9,0	3,1	1,2	1,2	1,2	34,6	9,2
<b>270</b>	0,7 ± 1,2	22,7 ±	10,0 ±	204,7 ±	0,7 ±	2,0 ±	25,3 ±	1,3 ±
		17,0	10,6	36,3	1,2	0,0	11,0	1,2
<b>360</b>	2,7 ± 1,2	434,0 ±	10,7 ±	170,7 ±	2,7 ±	3,3 ±	0,7 ±	5,3 ±
		62,2	9,9	124,1	3,1	1,2	1,2	4,2

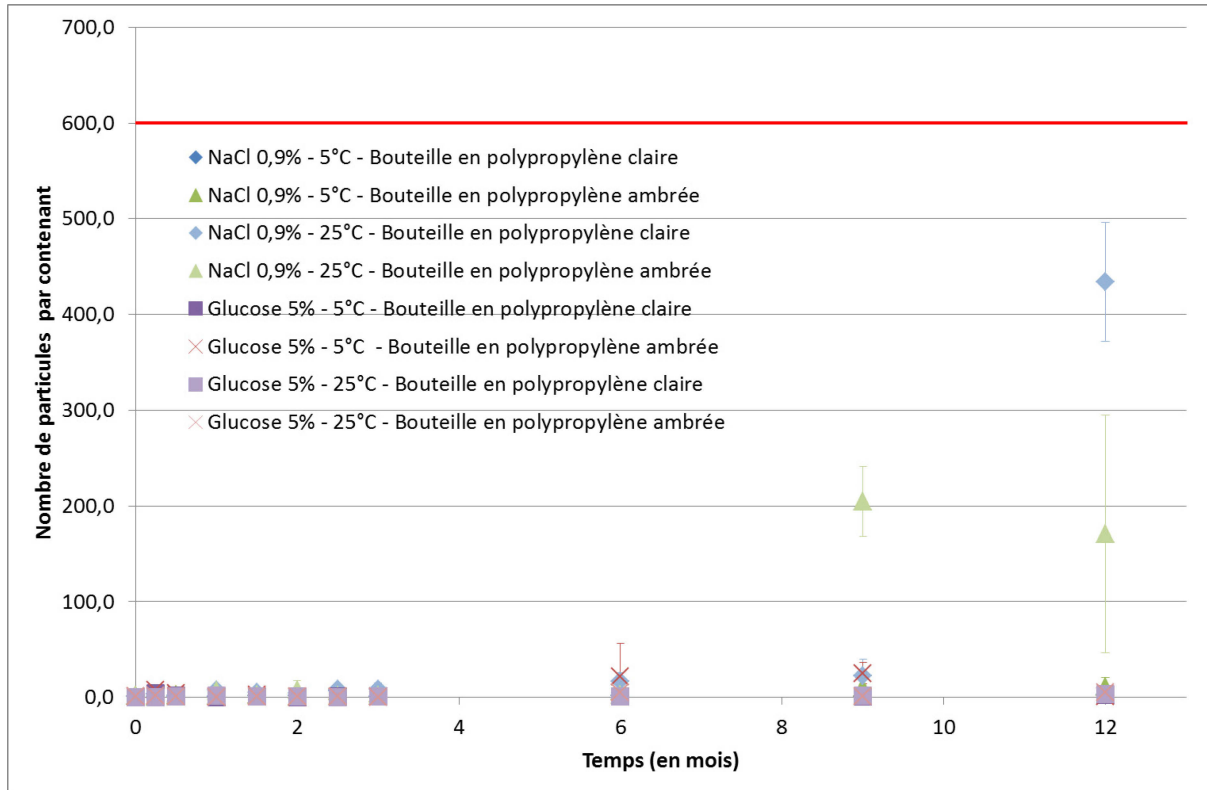


Figure 6-5 - Évolution du nombre de particules  $\geq 25 \mu\text{m}$  par contenant en fonction du temps

Le compte de particules est en dessous des spécifications pour toutes les solutions préparées et quelles que soient les conditions d'entreposage.

On constate une augmentation du nombre de particules pour les tests effectués aux mois 9 et 12 pour les solutions préparées dans le NaCl 0,9 % et entreposées à 25 °C.

#### *Mesure du pH dans les solutions*

La mesure du pH est faite à partir des échantillons prélevés pour l'analyse de la quantité de Doxorubicine par méthode HPLC.

Le pH des trois échantillons de chaque condition est mesuré à l'aide d'un pH-mètre. Le pH-mètre utilisé est calibré avant chaque série de mesures à l'aide de solutions standards commerciales de pH 4 et 7. Les résultats sont présentés dans le Tableau 6-4 et la Figure 6-6.

Tableau 6-4 - pH des solutions

Temps (en jours)	pH des solutions							
	NaCl 0,9 %				Glucose 5 %			
	Bouteille en polypropylène claire		Bouteille en polypropylène ambrée		Bouteille en polypropylène claire		Bouteille en polypropylène ambrée	
	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C
<b>0</b>	4,86 ±	4,86 ±	4,86 ±	4,86 ±	4,38 ±	4,38 ±	4,38 ±	4,38 ±
	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	0,03	0,03	0,03
<b>7</b>	4,81 ±	4,88 ±	4,86 ±	4,91 ±	4,38 ±	4,43 ±	4,40 ±	4,47 ±
	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01
<b>14</b>	5,03 ±	5,09 ±	5,07 ±	5,10 ±	4,66 ±	4,67 ±	4,68 ±	4,66 ±
	0,02	0,02	0,02	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01
<b>30</b>	4,79 ±	4,79 ±	4,81 ±	4,78 ±	4,35 ±	4,32 ±	4,36 ±	4,34 ±
	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<b>45</b>	4,83 ±	4,76 ±	4,81 ±	4,79 ±	4,31 ±	4,36 ±	4,33 ±	4,37 ±
	0,01	0,01	0,01	0,03	0,01	0,01	0,01	0,01
<b>60</b>	4,88 ±	4,83 ±	4,84 ±	4,83 ±	4,40 ±	4,40 ±	4,44 ±	4,41 ±
	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,05	0,03	0,02
<b>75</b>	4,63	4,71 ±	4,65 ±	4,75 ±	4,18 ±	4,28 ±	4,23 ±	4,31 ±
	±0,03	0,01	0,04	0,00	0,02	0,01	0,02	0,01
<b>90</b>	4,72 ±	4,73 ±	4,75 ±	4,71 ±	4,30 ±	4,34 ±	4,33 ±	4,34 ±
	0,00	0,01	0,01	0,02	0,00	0,01	0,01	0,01
<b>180</b>	4,74 ±	4,70 ±	4,81 ±	4,75 ±	4,29 ±	4,25 ±	4,32 ±	4,32 ±
	0,04	0,03	0,01	0,01	0,00	0,03	0,01	0,01
<b>270</b>	4,87 ±	4,70 ±	4,89 ±	4,71 ±	4,33 ±	4,23 ±	4,32 ±	4,26 ±
	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
<b>360</b>	4,88 ±	4,62 ±	4,88 ±	4,73 ±	4,33 ±	4,21 ±	4,33 ±	4,23 ±
	0,02	0,05	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01

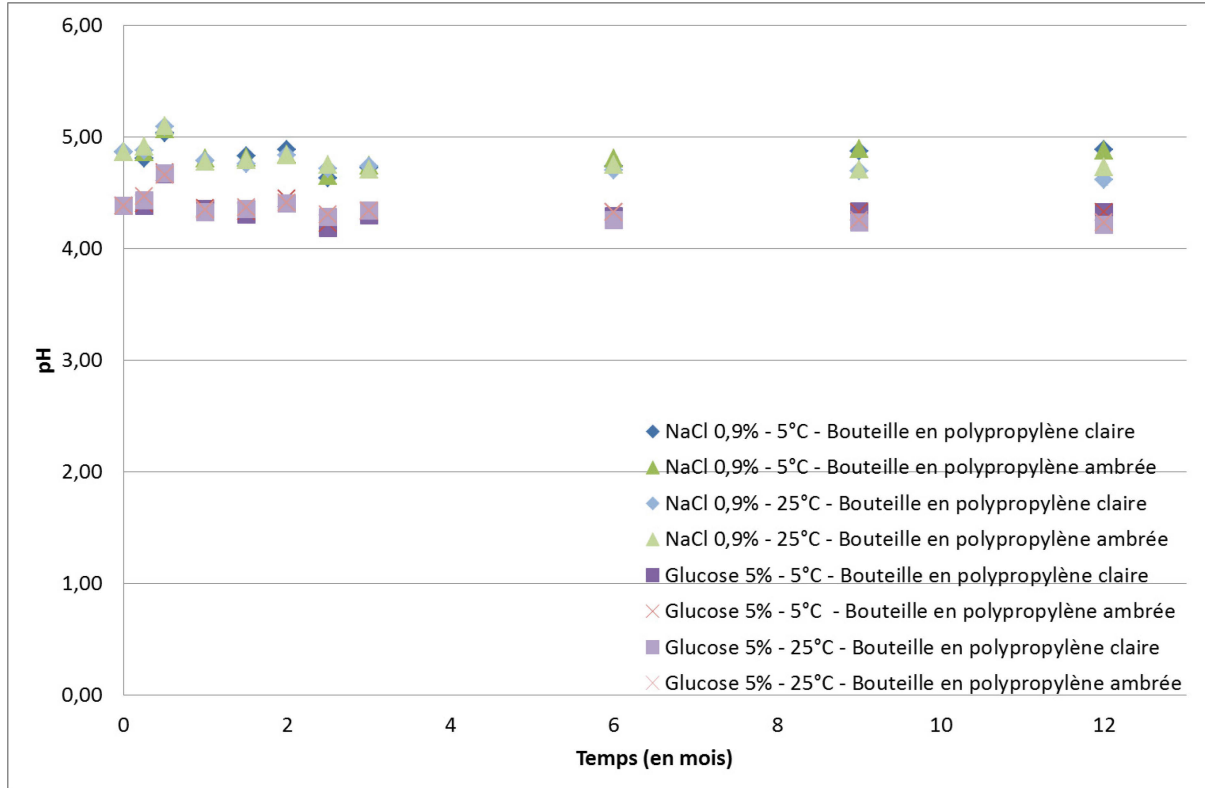


Figure 6-6 - Évolution du pH au cours du temps

Il n'y a pas de variation importante au cours du temps. On remarque que le pH des solutions préparées avec le glucose 5 % est plus faible que celles préparées avec le NaCl 0,9 %. La température d'entreposage ainsi que le contenant utilisé n'ont pas d'impact sur le pH des solutions.

#### *Inspection visuelle des solutions*

Une observation visuelle des différentes solutions a été faite à chaque prélèvement. Aucune particule visible n'a été observée. Aucun changement de couleur ou d'aspect des solutions n'a été observé. Les solutions sont restées rose orangé et claires, comme sur la Figure 6-7.



Figure 6-7 - Solution de Doxorubicine après 6 mois dans une bouteille en polypropylène claire

### 6.1.2. Conclusion de l'étude de stabilité

Les solutions de Doxorubicine rencontrent les spécifications lorsqu'elles sont conservées à 25 °C pendant trois mois et pendant un an lorsqu'ils sont conservés à 5 °C.

D'après les graphiques, les solutions dans le NaCl 0,9 % semblent moins stables que les solutions dans le glucose 5 %. Les solutions ont été stockées dans les mêmes conditions et les analyses réalisées suivant le même protocole et dans les mêmes temps. Néanmoins, le pH est légèrement différent entre les solutions. Une étude est réalisée afin de déterminer si le pH a une influence sur la stabilité du produit.

## 6.2. Étude impact pH

Lors de l'étude de stabilité, on a pu remarquer que le produit semble moins stable dans le NaCl 0,9 % que dans le glucose 5 %. Outre la différence sur le plan chimique entre les deux produits, il a une différence de pH. Cette différence est faible, mais il est possible qu'elle ait un impact.

Afin de déterminer l'influence du pH sur le produit, différentes solutions ont été réalisées à pH 2, 3, 4 et 5 pour les deux diluants. Les bouteilles ont été placées à différentes températures : 5 °C, 25 °C et 40 °C. Un seul contenant a été utilisé (bouteille en polypropylène claire). L'étude s'est déroulée sur 3 mois.

Les solutions ont toutes été préparées à partir de la même solution stock. Le pH a ensuite été ajusté à l'aide soit de HCl 0,1N soit de NaOH 0,1N. Les volumes ajoutés de HCl ou NaOH sont de quelques gouttes, ils n'influencent pas la concentration finale en Doxorubicine dans la solution. Les résultats de concentration en fonction du pH au temps initial sont présentés dans le Tableau 6-5.

**Tableau 6-5 - Concentration en Doxorubicine en fonction du pH au temps initial**

<b>Diluant</b>	<b>pH</b>	<b>% de la concentration initiale</b>
<b>NaCl 0,9 %</b>	2,06	92,62
	3,08	101,82
	4,07	94,83
	5,00	76,05
<b>Glucose 5 %</b>	2,06	105,24
	3,00	105,28
	4,04	101,39
	5,31	95,12

La concentration semble plus élevée dans les solutions faites avec du glucose 5 %. Cela provient de la solution initiale. Les concentrations des points suivants seront calculées à partir de la concentration initiale, ce qui limitera l'impact de cette concentration élevée.

Dans les solutions faites à partir du NaCl 0,9 %, lors de l'ajustement du pH à temps zéro, on peut voir que la concentration reste la même si le pH est de 3. Pour les autres pH, on observe une diminution immédiate de la concentration initiale.

Dans les solutions faites avec du glucose 5 %, la concentration reste la même à pH 2 et 3 mais diminue pour les pH 4 et 5.

La quantité de Doxorubicine restante a été analysée à différents temps : 7, 14, 30, 45, 60, 75 et 90 jours. Les résultats sont présentés dans la Figure 6-8 pour les solutions préparées avec du NaCl 0,9 % et la Figure 6-9 pour les solutions préparées avec du glucose 5 %.

