

Etude de stabilité de gélules de Captopril à usage pédiatrique

Nicolas Veran

▶ **To cite this version:**

Nicolas Veran. Etude de stabilité de gélules de Captopril à usage pédiatrique. Sciences pharmaceutiques. 2010. hal-01738815

HAL Id: hal-01738815
https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01738815

Submitted on 20 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE HENRI POINCARE - NANCY I

2009

FACULTE DE PHARMACIE

MEMOIRE
du DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES de PHARMACIE HOSPITALIERE et des COLLECTIVITES

Soutenu devant le Jury Interrégional

Le 03/02/2010

par Nicolas VERAN
né le 30 décembre 1979

Conformément aux dispositions de l'arrêté

du 4 octobre 1988 tient lieu de

THESE
pour le DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR en PHARMACIE

ETUDE DE STABILITE DE GELULES DE CAPTOPRIL A USAGE PEDIATRIQUE

Membres du Jury

Président :	M. le docteur Stéphane GIBAUD,	Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie, Nancy
Juges :	M. le docteur Philippe FAGNONI,	Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie, Dijon
	M. le docteur Jean VIGNERON,	Praticien Hospitalier, Nancy
	Mlle le docteur Nathalie COMMUN,	Praticien Hospitalier, Nancy

UNIVERSITÉ Henri Poincaré, NANCY 1
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2009-2010

DOYEN
Chantal FINANCE
Vice-Doyen
Francine PAULUS
Président du Conseil de la Pédagogie
Pierre LABRUDE
Commission de la Recherche
Jean-Claude BLOCK
Mobilité ERASMUS et Communication
Francine KEDZIEREWICZ
Hygiène Sécurité
Laurent DIEZ

Responsable de la filière Officine : Francine PAULUS

Responsables de la filière Industrie : Isabelle LARTAUD,
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable du Collège d'Enseignement : Jean-Michel SIMON
Pharmaceutique Hospitalier

DOYEN HONORAIRE
Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES
Jeffrey ATKINSON
Marie-Madeleine GALTEAU
Gérard SIEST
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES
Roger BONALY
Thérèse GIRARD
Maurice HOFFMANN
Michel JACQUE
Lucien LALLOZ
Pierre LECTARD
Vincent LOPPINET
Marcel MIRJOLET
François MORTIER
Maurice PIERFITTE
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES
Gérald CATAU
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Andrée IMBS
Marie-Hélène LIVERTOUX
Jean-Louis MONAL
Dominique NOTTER
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ASSISTANT HONORAIRE
Marie-Catherine BERTHE

ENSEIGNANTS

PROFESSEURS

Gilles AULAGNER .....Pharmacie clinique
Alain BAGREL .....Biochimie
Jean-Claude BLOCK .....Santé publique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON .....Pharmacologie cardiovasculaire
Chantal FINANCE .....Virologie, Immunologie
Pascale FRIANT-MICHEL.....Mathématiques, Physique, Audioprothèse
Christophe GANTZER .....Microbiologie environnementale
Max HENRY .....Botanique, Mycologie
Jean-Yves JOUZEAU .....Bioanalyse du médicament
Pierre LABRUDE .....Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile
Isabelle LARTAUD .....Pharmacologie cardiovasculaire
Dominique LAURAIN-MATTAR.....Pharmacognosie
Brigitte LEININGER-MULLER .....Biochimie
Pierre LEROY .....Chimie physique générale
Philippe MAINCENT .....Pharmacie galénique
Alain MARSURA .....Chimie thérapeutique
Patrick MENU .....Physiologie
Jean-Louis MERLIN.....Biologie cellulaire oncologique
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS .....Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN .....Biochimie, Biologie moléculaire
Jean-Michel SIMON .....Economie de la santé, législation pharmaceutique

MAITRES DE CONFÉRENCES

Monique ALBERT .....Bactériologie, Virologie
Sandrine BANAS .....Parasitologie
Mariette BEAUD .....Biologie cellulaire
Emmanuelle BENOIT .....Communication et santé
Isabelle BERTRAND.....Microbiologie environnementale
Michel BOISBRUN .....Chimie thérapeutique
François BONNEAUX .....Chimie thérapeutique
Ariane BOUDIER .....Chimie Physique
Cédric BOURA .....Physiologie
Jean-Claude CHEVIN .....Chimie générale et minérale
Igor CLAROT .....Chimie analytique
Jocelyne COLLOMB .....Parasitologie, Mycologie
Joël COULON.....Biochimie
Sébastien DADE .....Bio-informatique
Dominique DECOLIN .....Chimie analytique