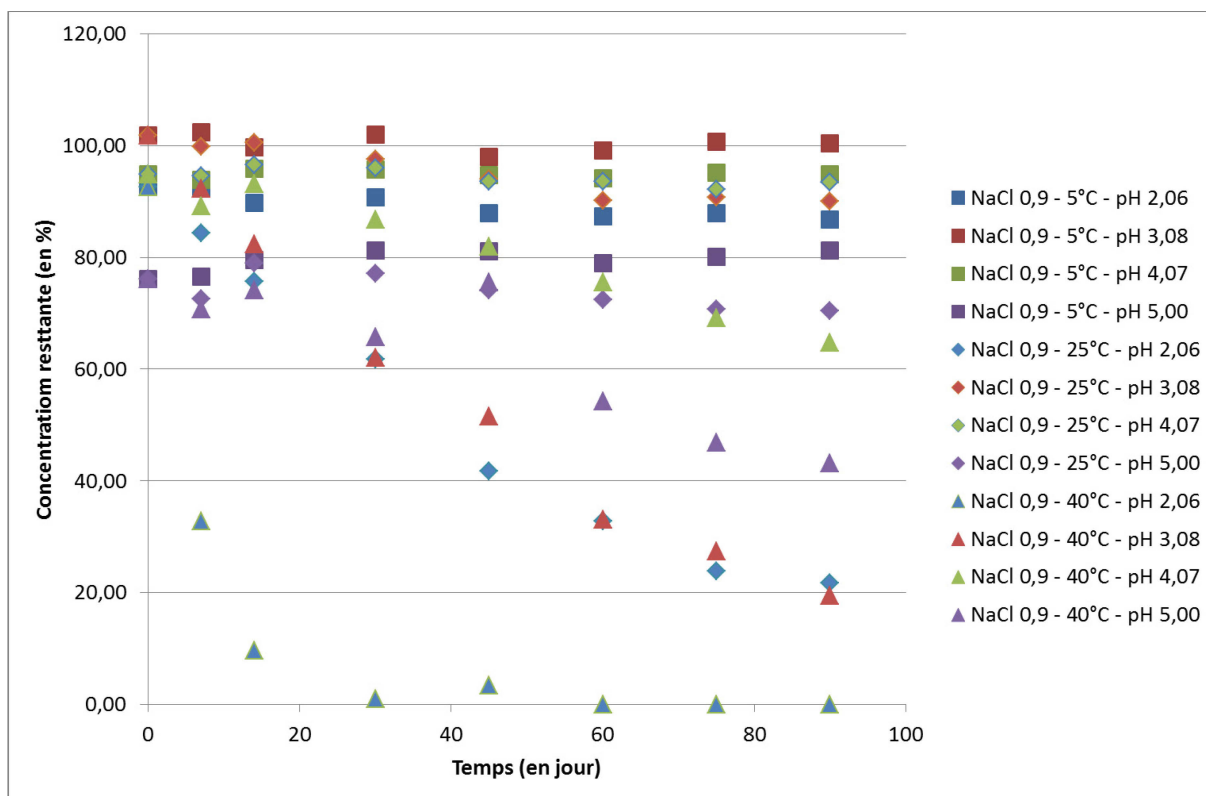
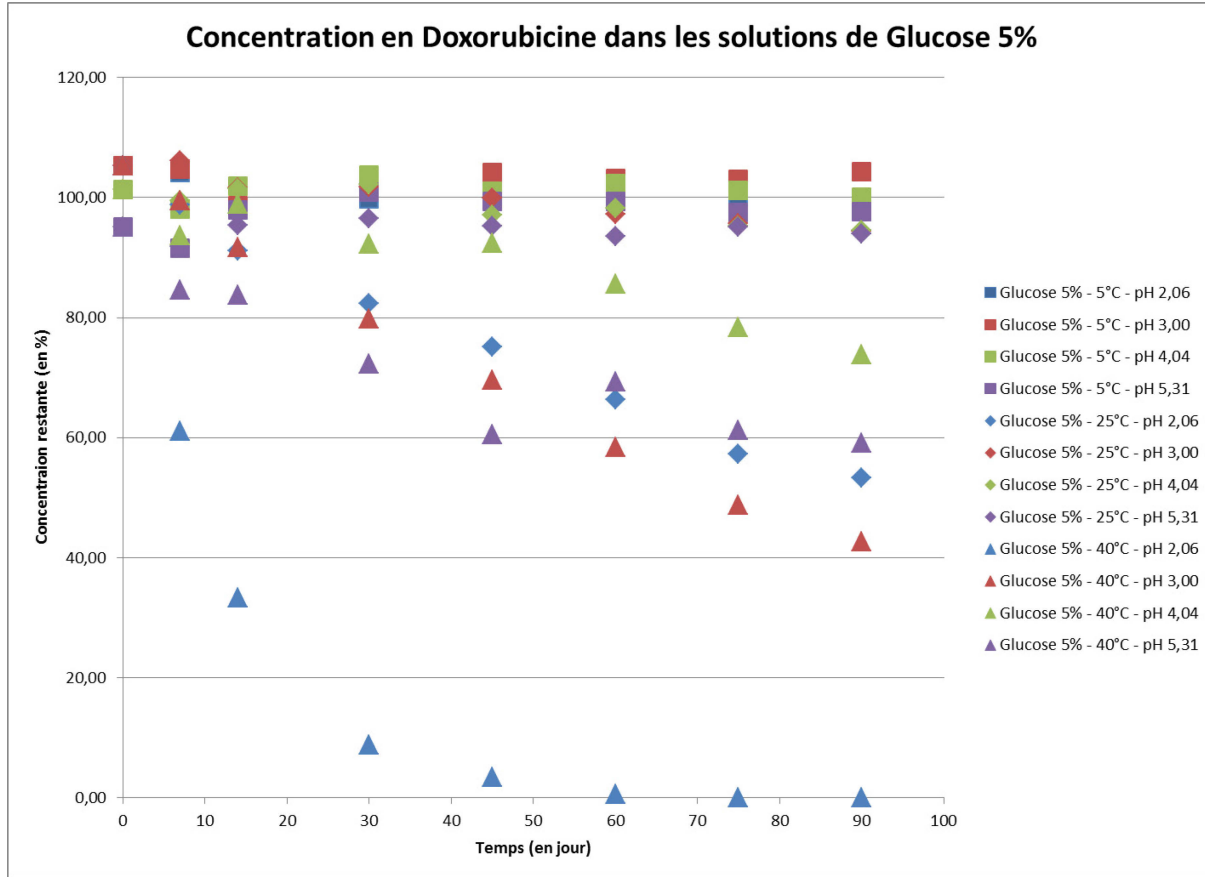


Figure 6-8 - Concentration en Doxorubicine dans les solutions préparées avec NaCl 0,9 % en fonction du temps



**Figure 6-9 - Concentration en Doxorubicine dans les solutions préparées avec le glucose 5 % en fonction du temps**

D'après les données obtenues, le pH 2 ainsi que la température élevée semblent avoir un impact négatif sur la stabilité en Doxorubicine, quel que soit le diluant utilisé.

Les solutions conservées à 5 °C semblent les plus stables, quel que soit le pH, car la concentration de ces solutions est proche de 100% même après trois mois.

Les solutions conservées à 25 °C sont stables lorsque leur pH est de 3, 4 et 5 dans les solutions de glucose 5 % et de 3 et 4 dans les solutions de NaCl 0,9 %.

Les solutions à 40 °C montrent une baisse de la concentration en Doxorubicine, quel que soit le pH. La différence de pH va avoir un impact sur la vitesse à laquelle la concentration en Doxorubicine baisse, plus rapide à pH 2 puis 3 puis 5 et enfin 4.



Une analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée pour savoir quels paramètres ont un impact sur la stabilité de la Doxorubicine en solution. Pour faire l'analyse des variances, le logiciel Design Expert a été utilisé. Les résultats du logiciel sont présentés dans le Tableau 6-6.

Tableau 6-6 - Tableau de l'ANOVA donné par le logiciel Design Expert

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
<b>Model</b>	1.191E+005	57	2090.06	33.86	< 0.0001	significant
<i>A-Time</i>	13403.40	7	1914.77	31.02	< 0.0001	
<i>B-Temperature</i>	39503.98	2	19751.99	319.96	< 0.0001	
<i>C-pH</i>	27286.44	3	9095.48	147.34	< 0.0001	
<i>D-Diluent</i>	3233.84	1	3233.84	52.38	< 0.0001	
<i>AB</i>	10679.73	14	762.84	12.36	< 0.0001	
<i>AC</i>	7235.44	21	344.54	5.58	< 0.0001	
<i>BC</i>	16782.68	6	2797.11	45.31	< 0.0001	
<i>CD</i>	1007.74	3	335.91	5.44	0.0015	
<b>Residual</b>	8272.15	134	61.73			

Les quatre facteurs sont significatifs : le temps, la température, le pH et le diluant. De plus certaines interactions entre les facteurs ont aussi une importance :

- Temps et température
- Temps et pH
- Température et pH
- pH et diluant

Les meilleures conditions pour la stabilité des solutions de Doxorubicine sont les suivantes : les préparer avec du glucose 5 %, les garder dans des conditions réfrigérées et à un pH compris entre 3 et 4.

*Étude cinétique de la dégradation de la Doxorubicine*

Afin de confirmer les résultats obtenus, une étude de la cinétique de la dégradation a été faite avec les mêmes données. Tout d'abord, il faut déterminer quel est l'ordre de la réaction. Il est possible de déterminer graphiquement l'ordre d'une réaction. Si une réaction est d'ordre 1, sa vitesse est directement proportionnelle à la concentration en produit comme présenté par l'équation 6.1.

$$V = \frac{d[A]}{dt} = k_1[A] \quad (6.1)$$

Si une réaction est d'ordre 2, sa vitesse est directement proportionnelle à la concentration en produit au carré comme présenté par l'équation 6.2.

$$V = \frac{d[A]}{dt} = k_2[A]^2 \quad (6.2)$$

La détermination de l'ordre de la réaction se fait par la méthode graphique. Si la réaction est d'ordre 1, on obtient une droite en traçant le logarithme népérien en fonction du temps. Si la réaction est d'ordre 2, on obtient une droite en traçant l'inverse de la concentration en fonction du temps. La figure représente le logarithme népérien en fonction du temps et l'inverse de la concentration en fonction du temps pour les solutions préparées avec du glucose à 5%, dont le pH est de 2 et entreposées à 40°C. Ces conditions ont été choisies, car ce sont celles qui permettent de mieux différencier les ordres.

Le coefficient de régression de la courbe de tendance est plus élevé pour les données tracées en utilisant le logarithme népérien ( $R^2$  de 0.9921) que pour celles utilisant l'inverse de la concentration ( $R^2$  de 0.5751). On peut en conclure que la réaction est d'ordre 1.

---

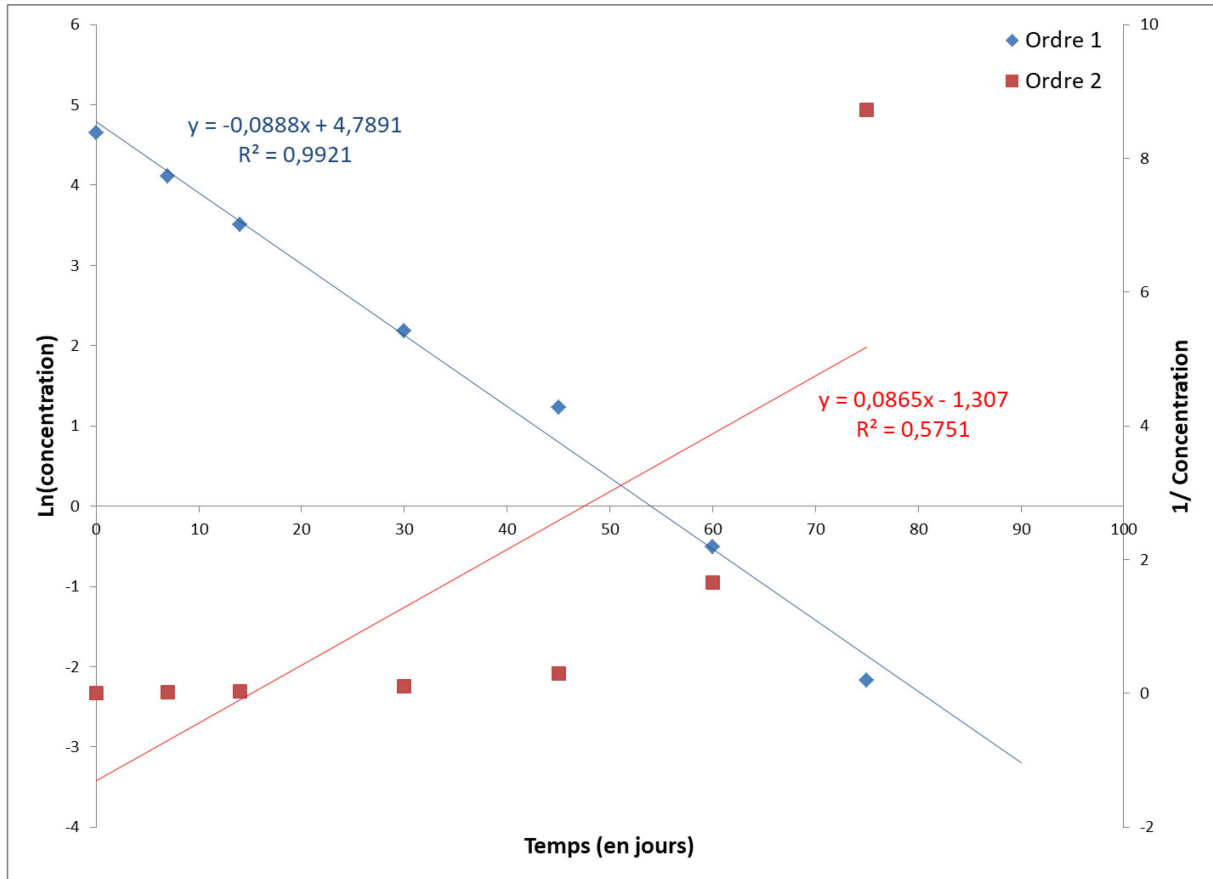


Figure 6-10 - Détermination de l'ordre de la réaction

Les constantes de vitesses de chaque réaction ont été calculées grâce à l'équation 6.3 et les résultats sont présentés dans le Tableau 6-7 et la Figure 6-11 .

$$k = \frac{\ln \frac{C_0}{C_1}}{t_1 - t_0} \quad (6.3)$$

Où

$k$  est la constante de vitesse

$C_0$  est la concentration initiale

$C_1$  est la concentration au temps  $t_1$  jours

$t_1$  est le temps de  $t_1$  jours

$t_0$  est le temps initial

Tableau 6-7 - Constante de vitesse pour chacune des conditions

Diluant		Constante de vitesse					
		NaCl 0,9 %			Glucose 5 %		
Température		5 °C	25 °C	40 °C	5 °C	25 °C	40 °C
pH	2	0,003	0,020	0,076	0,001	0,000	0,001
	3	0,001	0,002	0,015	0,000	0,001	0,001
	4	0,002	0,002	0,005	0,001	0,001	0,007
	5	0,005	0,007	0,007	0,001	0,007	0,001

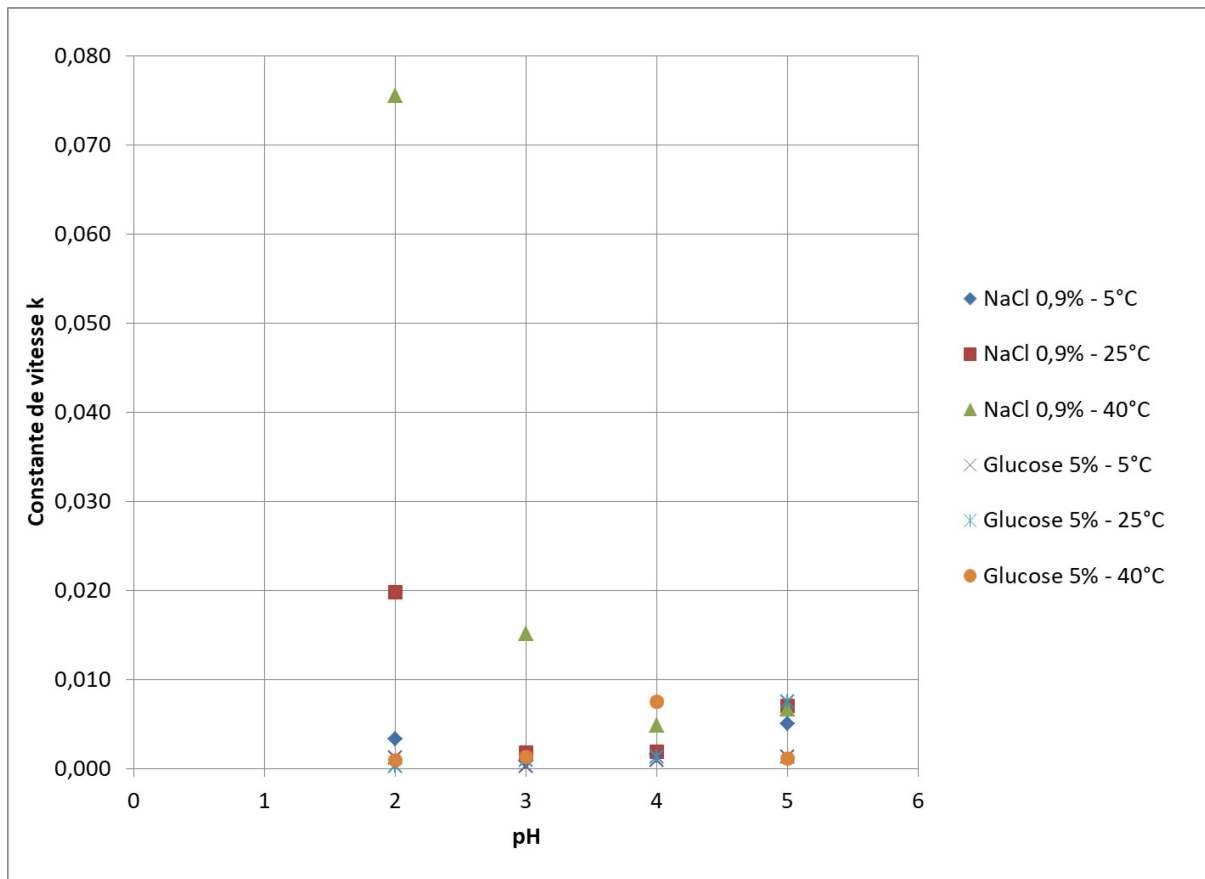


Figure 6-11 - Constantes de vitesse des réactions dans chacune des conditions

Plus la constante de vitesse est faible, moins la réaction de dégradation va se produire rapidement, donc plus le produit restera stable. La loi d'Arrhenius permet de décrire la variation de vitesse d'une réaction chimique en fonction de la température. Elle peut s'écrire comme présentée à l'équation 6.4. Il est possible de représenter graphiquement la loi

d'Arrhenius en fonction des constantes de vitesse et des températures (Figure 6-12). Le Tableau 6-8 donne les équations des droites obtenues à partir de ces données.

$$k = A e^{\frac{-E_a}{RT}} \quad (6.4)$$

Avec :

$k$  : Constante de vitesse

$T$  : Température en Kelvin

$R$  : Constante des gaz parfaits ( $R = 8,314 \text{ J.K}^{-1}\text{mol}^{-1}$ )

$E_a$  : Énergie d'activation en  $\text{J.mol}^{-1}$

$A$  : Facteur de fréquence ou facteur préexponentiel d'Arrhenius

Dans le graphique, représentant le logarithme népérien de la constante de vitesse par rapport à l'inverse de la concentration, la pente de la droite représente la valeur de l'énergie d'activation divisée par la constante des gaz parfaits et l'ordonnée à l'origine correspond au logarithme népérien du facteur de préexponentiel d'Arrhenius. Ce graphique correspond à l'équation 6.5.

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \frac{1}{T} \quad (6.5)$$

Il est ensuite possible d'obtenir l'énergie d'activation de la réaction en multipliant la pente obtenue par la constante des gaz parfaits comme l'indique l'équation 6.5.

$$E_a = a R \quad (6.5)$$

Avec  $a$  la pente de la droite de régression.

---

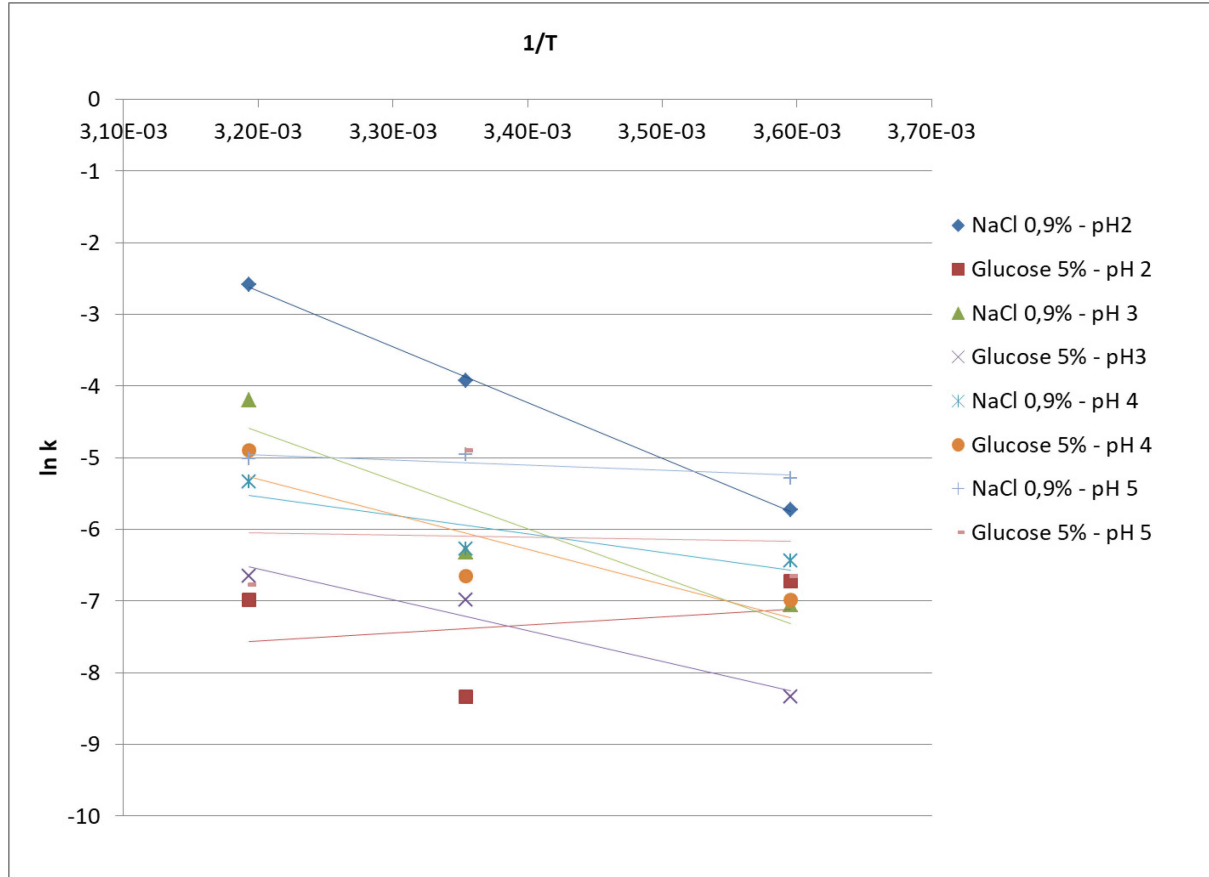


Figure 6-12 - Représentation graphique de la loi d'Arrhenius

Tableau 6-8 - Équations des droites

		Équations des droites	
		NaCl 0,9 %	Glucose 5 %
pH	2	$y = - 6788,1x + 17,094$	$y = 1123,5x - 11,149$
	3	$y = - 7782,5x + 22,236$	$y = - 4321,8x + 7,2867$
	4	$y = - 2583,8x + 2,7245$	$y = - 4902,6x + 10,399$
	5	$y = - 717,37x - 2,6596$	$y = - 309,15x - 5,0572$

À partir de ces équations, il est possible de déterminer les énergies d'activation nécessaire pour que la réaction se produise. Ces énergies sont représentées dans le Tableau 6-9.

Tableau 6-9 - Énergie d'activation pour chaque pH

		Énergie d'activation (kJ.mol <sup>-1</sup> )	
		NaCl 0,9 %	Glucose 5 %
pH	2	56436	9340
	3	64703	35931
	4	21481	40760
	5	5964	2570

Plus l'énergie d'activation est élevée, plus il faut fournir d'énergie pour que la réaction se produise. Le fait que chaque pH ait une énergie d'activation différente, cela prouve que le pH a un rôle catalytique pour cette réaction. L'énergie d'activation est plus élevée pour un pH égal à 3 pour les solutions préparées avec du NaCl 0,9% et pour un pH égal à 4 pour les solutions préparées avec du glucose 5%. L'énergie d'activation pour un pH égale à 3 pour les solutions préparées avec du glucose 5% est plus faible que celle ayant un pH de 4 mais reste très élevée.

### 6.3. Étude avec NIR

Les analyses de quantification de la Doxorubicine par HPLC sont longues (40 minutes pour une analyse) et utilisent beaucoup de diluant. Nous avons décidé de voir s'il est possible d'utiliser une méthode non destructive et rapide afin de pouvoir s'assurer de la quantité de Doxorubicine présente dans les solutions une fois les dilutions réalisées.

La première étape consiste à s'assurer que la Doxorubicine peut être détectée avec le spectromètre NIR. Il faut déterminer la région du spectre qui peut être utilisée pour les analyses. La Figure 6-13 et la Figure 6-14 présentent les spectres complets des solutions de Doxorubicine préparées à partir soit du principe actif, soit du produit fini, dans des solutions contenant soit du glucose 5 % soit du NaCl 0,9 %. L'équipement permet de réaliser un blanc avant de prendre le spectre du produit d'intérêt. Le blanc a été réalisé avec le diluant. Ces spectres n'ont subi aucun prétraitement.

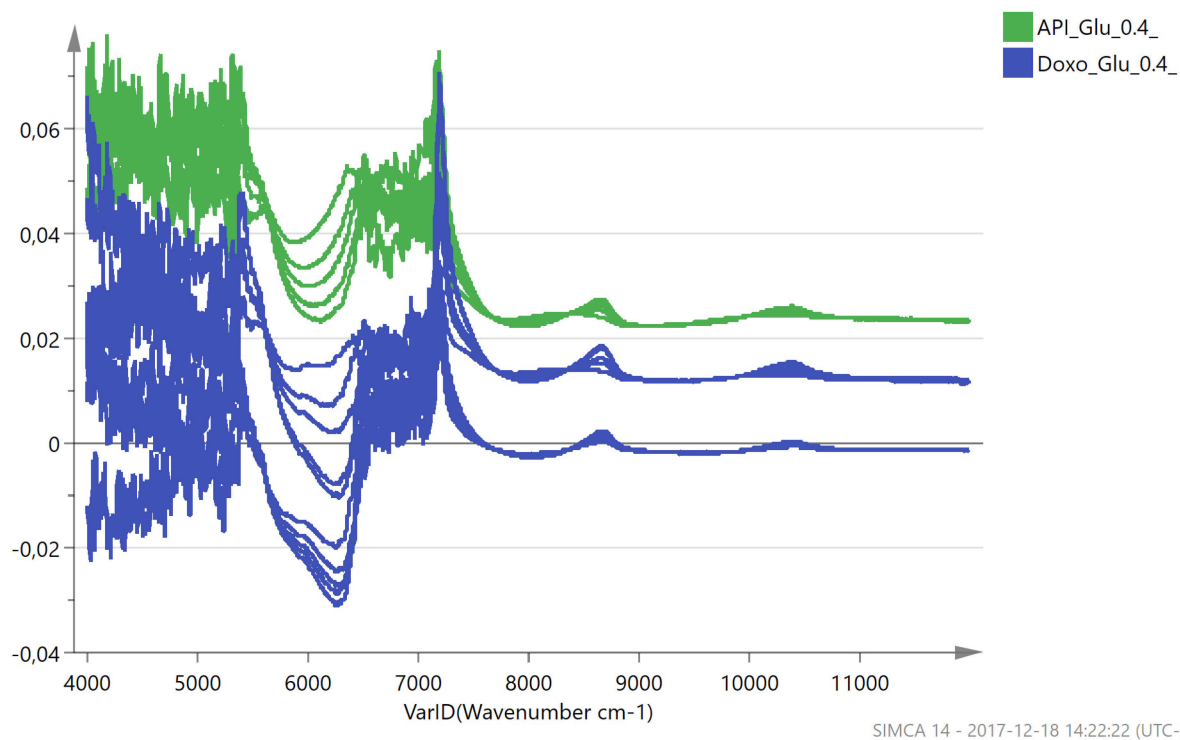


Figure 6-13 - Spectres NIR des solutions de Doxorubicine faites à partir de l'API (en vert) et du PF (en bleu) dans le glucose 5 %