Béatrice DEMORE.....Pharmacie clinique
Joël DUCOURNEAU .....Biophysique, audioprothèse, acoustique
Florence DUMARCAY.....Chimie thérapeutique
François DUPUIS.....Pharmacologie
Raphaël DUVAL .....Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE .....Hématologie
Adel FAIZ .....Biophysique-accoustique
Luc FERRARI .....Toxicologie
Stéphane GIBAUD .....Pharmacie clinique
Thierry HUMBERT .....Chimie organique
Frédéric JORAND .....Santé et environnement
Olivier JOUBERT.....Toxicologie, sécurité sanitaire
Francine KEDZIEREWICZ .....Pharmacie galénique
Alexandrine LAMBERT .....Informatique, Biostatistiques
Faten MERHI-SOUSSI.....Hématologie biologique
Christophe MERLIN .....Microbiologie environnementale et moléculaire
Blandine MOREAU .....Pharmacognosie
Maxime MOURER .....Pharmacochimie supramoléculaire
Francine PAULUS .....Informatique
Christine PERDICAKIS .....Chimie organique
Caroline PERRIN-SARRADO .....Pharmacologie
Virginie PICHON .....Biophysique
Anne SAPIN.....Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER .....Mycologie, Botanique
Nathalie THILLY .....Santé publique
Gabriel TROCKLE .....Pharmacologie
Marie-Noëlle VAULTIER .....Biodiversité végétale et fongique
Mohamed ZAIOU .....Biochimie et Biologie moléculaire
Colette ZINUTTI .....Pharmacie galénique

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER .....Sémiologie

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD .....Anglais

ASSISTANT

Annie PAVIS .....Bactériologie

Bibliothèque Universitaire Santé - Lionnois (Pharmacie - Odontologie)

Anne-Pascale PARRET..... Directeur

SERMENT DES APOTHICAIRES

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

Ð' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

Ð'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

Ðe ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

A Monsieur le Docteur S. GIBAUD,

Pour me faire l'honneur de présider la soutenance de ma thèse,
je vous exprime toute ma reconnaissance.

A Monsieur le Docteur J. VIGNERON,

Pour avoir accepté de diriger cette thèse, votre patience et vos conseils, je vous adresse ma profonde gratitude.

A Monsieur le Docteur P. FAGNONI,

Pour avoir accepté de participer au jury de cette thèse,
je vous remercie sincèrement.

A Melle le Docteur N. COMMUN,

Pour avoir accepté de juger ce travail,
veuillez trouver ici mes plus vifs remerciements.

A Madame le Docteur Sophie HENN-MENETRE,
Pour avoir rendu ce travail possible.

A Monsieur Hubert ZENIER,
Pour votre aide et vos conseils.

A Monsieur le Professeur Jean-Michel SIMON,
Pour vos encouragements.

A toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à ce travail,
Merci, du fond du coeur.

A mes parents,

Avec toute mon affection,
Pour votre aide, vos encouragements, votre patience.
Les mots sont peu de choses, mais je vous remercie.

A mon frère Guillaume,
A ma famille,
Pour votre présence, merci à vous tous.

A Guillaume et Sabrina,
Merci pour votre soutien et votre amitié.

A Aurélie et Nathalie,
On se connaît depuis le lycée… Merci d'être là.

A Lysiane,
C'est enfin mon tour… Merci pour ton amitié.

A mes amis,
J'ai fini !

Au Club du PCB,
Vous savez pourquoi.