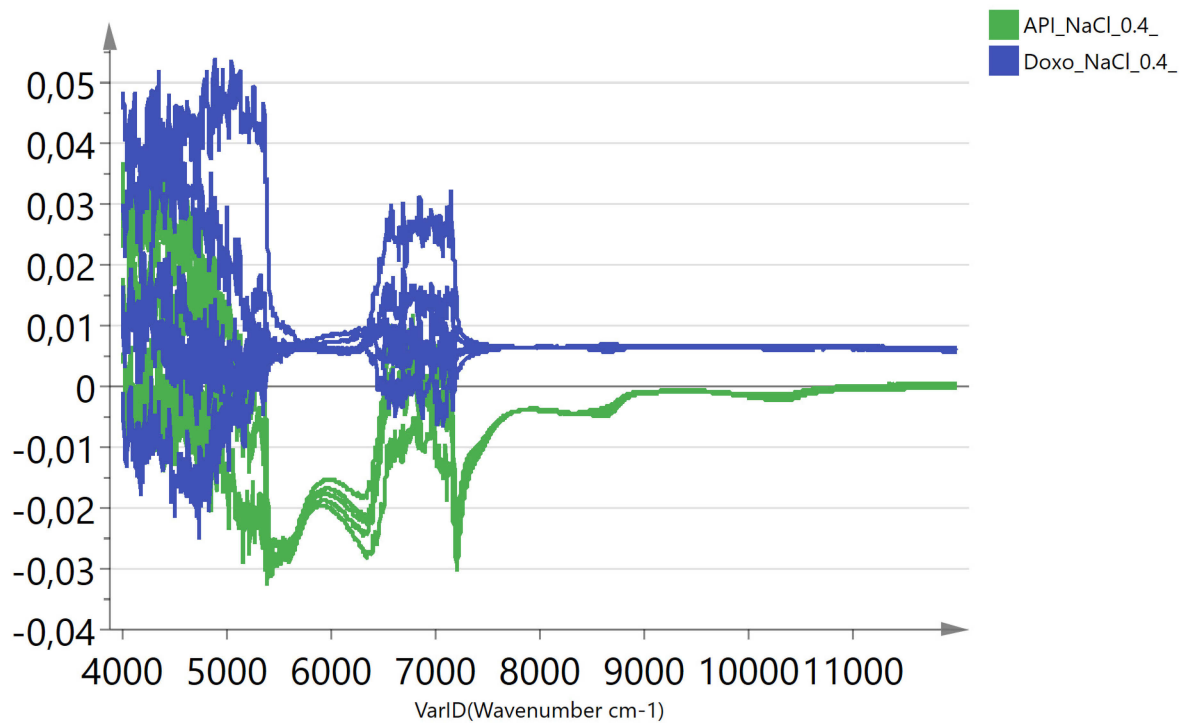
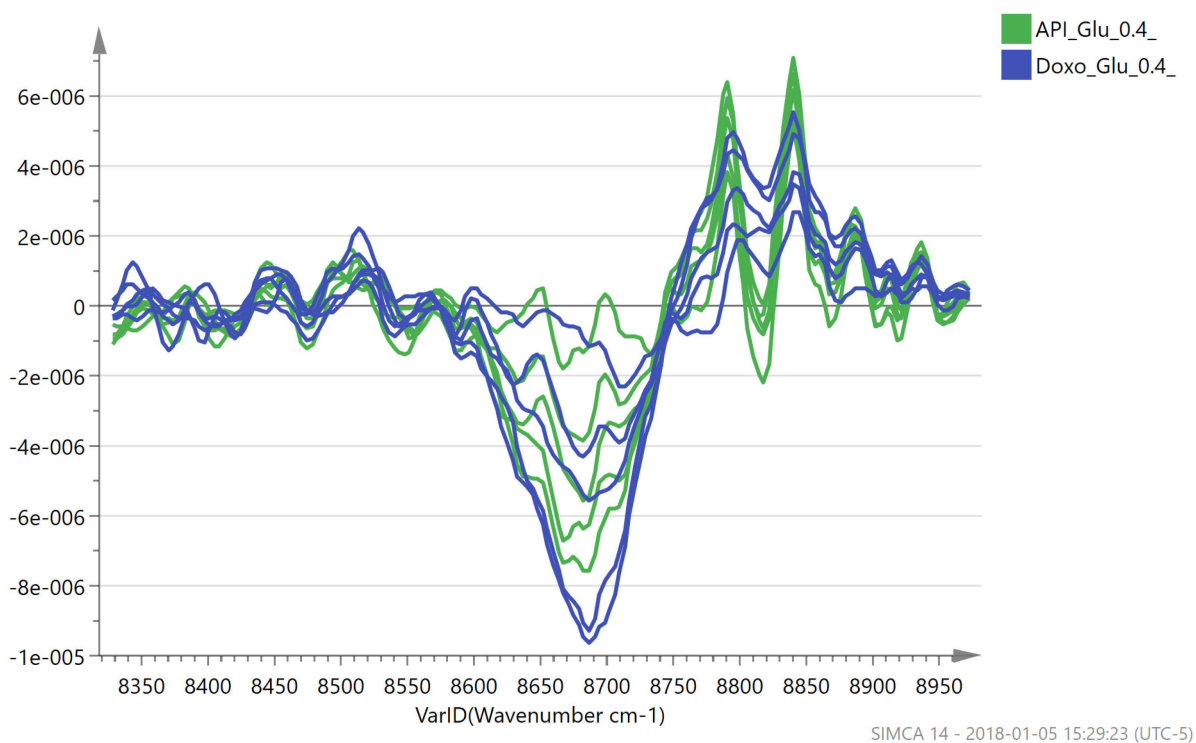


Figure 6-14 - Spectres NIR des solutions de Doxorubicine faites à partir de l'API (en vert) et du PF (en bleu) dans le NaCl 0,9 %



À partir de ces spectres, on détermine les régions d'intérêt pour notre produit. La région intéressante du spectre se trouve entre  $8\,300\text{ cm}^{-1}$  et  $9\,000\text{ cm}^{-1}$ . Il est possible de réaliser des prétraitements sur les données afin d'obtenir de meilleurs résultats.

La Figure 6-15 et la Figure 6-16 présentent la région d'intérêt après l'application d'une dérivée seconde. Cela permet d'amplifier la zone d'intérêt en diminuant le bruit de la mesure. En effet, l'application d'une dérivée seconde a pour conséquence de diminuer les basses fréquences (qui dans notre cas, correspondent à du bruit) et d'augmenter les hautes fréquences qui dans notre cas correspondent au signal à analyser.



**Figure 6-15 - Spectres NIR de la zone d'intérêt des solutions de Doxorubicine faites à partir de l'API (en vert) et du PF (en bleu) dans le glucose 5 %**

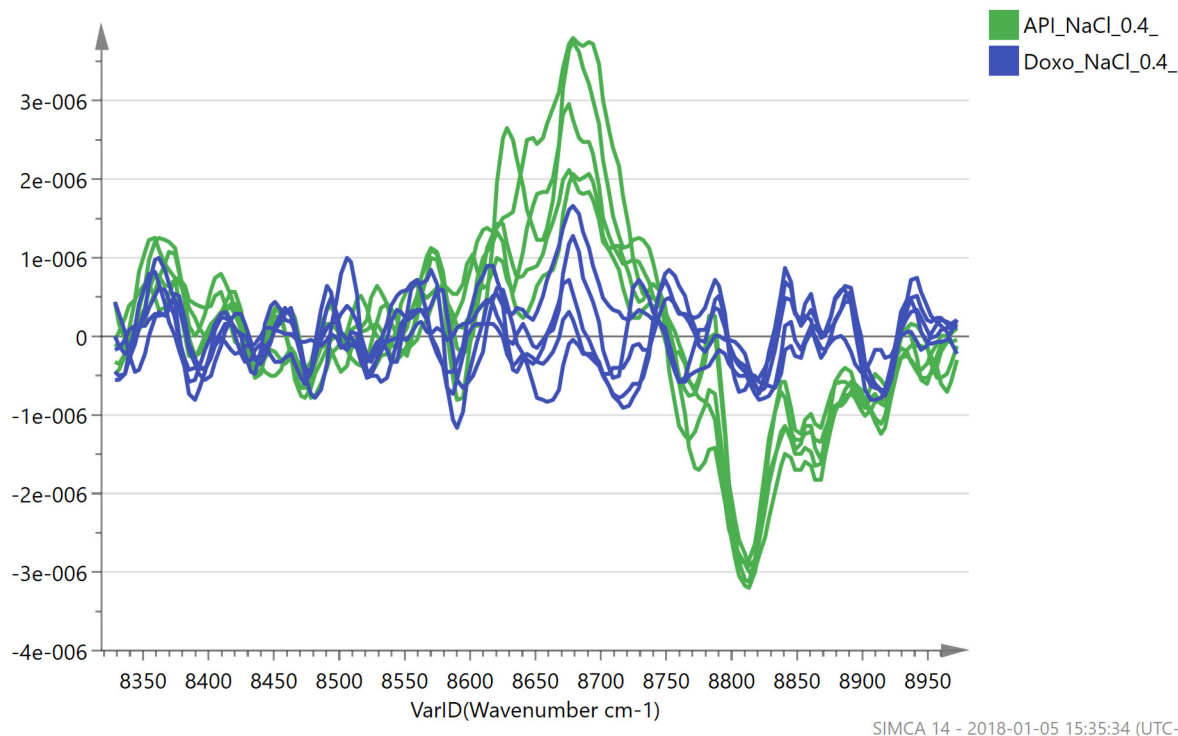


Figure 6-16 - Spectres NIR des zones d'intérêt des solutions de Doxorubicine faites à partir de l'API (en vert) et du PF (en bleu) dans le NaCl 0,9 %

Nous avons tout d'abord testé les mêmes concentrations que pour l'étude de stabilité. Si une méthode peut être développée, nous pourrions tester tous les points analysés par HPLC afin de valider nos résultats. Les concentrations sont trop faibles pour pouvoir construire un modèle suffisamment précis.

La Figure 6-17 et la Figure 6-19 présentent les meilleurs modèles obtenus pour les faibles concentrations.

Pour les solutions préparées dans le glucose 5 %, le meilleur modèle a été obtenu en utilisant la dérivée seconde comme prétraitement sur la partie du spectre allant de 8 000 à 9 000  $\text{cm}^{-1}$ . Le  $R^2$  obtenu est de 0,959 et le  $Q^2$  de 0,919. Le modèle est présenté dans la **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** Le  $R^2$  et le  $Q^2$  sont calculés selon les équations 6.6 et 6.7.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (6.6)$$

$$Q^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_{i/i})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (6.7)$$

Le  $R^2$  correspond à la différence entre la réponse expérimentale  $y_i$  et la réponse calculée par le modèle de régression  $\hat{y}_i$ . Le  $Q^2$  correspond à la différence entre la réponse expérimentale  $y_i$  et la réponse prédite par le modèle  $\hat{y}_{i/i}$ . Dans ce cas, la donnée expérimentale n'est pas utilisée pour la construction du modèle.

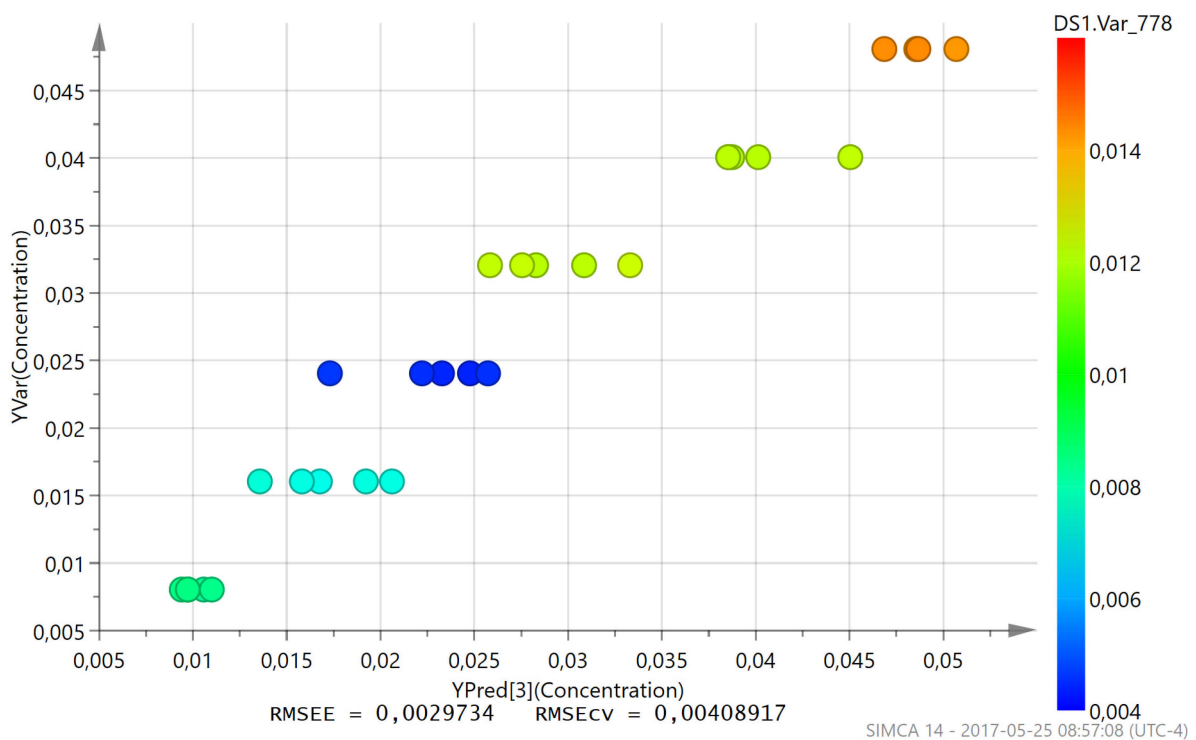


Figure 6-17 - Modèle pour les faibles concentrations des solutions faites avec le glucose 5 %

Une fois le modèle obtenu, d'autres spectres ont été pris avec les mêmes solutions pour tester le modèle obtenu. Les prédictions obtenues sont présentées dans la Figure 6-18, le RMSEP est de 0,024. RMSEP est l'abréviation de *Root Mean Squared Error of Prediction*. Il est calculé selon l'équation 6.8.

$$RMSEP = \sqrt{\frac{1}{N} \sum (\hat{y}_i - y_{i,ref})^2} \quad (6.8)$$

Le RMSEP doit être comparé avec les valeurs des concentrations testées. Dans ce premier cas, les valeurs testées sont faibles, allant de 0,008 à 0,04 mg.mL<sup>-1</sup>. Par rapport à la concentration la plus élevée, l'erreur de prédiction est de 60%.

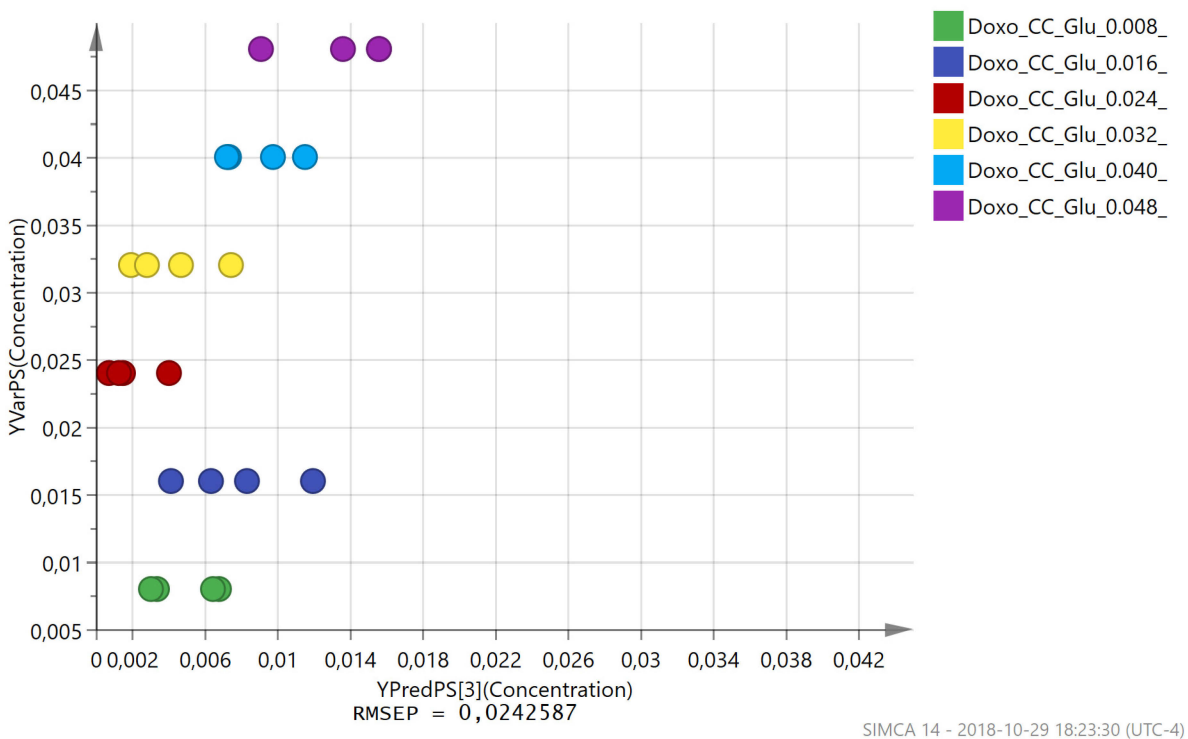


Figure 6-18 - Prédications pour les faibles concentrations préparées avec le glucose 5 %

Les prédictions ne correspondent pas aux concentrations testées. Le modèle ne permet pas de quantifier la Doxorubicine pour ces concentrations dans les solutions préparées avec du glucose 5 %.

Pour les solutions préparées avec le NaCl 0,9 %, le meilleur modèle a été obtenu en utilisant les spectres sans prétraitement sur une partie du spectre allant de 8 550 à 9 000  $\text{cm}^{-1}$ . Le  $R^2$  obtenu est de 0,991 et le  $Q^2$  de 0,958. Le modèle est présenté dans la Figure 6-19.

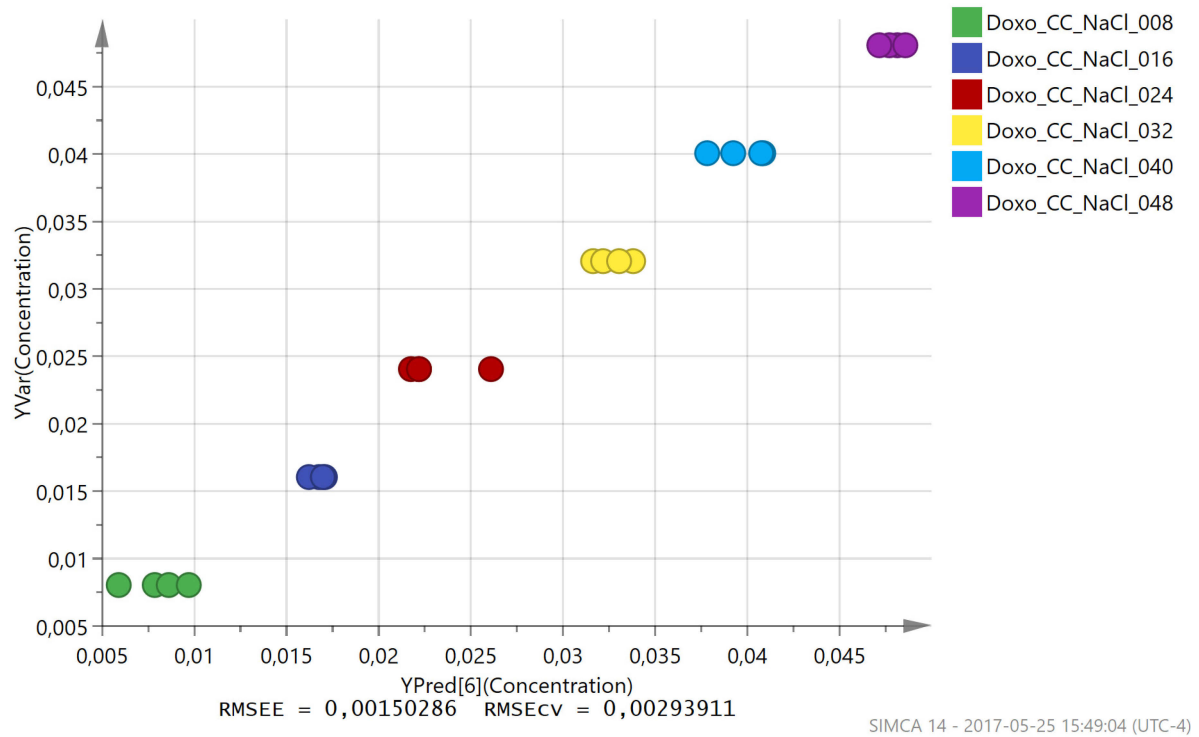


Figure 6-19 - Modèle pour les faibles concentrations des solutions faites avec le NaCl 0,9 %

Une fois le modèle obtenu, d'autres spectres ont été pris avec les mêmes solutions pour tester le modèle obtenu. Les prédictions obtenues sont présentées dans la Figure 6-20, le RMSEP est de 0,028. Ici, l'erreur de prédiction est de 70%.

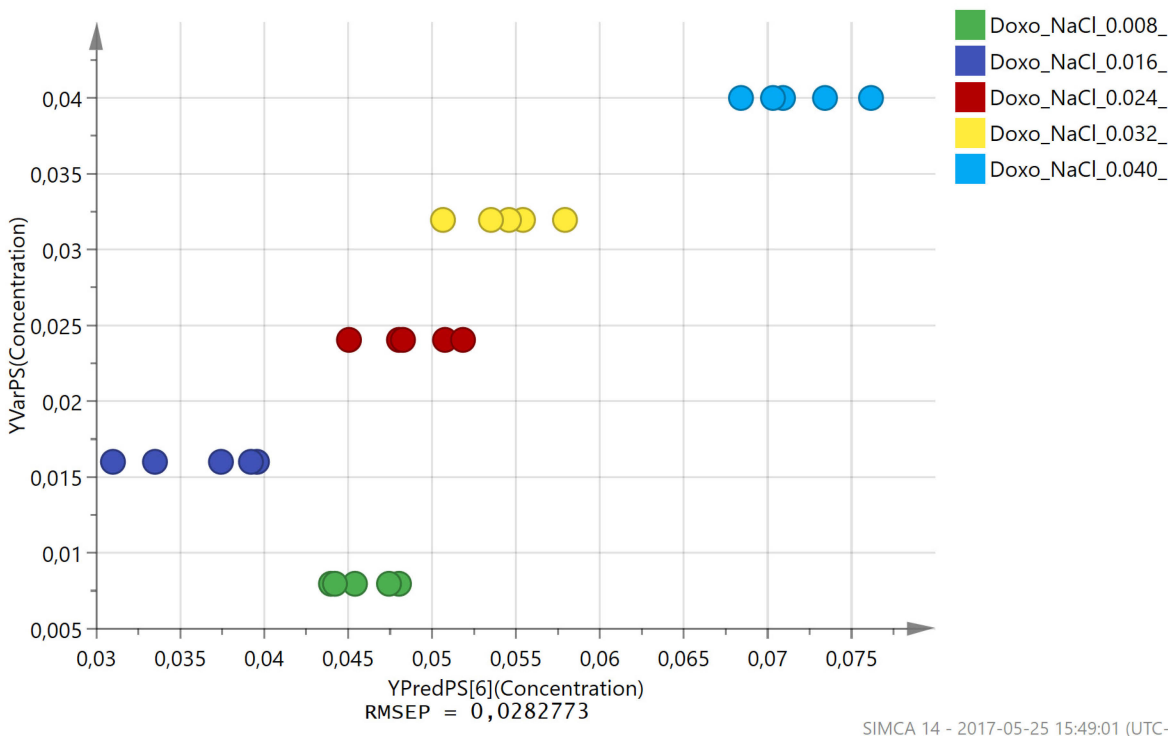


Figure 6-20 - Prédications pour les faibles concentrations préparées avec le NaCl 0,9%

Les prédictions ne correspondent pas aux concentrations testées. Le modèle ne permet pas de quantifier la Doxorubicine pour ces concentrations dans les solutions préparées avec le NaCl 0,9 %.

La concentration testée lors de l'étude de stabilité correspond à la concentration la plus faible injectable à un patient.

Le produit est fabriqué à une concentration de  $2,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ , une courbe de calibration a été réalisée en préparant des concentrations allant de  $0,3$  à  $2,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ . Les meilleurs modèles obtenus sont présentés dans la Figure 6-21 et la Figure 6-23.

Pour les solutions préparées dans le glucose 5 %, le meilleur modèle a été obtenu en utilisant la dérivée seconde comme prétraitement sur la partie du spectre allant  $8\,550$  à  $9\,000 \text{ cm}^{-1}$ . Le  $R^2$  obtenu est de  $0,999$  et le  $Q^2$  de  $0,999$ . Le modèle est présenté dans la Figure 6-21.

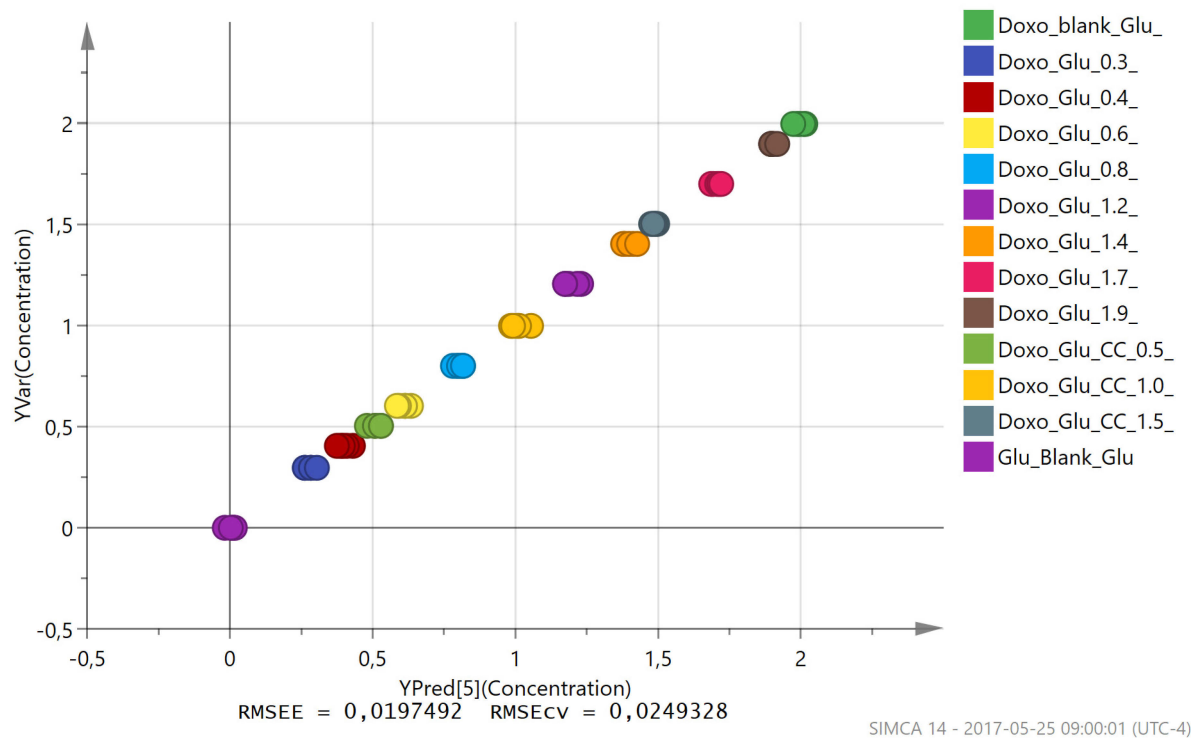


Figure 6-21 - Modèle pour des concentrations allant de 0,3 à 2,0 mg.mL<sup>-1</sup> dans du glucose 5 %

Une fois le modèle obtenu, d'autres spectres ont été pris avec les mêmes solutions pour tester le modèle obtenu. Les prédictions obtenues sont présentées dans la Figure 6-22, le RMSEP est de 0,029. Dans ce cas-ci, les concentrations testées sont plus élevées, allant de 0,3 à 2,0 mg.mL<sup>-1</sup>. L'erreur de prédiction sur la valeur de concentration la plus élevée est de 1,5%, pour la concentration la plus faible, elle est de 9,7%.

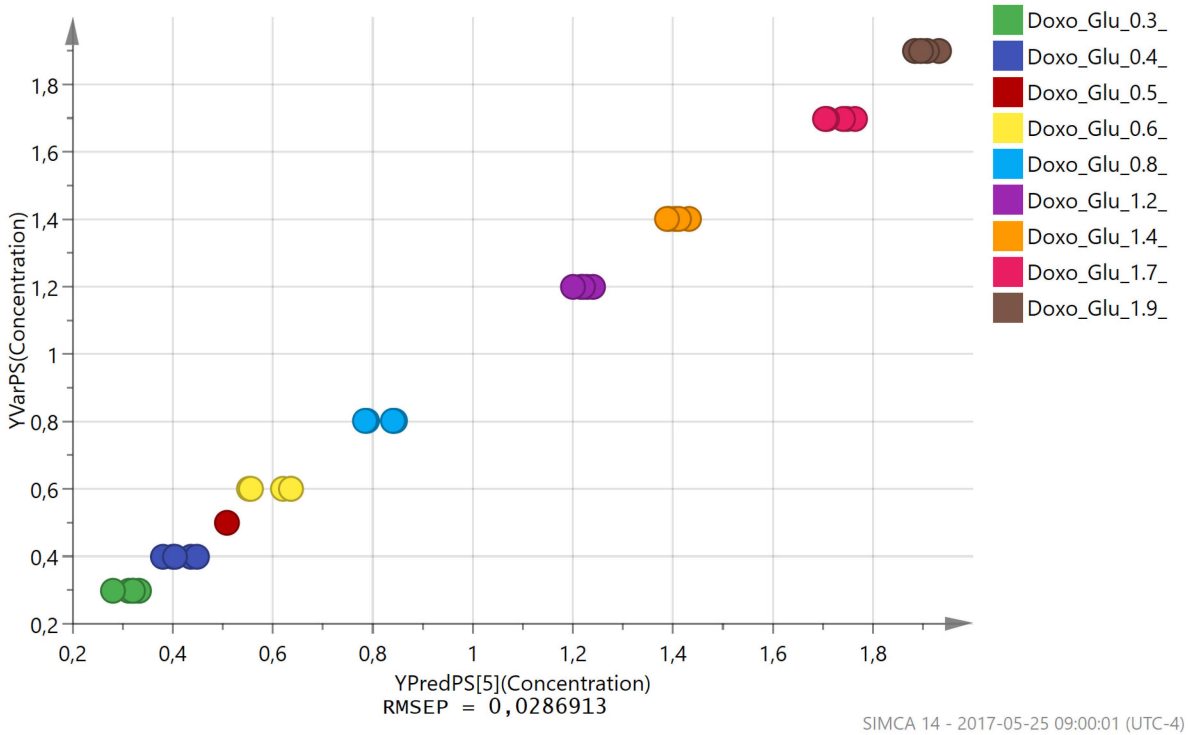


Figure 6-22 - Prédications pour des concentrations allant de 0,3 à 2,0 mg.mL<sup>-1</sup> dans du glucose 5 %

Les prédictions sont bonnes pour les concentrations élevées. On observe plus de variations pour les faibles concentrations.

Pour les solutions préparées dans le NaCl 0,9 %, le meilleur modèle a été obtenu en utilisant sans prétraitement sur la partie du spectre allant 8550 à 9000 cm<sup>-1</sup>. Le R<sup>2</sup> obtenu est de 0,972 et le Q<sup>2</sup> de 0,968. Le modèle est présenté dans la Figure 6-23.