Table des matières

Table des matières 1

Liste des abréviations 4

Introduction 5

I Le captopril 8

I.1 Présentation de la molécule 8

I.2 Historique 9

I.3 Indications, posologie et mode d'administration 10

I.4 Mécanisme d'action 13

I.5 Pharmacocinétique 14

I.6 Effets indésirables, interactions médicamenteuses et contre-indications 15

I.6.1 Effets indésirables 15

I.6.2 Interactions médicamenteuses 16

I.6.3 Contre-indications 17

I.7 Stabilité du captopril 17

II Problématique et objectifs 20

II.1 Problématique 20

II.2 Objectifs 20

III Matériel et méthode 22

III.1 Matériel 22

III.2 Réactifs 23

III.3 Excipients utilisés 24

III.3.1 Le mannitol 24

III.3.2 La cellulose microcristalline 24
IV Validation de la méthode 26
IV.1 Conditions chromatographiques 26
IV.1.1 Détermination de la composition de la phase mobile : 26
IV.1.2 Détermination de la concentration test 28
IV.1.3 Validation de la méthode 28
IV.1.4 Grandeurs chromatographiques expérimentales 28
IV.1.4.1 Efficacité 28
IV.1.4.2 Facteur de capacité (ou coefficient de distribution massique) 29
IV.1.4.3 Facteur de symétrie (ou traînée de pic) 29
IV.2 Plan de manipulation 30
IV.2.1 Etude de la solubilité des excipients 30
IV.2.2 Essai de dégradation forcée et spécificité de la méthode 32
IV.2.3 Linéarité 36
IV.2.4 Reproductibilité intra-série 40
IV.2.5 Reproductibilité inter-série 42
IV.3 Préparation des échantillons 44
IV.3.1 Tests de conformité des gélules fabriquées 44
IV.3.1.1 Essai d'uniformité de masse 44
IV.3.1.2 Essai d'uniformité de teneur (Pharmacopée Européenne) 45
IV.3.2 Validation des calculs préliminaires 45
IV.3.3 Calcul des prises d'essai 46
V Stabilité du captopril 48
V.1 Dosage des gélules de captopril 0,5 mg (excipient : mannitol) 48
V.2 Dosage des gélules de captopril 5 mg (excipient : mannitol) 51

V.3 Dosage des gélules de captopril 10 mg (excipient : mannitol) 54
V.4 Dosage des gélules de captopril 0,5 mg (excipient : cellulose) 56
V.5 Dosage des gélules de captopril 5 mg (excipient : cellulose) 59
V.6 Dosage des gélules de captopril 10 mg (excipient : cellulose) 61
VI Discussion 63
VI.1 Validation de la méthode de dosage 63
VI.2 Mise en évidence des produits de dégradation 64
VI.3 Premier résultats de l'étude de stabilité 64
Conclusion 67
Bibliographie 68
Liste des figures 77
Liste des tableaux 79
ANNEXE A 81
ANNEXE B 83
ANNEXE C 84
ANNEXE D 88

Liste des abréviations

AFSSAPS :	**Agence Française de Sécurité SAnitaire des Produits de Santé**
AMM :	**Autorisation de Mise sur le Marché**
ATU :	**Autorisation Temporaire d'Utilisation**
BK :	**Bradykinine**
BPF	**Bonnes pratiques de Fabrication**
BPP :	**Bonnes Pratiques de Préparation**
CHU :	**Centre hospitalier Universitaire**
CLHP :	**Chromatographie Liquide Haute Performance**
ECA :	**Enzyme de Conversion de l'Angiotensine**
GMPc :	**Guanosine MonoPhosphate cyclique**
HTA :	**HyperTension Artérielle**
ICH :	**International Conference of Harmonization**
IEC :	**Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion**
PH :	**Préparation Hospitalière**
PUI :	**Pharmacie à Usage Intérieur**
RCP :	**Résumé des Caractéristiques du Produit**

Introduction

L'enfant est considéré comme un patient particulièrement à risque, en médecine libérale et à l'hôpital, l'une des raisons étant que les spécialités commerciales disponibles sont souvent inadaptées à un usage pédiatrique [1, 2, 3, 4, 5]. L'absence d'étude clinique chez l'enfant se traduit par l'absence d'indications et de posologies pédiatriques dans les résumés des caractéristiques du produit (RCP). Les dosages des spécialités commerciales sont souvent très supérieurs à ce qui serait nécessaire à l'enfant tant pour les formes orales qu'injectables, ce qui conduit au prélèvement de faibles volumes avec une précision médiocre, et qui génère ainsi une perte de principe actif inacceptable pour les spécialités coûteuses. De plus, les formes orales solides ne peuvent être avalées par les enfants de moins de six ans. Les excipients utilisés sont aussi parfois déconseillés chez l'enfant [6, 7]. Face à cette situation, le pharmacien hospitalier se voit dans l'obligation de déconditionner de nombreuses spécialités, afin de préparer des formes prêtes à l'emploi utilisables en pratique pédiatrique. Les pharmaciens hospitaliers doivent, depuis novembre 2004, déclarer à l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé toutes les préparations hospitalières effectuées, et transmettre un bilan qualitatif et quantitatif d'activité tous les 2 ans. Conformément aux dispositions de l'arrêté du 29 décembre 2003 relatif à la déclaration des préparations hospitalières, l'Afssaps établit tous les deux ans un rapport d'analyse des données reçues [8].
Ceci permet d'évaluer le caractère indispensable de la préparation, pour que celle-ci corresponde pleinement à la définition de préparation hospitalière. Pour rappel, il ne s'agit pas d'une évaluation de l'efficacité et de la sécurité de la préparation hospitalière (PH) mais de son caractère indispensable au regard de la définition d'une PH (réalisation en l'absence de spécialité disponible ou adaptée bénéficiant d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) ou d'une Autorisation Temporaire d'Utilisation (ATU)).