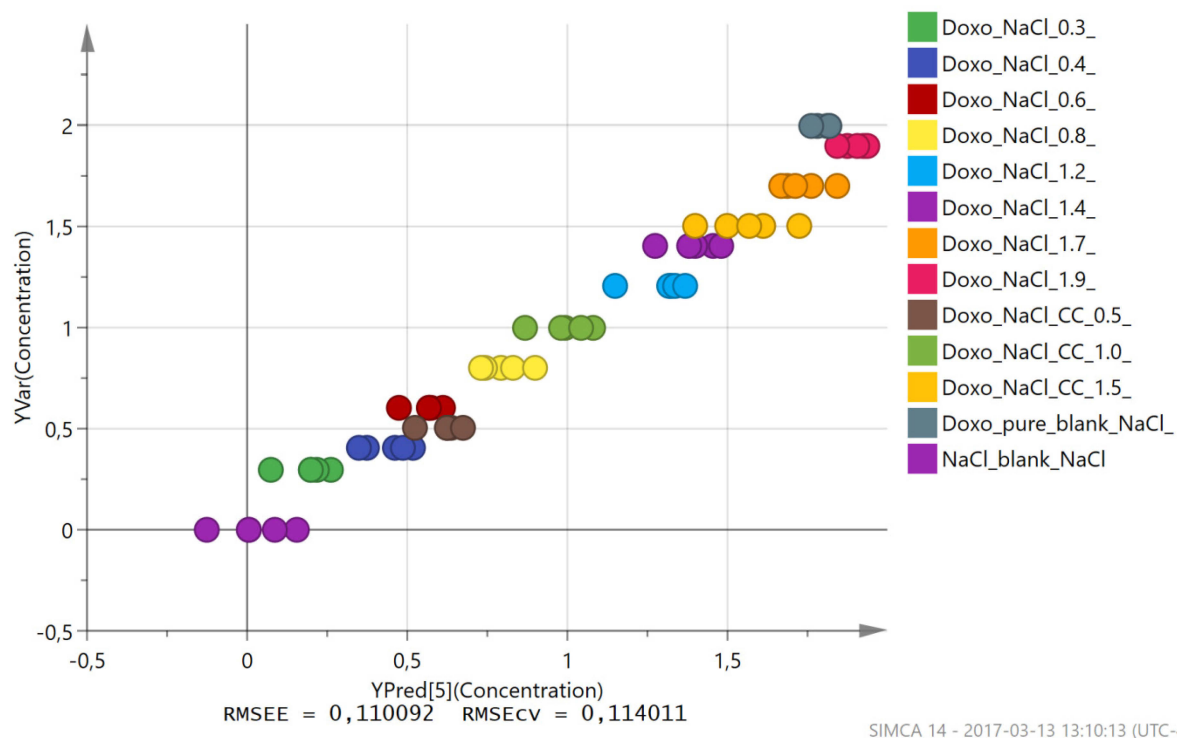


Figure 6-23 - Modèle pour des concentrations allant de 0,3 à 2,0 mg.mL-1 dans du NaCl 0,9 %

Une fois le modèle obtenu, d'autres spectres ont été pris avec les mêmes solutions pour tester le modèle obtenu. Le modèle est moins bon que celui obtenu pour les solutions faites dans le glucose 5 % et nous nous attendons à ce que les prédictions soient moins bonnes également. Les prédictions obtenues sont présentées dans la Figure 6-24, le RMSEP est de 0,312. L'erreur de prédiction sur la concentration la plus élevée est de 15.6% et de 100% pour la concentration la plus faible.

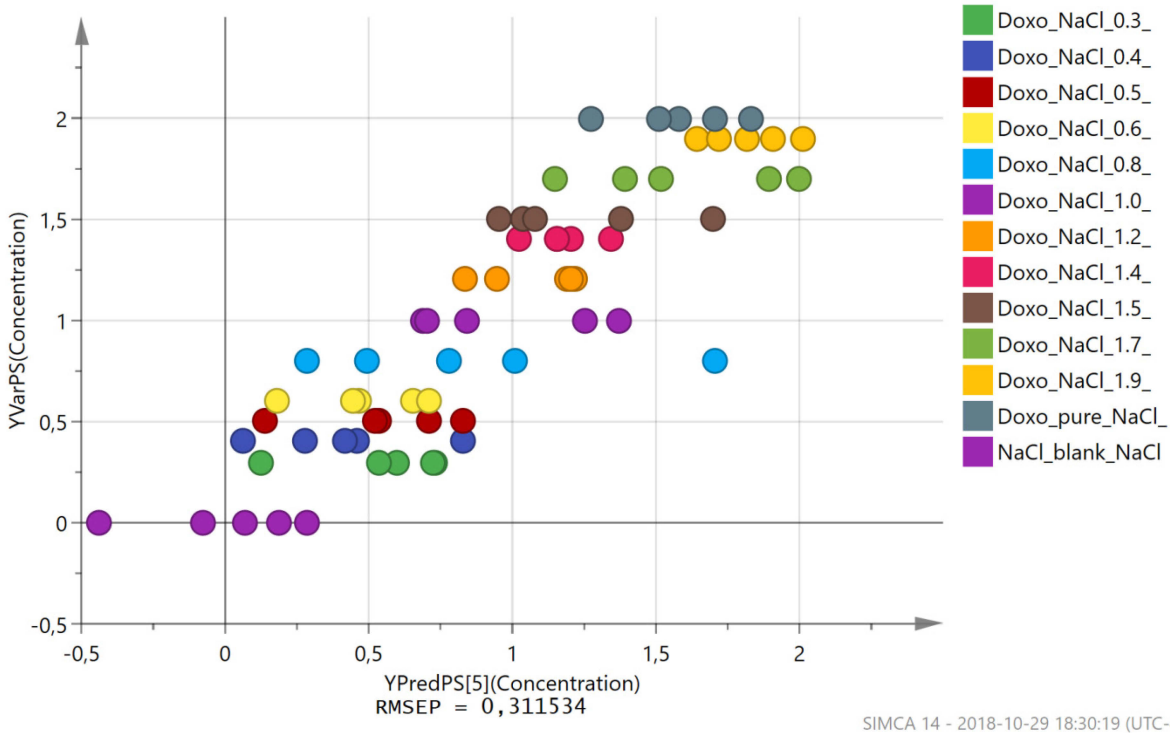


Figure 6-24 - Prédictions pour des concentrations allant de 0,3 à 2,0 mg.mL<sup>-1</sup> dans du NaCl 0,9 %

Les prédictions obtenues pour le NaCl 0,9 % ne sont pas utilisables pour déterminer la concentration en Doxorubicine dans les solutions préparées avec le NaCl 0,9 %.

Le NIR pourrait être utilisé afin de s'assurer de la concentration finale lors de la production du produit par l'entreprise. Pour cela, il faut que la précision soit élevée. En effet, afin de relâcher le produit, il faut qu'il contienne au moins 90 % de la concentration nominale. Il faut donc que la méthode de quantification soit plus précise.

Des solutions ont été préparées à partir du principe actif pour des concentrations allant de 1,80 à 2,20 mg.mL<sup>-1</sup>, avec un incrément de 0,05 mg.mL<sup>-1</sup>. Les modèles obtenus sont présentés dans la Figure 6-25 et la Figure 6-27.

Pour les solutions préparées dans le glucose 5 %, le meilleur modèle a été obtenu en utilisant la partie du spectre allant de 8 550 à 9 000 cm<sup>-1</sup> sans prétraitement. Le R<sup>2</sup> obtenu est de 0,981 et le Q<sup>2</sup> de 0,979. Le modèle est présenté dans la Figure 6-25.

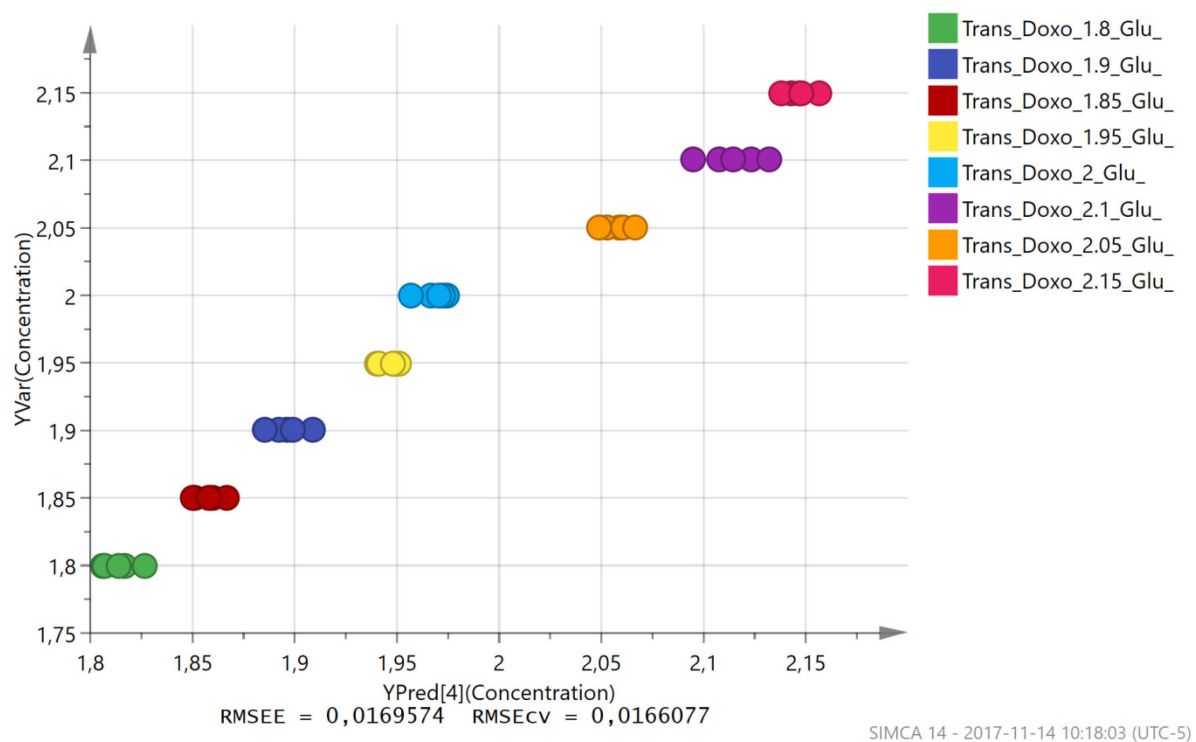
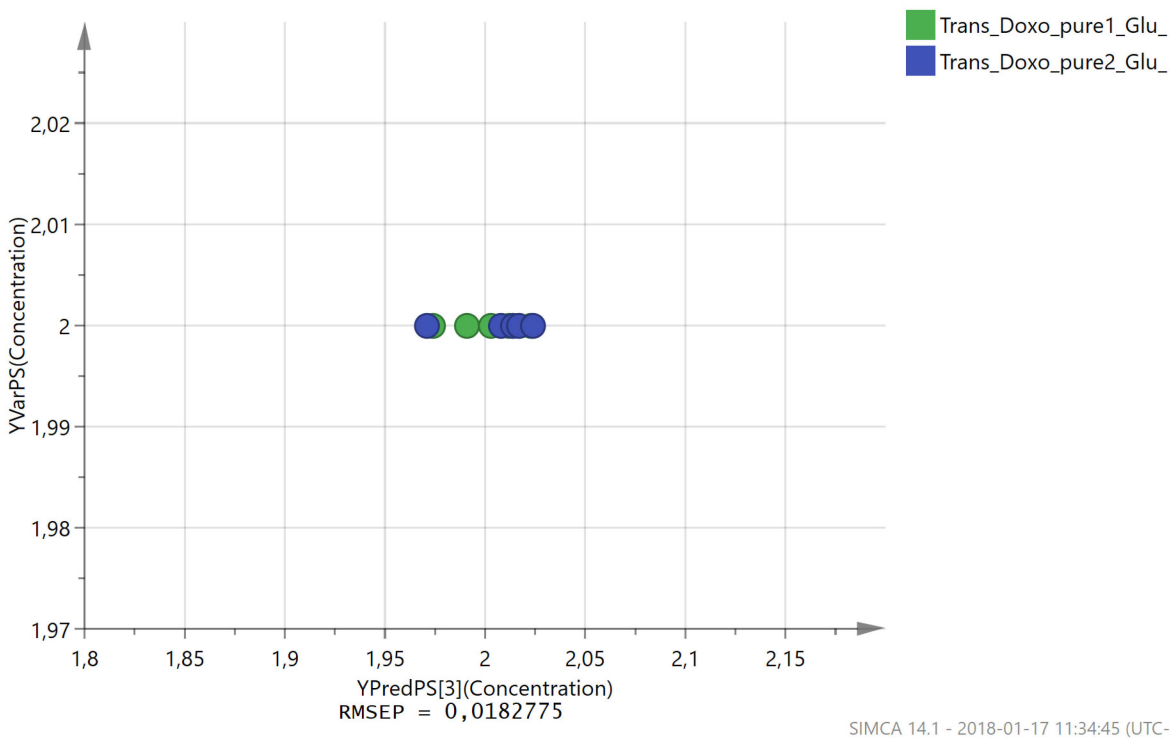


Figure 6-25 - Modèle pour des concentrations allant de 1,80 à 2,20 mg.mL<sup>-1</sup> dans du glucose 5 %

Une fois le modèle obtenu, d'autres spectres ont été pris en utilisant le produit commercial pur. Les prédictions obtenues sont présentées dans la Figure 6-26, le RMSEP est de 0,018.



**Figure 6-26 - Prédictions pour une concentration de 2,00 mg.mL-1 dans du glucose 5 %**

Pour les solutions préparées dans le NaCl 0,9 %, le meilleur modèle a été obtenu en utilisant la partie du spectre allant de 8 550 à 9 000  $\text{cm}^{-1}$  sans prétraitement. Le  $R^2$  obtenu est de 0,954 et le  $Q^2$  de 0,993. Le modèle est présenté dans la Figure 6-27.

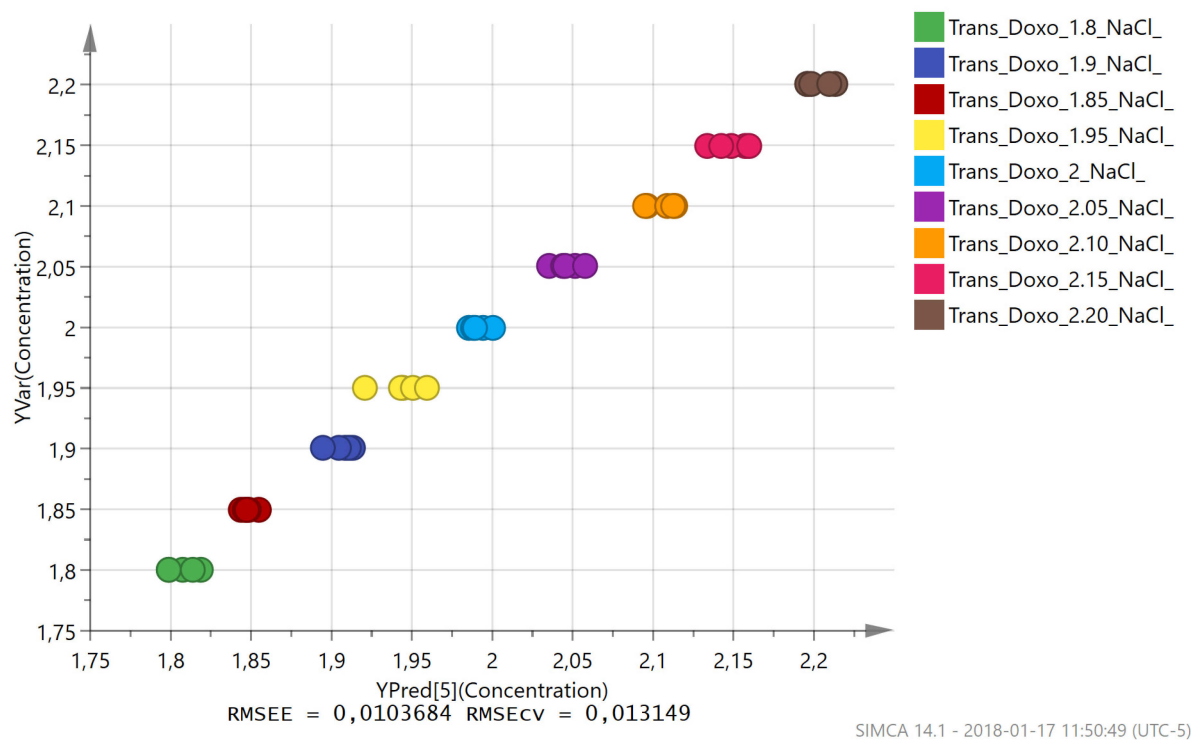


Figure 6-27 - Modèle pour des concentrations allant de 1,80 à 2,20 mg.mL<sup>-1</sup> dans du NaCl 0,9 %

Une fois le modèle obtenu, d'autres spectres ont été pris en utilisant le produit commercial pur. Les prédictions obtenues sont présentées dans la Figure 6-28, le RMSEP est de 0,076.

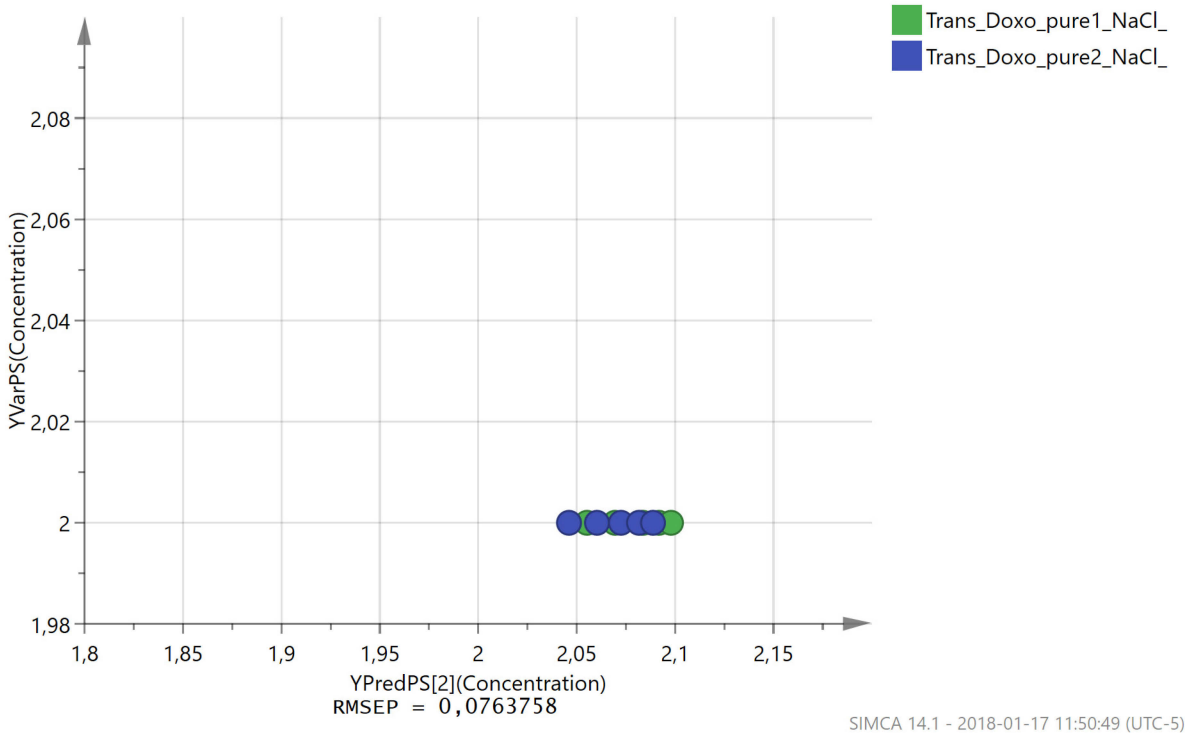


Figure 6-28 - Prédications pour une concentration de 2,00 mg.mL-1 dans du NaCl 0,9 %

Les prédictions sont un peu trop élevées par rapport à la concentration nominale du produit commercial.

Cette étude de quantification de la concentration en Doxorubicine a mis en évidence que les faibles concentrations ne peuvent pas être mesurées de manière précise. Néanmoins, il a été démontré qu'il est possible de mesurer la concentration en Doxorubicine dans les solutions pour des concentrations se rapprochant de la concentration nominale du produit commercial.

La présence de NaCl 0,9 % dans la composition du produit commercial pourrait expliquer la différence entre les modèles obtenus pour les solutions préparées avec les deux diluants.

Des mesures NIR pourraient être prises en ligne, lors de la production du produit, afin de s'assurer de l'obtention de la concentration cible juste avant le remplissage des flacons.

## 6.4. Conclusion générale sur la Doxorubicine

Les différentes études faites sur la Doxorubicine ont permis de déterminer sa stabilité au cours du temps. Les résultats sont résumés dans le Tableau 6-10.

Les solutions de Doxorubicine préparées dans le glucose 5 % et dans le NaCl 0,9 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène claires ou ambrées sont stables au moins pendant une année lorsqu'elles sont conservées à 5 °C.

Les solutions de Doxorubicine préparées dans le NaCl 0,9 % et contenues dans des bouteilles en polypropylène claires ou ambrées sont stables pendant trois mois lorsqu'elles sont conservées à 25 °C.

Les solutions de Doxorubicine préparées dans le glucose 5% et contenues dans des bouteilles en polypropylène claires ou ambrées sont stables pendant six mois lorsqu'elles sont conservées à 25 °C.

**Tableau 6-10 - Stabilité en mois des solutions de Doxorubicine**

Diluant	NaCl 0,9%				Glucose 5%			
Contenant	Bouteilles en polypropylène claires		Bouteilles en polypropylène ambrées		Bouteilles en polypropylène claires		Bouteilles en polypropylène ambrées	
	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C
Température	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C
Stabilité (en mois)	12	3	12	3	12	6	12	6

Ces résultats indiquent que la température a une influence sur la stabilité des produits, car ils sont plus stables lorsqu'ils sont entreposés à 5°C plutôt qu'à 25°C. Lorsqu'ils sont entreposés à la même température, il semble qu'ils soient plus stables dans le glucose 5% que dans le NaCl 0,9%. Outre la composition de ces deux diluants, le pH diffère légèrement entre les deux solutions. Une étude se concentrant sur l'impact du pH a permis de mettre en évidence son influence.

En effet, le pH de la solution a une influence sur sa stabilité. Le diluant, la température et le temps et les interactions entre le temps et la température, le temps et le pH, la température et le pH et le pH et le diluant sont également des éléments qui influent sur la stabilité du produit. Cette étude a permis de mettre en évidence les conditions optimales pour entreposer les solutions. Les meilleures conditions pour la stabilité des solutions de Doxorubicine sont les suivantes : les préparer dans du glucose 5 %, les conserver à 5 °C avec un pH compris entre 3 et 4.

Pour toutes ces études, la quantité de Doxorubicine a été déterminée par une méthode HPLC couplée à un détecteur UV. Cette méthode d'analyse est longue (40 à 50 min pour analyser un point) et elle utilise beaucoup de diluant. Une autre technique plus rapide de quantification de la Doxorubicine a été testée, la spectrophotométrie NIR. Les concentrations utilisées pour l'étude de stabilité se sont révélées trop faibles pour être analysables par cette méthode. Néanmoins, il a été possible d'évaluer la concentration de solution ayant une concentration proche de la concentration nominale du produit (2,0 mg.mL<sup>-1</sup>).

---



# CHAPITRE 7. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La sécurité des patients, la protection du personnel de santé ayant à manipuler des produits oncologiques afin de préparer les médicaments avant administration ont un coût pour les établissements de santé (et pour les patients). La limitation des manipulations lors de la production initiale des médicaments est un élément à prendre en considération par les entreprises pharmaceutiques.

Pour cela, il faut déterminer les raisons pour lesquelles le médicament a besoin d'être manipulé. Dans notre étude, un des éléments expliquant cette manipulation est la stabilité courte des produits lorsqu'ils sont présentés sous leur forme d'administration. La connaissance de la stabilité de ces produits sous leur forme administrable pourra permettre de limiter le nombre de manipulations. Les différentes études réalisées ont permis de déterminer des durées de stabilité pour des solutions reconstituées.

Les résultats de ces études sont présentés dans le Tableau 7-1.

Tableau 7-1 - Récapitulatif des résultats des études de stabilité pour les quatre produits

	<b>Durées de stabilité des produits (en mois)</b>							
	<b>Bouteille en polypropylène claire</b>				<b>Bouteille en polypropylène ambrée</b>			
	<b>5 °C</b>		<b>25 °C</b>		<b>5 °C</b>		<b>25 °C</b>	
	<b>/</b>		<b>/</b>		<b>/</b>		<b>/</b>	
<b>Humidité ambiante</b>		<b>60 % Humidité relative</b>		<b>Humidité ambiante</b>		<b>60 % Humidité relative</b>		
<b>NaCl</b>	<b>Glucose</b>	<b>NaCl</b>	<b>Glucose</b>	<b>NaCl</b>	<b>Glucose</b>	<b>NaCl</b>	<b>Glucose</b>	
<b>0,9 %</b>	<b>5 %</b>	<b>0,9 %</b>	<b>5 %</b>	<b>0,9 %</b>	<b>5 %</b>	<b>0,9 %</b>	<b>5 %</b>	
<b>Épirubicine</b>	12	24	Non testé					
<b>Irinotecan</b>	28		Non testé		28		Non testé	
<b>Doxorubicine</b>	12		3	6	12		3	6
<b>Docetaxel</b>	Non stable							

Les résultats obtenus pour la Doxorubicine, l'Épirubicine et l'Irinotecan donnent une stabilité plus longue que celle trouvée dans la littérature et pour le produit fabriqué par l'entreprise. On passe de quelques heures recommandées dans les RCP respectifs à plusieurs mois, voire des années, dans certaines conditions.

Concernant la Doxorubicine, d'autres éléments ont été mis en évidence durant ces études.

Le pH de la solution ainsi que le diluant, la température et le temps ont une influence sur sa stabilité. Les interactions entre le temps et la température, le temps et le pH, la température et le pH, et le pH et le diluant, ont aussi une influence sur la stabilité du produit en solution. En plus de la stabilité dans les différentes conditions d'entreposage, cette étude a permis de définir quelles sont les meilleures conditions parmi celles étudiées.

Les meilleures conditions pour la stabilité des solutions de Doxorubicine sont de les préparer dans du glucose 5 %, de les conserver à 5 °C avec un pH compris entre 3 et 4.

Durant ces études, une analyse de la quantité de Doxorubicine dans les solutions par spectrophotométrie NIR a été réalisée. Il a été mis en évidence que la concentration pouvait être déterminée pour des concentrations proches de la concentration nominale du produit, mais pas pour les concentrations de l'étude de stabilité, quel que soit le diluant utilisé.

Il a aussi été mis en évidence pour l'Épirubicine que le pH a une influence sur la stabilité du produit. Pour un pH entre 4,80 et 4,90, on observe une baisse de la concentration. Ce pH ne correspond pas à un pKa de l'Épirubicine. L'évolution du pH se faisant au cours du temps, il n'est pas possible de tirer de cette étude une conclusion quant à la question de savoir si la diminution du pH entraîne la dégradation de l'Épirubicine ou si la dégradation de l'Épirubicine provoque la diminution du pH dans la solution. La revue de littérature n'a pas permis de trouver d'autres éléments susceptibles d'étayer une telle conclusion.

Concernant le Docetaxel qui n'est pas stable sous sa forme administrable, d'autres études seraient nécessaires afin de comprendre le phénomène d'apparition des particules

---

---

(conditions favorisant l'apparition de particules ou d'un précipité, cinétique de ce phénomène).

Les différentes études réalisées avec le Docetaxel ont permis de démontrer qu'il n'est pas stable en solution. La présence de particules en suspension est un indicateur de sa non-stabilité, mais leur absence ne signifie pas que le produit est stable.

Il n'a pas pu être mis en évidence une concentration minimale en dessous de laquelle la précipitation n'apparaîtrait pas ou au-dessus de laquelle elle apparaîtrait toujours. L'inspection de chaque solution est nécessaire comme cela est précisé dans le RCP [11]. Il faut s'assurer de l'absence de tout élément pouvant entraîner la précipitation (défaut dans le contenant, particule présente dans les contenants ou dans les équipements permettant le mélange et la préparation des solutions).

Les durées de stabilité pour l'Épirubicine, la Doxorubicine et l'Irinotecan sont beaucoup plus longues que celles recommandées dans les résumés des caractéristiques des produits. Dans ces derniers, ces produits doivent être administrés dans les quatre heures suivant la préparation.

Le fait d'augmenter cette durée de stabilité offre plus de flexibilité aux centres hospitaliers devant préparer ces solutions et ouvre de nouvelles perspectives pour l'entreprise.

En ayant des stabilités pouvant être d'une année, l'entreprise peut produire directement le produit sous sa forme administrable. Les règles d'asepsie et de contrôle des produits étant plus importantes dans le domaine industriel que dans le milieu hospitalier, la sécurité du patient serait accrue.

De plus, cela limiterait les manipulations à effectuer par le personnel de soin des centres hospitaliers, ce qui se traduirait par un gain en temps ainsi qu'une diminution des risques d'exposition aux produits dangereux du personnel de soin [55].

La solution proposée afin de répondre à l'objectif final est de produire directement la solution diluée pour la Doxorubicine, l'Épirubicine et l'Irinotecan.

En ce qui concerne le Docetaxel, étant donné les informations obtenues dans le cadre de ces recherches, il n'est pas possible de le produire sous sa forme diluée. Afin de limiter les

---

manipulations associées à ce produit, il faudra faire des recherches afin de changer sa formulation pour augmenter sa stabilité (injection sous forme de liposomes par exemple [80]–[82]) ou de concevoir un conditionnement permettant la dilution sans contact avec l’environnement extérieur. Néanmoins pour le conditionnement permettant la dilution sans contact avec l’environnement extérieur, le risque d’apparition de particules lors du mélange sera toujours possible et il faudra inspecter la solution avant son administration.

Les produits oncologiques étant administrés en fonction de la surface corporelle du patient et de la façon dont il réagit au traitement, les doses doivent être adaptables. Seuls certains pays, comme au Royaume-Uni, ont autorisé la standardisation des doses. D’autres comme les États-Unis y sont opposés. Les recherches doivent se poursuivre afin d’optimiser la production de produits plus sécuritaires tout en répondant à ces contraintes.

---

---

## RÉFÉRENCES

- [1] S. Dr Gloor and Cl. Guyot, "Fabrication centralisée des cytostatiques, aspects légaux, projet neuchâtelois."
- [2] "Coût de fonctionnement d'une unité de reconstitution des cytotoxiques : estimation des besoins en personnel et équipements et estimation du coût moyen d'une préparation selon le niveau de production et d'exigences - CISMef." [Online]. Available: [http://www.chu-rouen.fr/page/NLM\\_22001702](http://www.chu-rouen.fr/page/NLM_22001702). [Accessed: 28-Oct-2018].
- [3] L. DU Pharmacie Oncologique Chu De Brest -histoire D, U. CENTRALISATION ACCELEREE-V Le Jeune, and N. Mugnier, "LE « PETIT » NOUVEAU."
- [4] Ashp, "Guidelines on Compounding Sterile Preparations."
- [5] C. de travail créé par and A. - Médicaments dangereux, "Guide de prévention - Manipulation sécuritaire des médicaments dangereux," 2007.
- [6] Chus, "Manuel des politiques et procédures pour la manipulation sécuritaire des médicaments dangereux au CHUS."
- [7] A. Coukell, K. E, and C. P, "Risks of Compounded Drugs," *JAMA Intern. Med.*, vol. 174, no. 4, p. 613, Apr. 2014.
- [8] S. M. Levitz, "Compounding drugs contaminated with fungi: a recipe for disaster," *Emerg. Microbes Infect.*, vol. 1, no. 11, p. e41, Nov. 2012.
- [9] C. for D. E. and Research, "Drug Supply Chain Security Act." [Online]. Available: <https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/DrugIntegrityandSupplyChainSecurity/DrugSupplyChainSecurityAct/ucm376829.htm>. [Accessed: 13-Oct-2018].
- [10] P. https, "Dose-Banding of cytotoxic drugs: A new concept in cancer chemotherapy," 2001.
- [11] ANSM, "Résumé des Caractéristiques du Produit Docetaxel," 2013. [Online]. Available: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0221512.htm>. [Accessed: 08-Apr-2018].

- [12] ANSM, “Résumé des Caractéristiques du Produit Doxorubicine,” 2011. [Online]. Available: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0202161.htm>. [Accessed: 08-Apr-2018].
- [13] ANSM, “Résumé des Caractéristiques du Produit Irinotecan,” 2010. [Online]. Available: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0186225.htm>. [Accessed: 08-Apr-2018].
- [14] ANSM, “Résumé des Caractéristiques du Produit Epirubicine,” 2013. [Online]. Available: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0223685.htm>. [Accessed: 08-Apr-2018].
- [15] “BC Cancer Chemotherapy Preparation and Stability Chart© version 2.00 2/48 Activation,” 2006.
- [16] A. G. Patel and S. H. Kaufmann, “How does doxorubicin work?,” *Elife*, vol. 1, p. e00387, Dec. 2012.
- [17] S. Takanashi and N. R. Bachur, “Adriamycin metabolism in man. Evidence from urinary metabolites,” *Drug Metab. Dispos.*, vol. 4, no. 1, 1976.
- [18] R. D. Olson *et al.*, “Doxorubicin cardiotoxicity may be caused by its metabolite, doxorubicinol,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 85, no. 10, pp. 3585–9, May 1988.
- [19] C. F. Thorn *et al.*, “Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects,” *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 21, no. 7, pp. 440–6, Jul. 2011.
- [20] Stabilis, “Monographie - Doxorubicin hydrochloride.” [Online]. Available: <http://www.stabilis.org/Monographie.php?IdMolecule=73&IdOnglet=StabSol#InfosSupp>. [Accessed: 29-Nov-2017].
- [21] C. Bousquet, “STABILITÉ DES MÉDICAMENTS ANTICANCÉREUX INJECTABLES APRÈS RECONSTITUTION ET DILUTION,” UFR des Sciences Pharmaceutiques de Tours “Phillpe Maupas,” 2008.
- [22] O. O. Shevchuk, E. A. Posokhova, L. A. Sakhno, and V. G. Nikolaev, “Theoretical
-

- 
- ground for adsorptive therapy of anthracyclines cardiotoxicity.," *Exp. Oncol.*, vol. 34, no. 4, pp. 314–22, Dec. 2012.
- [23] J. Robert, "Clinical Pharmacokinetics of Epirubicin," *Clin. Pharmacokinet*, vol. 26, no. 6, pp. 428–438, 1994.
- [24] Y. Bennis *et al.*, "Stability of a highly concentrated solution of epirubicin for conventional transcatheter arterial chemoembolization," 2015.
- [25] M. Pujol, M. Muñoz, J. Prat, V. Girona, and J. De Bolós, "Stability study of epirubicin in NaCl 0.9% injection.," *Ann. Pharmacother.*, vol. 31, no. 9, pp. 992–5, Sep. 1997.
- [26] W. Li and R. Koda, "Stability of irinotecan hydrochloride in aqueous solutions," *Am. J. Heal. Pharm.*, vol. 59, no. 6, 2002.
- [27] J. L. Nitiss and W. T. Beck, "Antitopoisomerase drug action and resistance," *Eur. J. Cancer*, vol. 32, no. 6, pp. 958–966, Jun. 1996.
- [28] R. H. J. Mathijssen *et al.*, "Clinical Pharmacokinetics and Metabolism of Irinotecan (CPT-11)," 2001.
- [29] F. K. Kessler, M. R. Kessler, D. J. Auyeung, and J. K. Ritter, "Glucuronidation of acetaminophen catalyzed by multiple rat phenol UDP-glucuronosyltransferases.," *Drug Metab. Dispos.*, vol. 30, no. 3, pp. 324–30, Mar. 2002.
- [30] K. Sai, N. Kaniwa, S. Ozawa, and J. Sawada, "A New Metabolite of Irinotecan in Which Formation Is Mediated by Human Hepatic Cytochrome P-450 3a4," *Drug Metab. Dispos.*, vol. 29, no. 11, 2001.
- [31] J. G. Slatter *et al.*, "Pharmacokinetics, Metabolism, and Excretion of Irinotecan (CPT-11) Following I.V. Infusion of [14C]CPT-11 in Cancer Patients," *Drug Metab. Dispos.*, vol. 28, no. 4, 2000.
- [32] Stabilis, "Monographie - Irinotecan," 2018. [Online]. Available: <http://www.stabilis.org/Monographie.php?IdMolecule=397&PHPSESSID=8f1f097c4e4b13294ed89eac8795c1d4&codeLangue=EN-en>. [Accessed: 09-Apr-2018].
-

- [33] L. Vella-Zarb, R. E. Dinnebier, and U. Baisch, "The Devil is in the Detail: A Rare H-Bonding Motif in New Forms of Docetaxel," *Cryst. Growth Des.*, vol. 13, no. 10, pp. 4402–4410, Oct. 2013.
- [34] R. Panchagnula, "Pharmaceutical aspects of paclitaxel," *Int. J. Pharm.*, vol. 172, no. 1–2, pp. 1–15, Oct. 1998.
- [35] R. S. Herbst and F. R. Khuri, "Mode of action of docetaxel - a basis for combination with novel anticancer agents.," *Cancer Treat. Rev.*, vol. 29, no. 5, pp. 407–15, Oct. 2003.
- [36] B. Monegier, C. Gaillard, S. Sabl?, and M. Vuilhorgne, "Structures of the major human metabolites of docetaxel (RP 56976 - Taxotere?)," *Tetrahedron Lett.*, vol. 35, no. 22, pp. 3715–3718, May 1994.
- [37] S. Baker *et al.*, "Pharmacogenetic Pathway Analysis of Docetaxel Elimination," *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 85, no. 2, p. 155, Feb. 2009.
- [38] D. J. Mazzo, J.-J. Nguyen-Huu, S. Pagniez, and P. Denis, "Compatibility of docetaxel and paclitaxel in intravenous solutions with polyvinyl chloride infusion materials," *Am J Heal. Pharm*, vol. 54, no. 54, pp. 566–9, 1997.
- [39] J. Thiesen and I. Krämer, "Physico-chemical stability of docetaxel premix solution and docetaxel infusion solutions in PVC bags and polyolefine containers," *Pharm. World Sci.*, vol. 21, no. 3, pp. 137–141, 1999.
- [40] C. Labbé, "Docetaxel Stabilis." [Online]. Available: <http://www.stabilis.org/Monographie.pdf.php?Molecule=Docetaxel>. [Accessed: 14-Jun-2017].
- [41] A. A. Eroles, I. M. Bafalluy, and J. A. S. Arnaiz, "Stability of docetaxel diluted to 0.3 or 0.9 mg/mL with 0.9% sodium chloride injection and stored in polyolefin or glass containers.," *Am. J. Health. Syst. Pharm.*, vol. 66, no. 17, pp. 1565–8, Sep. 2009.
- [42] Ligue contre le Cancer, "La chimiothérapie," 2015. [Online]. Available: [https://www.ligue-cancer.net/article/7492\\_la-chimiotherapie](https://www.ligue-cancer.net/article/7492_la-chimiotherapie). [Accessed: 09-Apr-2018].
-



- 
- [43] Ligue contre le Cancer, “La radiothérapie,” 2015. [Online]. Available: [https://www.ligue-cancer.net/article/7493\\_la-radiotherapie](https://www.ligue-cancer.net/article/7493_la-radiotherapie). [Accessed: 09-Apr-2018].
- [44] Ligue contre le Cancer, “L’hormonothérapie,” 2015. [Online]. Available: [https://www.ligue-cancer.net/article/7496\\_l-hormonotherapie](https://www.ligue-cancer.net/article/7496_l-hormonotherapie). [Accessed: 09-Apr-2018].
- [45] Ligue contre le Cancer, “L’immunothérapie,” 2015. [Online]. Available: [https://www.ligue-cancer.net/article/7497\\_l-immunotherapie](https://www.ligue-cancer.net/article/7497_l-immunotherapie). [Accessed: 09-Apr-2018].
- [46] Ligue contre le Cancer, “La chirurgie réparatrice,” 2015. [Online]. Available: [https://www.ligue-cancer.net/article/7501\\_traitement-chirurgicaux-](https://www.ligue-cancer.net/article/7501_traitement-chirurgicaux-). [Accessed: 09-Apr-2018].
- [47] Ligue contre le Cancer, “La thérapie génique,” 2015. [Online]. Available: [https://www.ligue-cancer.net/article/7495\\_la-therapie-genique](https://www.ligue-cancer.net/article/7495_la-therapie-genique). [Accessed: 09-Apr-2018].
- [48] Ligue contre le Cancer, “Thérapies cellulaires et greffes,” 2015. [Online]. Available: [https://www.ligue-cancer.net/article/7494\\_les-therapies-cellulaires-greffes-](https://www.ligue-cancer.net/article/7494_les-therapies-cellulaires-greffes-). [Accessed: 09-Apr-2018].
- [49] ANSM, “Les préparations hospitalières,” 2017. [Online]. Available: [http://ansm.sante.fr/Activites/Preparations-hospitalieres-magistrales-et-officinales/Les-preparations-hospitalieres/\(offset\)/1](http://ansm.sante.fr/Activites/Preparations-hospitalieres-magistrales-et-officinales/Les-preparations-hospitalieres/(offset)/1). [Accessed: 09-Apr-2018].
- [50] J. E. Tisdale and K. W. Hall, “La pharmacie hospitalière au Canada : une longueur d’avance,” *CJHP*, vol. 65, no. 65, 2012.
- [51] W. State Department of Health - Health Systems Quality Assurance - Construction Review Services, “USP Pharmaceutical Compounding -Sterile Preparations,” 2008.
- [52] “HAZARDOUS STERILE PREPARATIONS ®.”
- [53] “Guidance for Industry Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing — Current Good Manufacturing Practice,” pp. 301–827, 2004.
-

- 
- [54] USP, “(71) Sterility tests.”
- [55] M. Neuss *et al.*, “2016 Updated American Society of Clinical Oncology/Oncology Nursing Society Chemotherapy Administration Safety Standards, Including Standards for Pediatric Oncology,” *Oncol. Nurs. Forum*, vol. 44, no. 1, pp. 31–43, 2017.
- [56] T. De Castella, “Oncology nurses may be at risk from chemotherapy contamination,” 2017.
- [57] S. Williamson, “Guidelines for the Dose Banding of Cancer Chemotherapy.”
- [58] S. Williamson, “GUIDELINES FOR THE DOSE BANDING OF CANCER CHEMOTHERAPY &quot;Quality and safety for every patient every time&quot;,” 2013.
- [59] “Extravasation Classification of Systemic Anti-Cancer Therapy Background Document,” 2017.
- [60] “Chemotherapy extravasation guideline Chemotherapy extravasation in practice,” 2009.
- [61] “U.S. Pharmacopeia.” [Online]. Available: <http://www.usp.org/>. [Accessed: 28-Oct-2018].
- [62] “Pharmacopée européenne 9e Edition | EDQM - Direction européenne de la qualité du médicament.” [Online]. Available: <https://www.edqm.eu/fr/9e-edition-de-pharmacopee-europeenne>. [Accessed: 28-Oct-2018].
- [63] “Home - British Pharmacopoeia.” [Online]. Available: <https://www.pharmacopoeia.com/>. [Accessed: 28-Oct-2018].
- [64] “The Japanese Pharmacopoeia, Seventeenth Edition Edition (JP17).” [Online]. Available: <http://jpdb.nihs.go.jp/jp17e/>. [Accessed: 28-Oct-2018].
- [65] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), and Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), “Guidance for INdustry Q1A(R2) Stability Testing of New drug substances and products,” 2003.
-

- 
- [66] Fda, Cder, Beers, and Donald, “Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics Guidance for Industry,” 2015.
- [67] Fda, Cder, Beers, and Donald, “Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics Guidance for Industry,” 2015.
- [68] “Ligne directrice - Développement Pharmaceutique ICH thème Q8(R2) - Canada.ca.” [Online]. Available: <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/medicaments-produits-sante/medicaments/demandes-presentations/lignes-directrices/international-conference-harmonisation/qualite/developpement-pharmaceutique-theme.html>. [Accessed: 03-Dec-2017].
- [69] USP, “PARTICULATE MATTER IN INJECTIONS.”
- [70] B. Coulter and S. Kraemer Blvd, “Instruction For Use LS 13 320 Laser Diffraction Particle Size Analyzer,” 2011.
- [71] EMA, “Guideline on the use of near infrared spectroscopy by the pharmaceutical industry and the data requirements for new submissions and variations,” 2014.
- [72] U. S. D. of H. and H. Services, F. and D. Administration, and C. for D. E. and R. (CDER), “Development and Submission of Near Infrared Analytical Procedures Guidance for Industry,” 2015.
- [73] S. Macleod and G. J. Sewell, “Physical and chemical stability of docetaxel infusions in polyolef in bags containing 0.9% sodium chloride or 5% glucose at 5°C and 25°C,” vol. 17, 2011.
- [74] D. C. Montgomery, *Design and analysis of experiments*. .
- [75] National Center for Biotechnology Information, “Propylen Glycol.” [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1030>.
- [76] National Center for Biotechnology Information, “Tween 80 | C32H60O10 - PubChem.” [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/443315#section=Top>. [Accessed: 10-Apr-2018].
-

- 
- [77] National Center for Biotechnology Information, “Citric Acid PubChem.” [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/311#section=Information-Sources>. [Accessed: 10-Apr-2018].
- [78] National Center for Biotechnology Information, “Edetate disodium | C10H14N2Na2O8 - PubChem.” [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8759>. [Accessed: 10-Apr-2018].
- [79] National Center for Biotechnology Information, “Absolute ethanol.” [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/702#section=Solubility>.
- [80] M. S. Muthu, S. A. Kulkarni, A. Raju, and S.-S. Feng, “Theranostic liposomes of TPGS coating for targeted co-delivery of docetaxel and quantum dots,” *Biomaterials*, vol. 33, no. 12, pp. 3494–3501, Apr. 2012.
- [81] A. Yousefi, F. ESMAEILI, S. RAHIMIAN, F. ATYABI, and R. DINARVAND, “Preparation and In Vitro Evaluation of A Pegylated Nano-Liposomal Formulation Containing Docetaxel,” *Sci. Pharm.*, vol. 77, no. 2, pp. 453–464, Mar. 2009.
- [82] M. L. Immordino, P. Brusa, S. Arpicco, B. Stella, F. Dosio, and L. Cattel, “Preparation, characterization, cytotoxicity and pharmacokinetics of liposomes containing docetaxel,” *J. Control. Release*, vol. 91, no. 3, pp. 417–429, Sep. 2003.
-