Un travail préliminaire a été effectué, portant sur une analyse des préparations effectuées à l'hôpital d'enfant par rapport aux données des rapports d'analyse des préparations hospitalières déclarées à l'Afssaps sur la période Janvier 2004 /Janvier 2006 et de Janvier 2006/Janvier 2008 [9, 10].
Il faut noter que :

- 44% des préparations hospitalières déclarées concernent la pédiatrie en 2006 / 49% en 2008.
- 56% des préparations hospitalières déclarées sont des gélules en 2006 / plus de 50% en 2008.
- Les préparations hospitalières pédiatriques à base de captopril sont les plus fréquemment déclarées (26 PUI sur 129).

Suite à l'évaluation et à l'analyse des bilans envoyés à l'Afssaps, il ressort que sur les 50 préparations étudiées, 34 ont un caractère indispensable dont 32 en pédiatrie.
L'analyse du bilan d'activité de l'hôpital d'enfants a montré que sur les trois dernières années la production ne cesse d'augmenter, et peut être considérée comme linéaire dans le temps [9].
Ce travail avait pour but de répertorier les préparations effectuées afin de faire ressortir les plus fabriquées. Il est important de signaler que le captopril correspond, à lui seul, à 24 % de la fabrication hospitalière totale de gélules. Il existe cependant une forme en soluté buvable de captopril, CAPOTEN®, du laboratoire BMS©, médicament sous ATU nominative, mais dont l'approvisionnement par le laboratoire fabricant ne permet pas l'utilisation en grandes quantités (150 ATU accordée en 2007 et 295 en 2008). L'hôpital d'enfants a donc fait le choix de fabriquer des gélules afin de répondre de façon satisfaisante aux besoins des patients.
De plus le captopril figure sur la liste des préparations hospitalières jugées comme « indispensables » par l'Afssaps en juillet 2007.
Actuellement, aucune étude de stabilité de cette préparation n'est disponible.

Le guide de bonnes pratiques de préparation (BPP) [11] publié au bulletin officiel 2007/7 bis fixe les principes qui s'appliquent à l'ensemble des préparations (magistrales, officinales et hospitalières), réalisées notamment au sein des Pharmacies à Usage Intérieur (PUI) dûment autorisées. En ce qui concerne la date limite d'utilisation, les BPP précisent :

- dans le chapitre « Préparations : » 1.5.2 Date limite d'utilisation : « La date limite d'utilisation des préparations terminées est fixée à la suite d'études bibliographiques et/ou d'essais de stabilité. A défaut, la date limite d'utilisation ne peut dépasser un mois. Cette limite peut être réduite en fonction de la stabilité de la préparation. »
- dans le chapitre « Contrôles » : « A côté des missions et exigences mentionnés ci-dessus, le pharmacien a d'autres attributions telles que : ...le contrôle de la stabilité des produits ;... »

Ces différents éléments ont poussé la Pharmacie du CHU de Nancy à initier une étude de la stabilité sur deux ans des gélules de captopril à usage pédiatrique fabriquées à la pharmacie de l'Hôpital d'Enfant, afin de pouvoir prolonger la péremption de ses préparations. Comme défini en concertation avec le corps médical, trois dosages seront étudiés : 0,5 mg, 5 mg et 10 mg. Dans le cadre de ce travail, les résultats seront exploités jusqu'à 3 mois.

I Le captopril

I.1 Présentation de la molécule

Une monographie du captopril figure à la Pharmacopée Européenne [12].

Nom chimique : Acide (2S)-1-[(2S)-2-méthyl-3-sulfanylpropanoyl]pyrrolidine-2-carboxylique

Dénomination commune internationale : captopril

Formule brute : $C_9H_{15}NO_3S$

Formule développée :

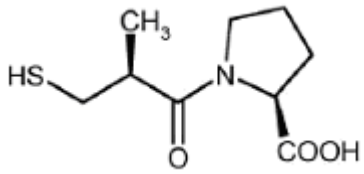


Figure 1 : structure du captopril

Poids moléculaire : 217,3 g/mol

Caractères :

- Aspect : poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche
- Solubilité : facilement soluble dans l'eau, dans le chlorure de méthylène et dans le méthanol. Le captopril se dissout dans les solutions diluées d'hydroxydes alcalins.

Principale impureté : le disulfure de captopril

- Nom chimique : Acide (2S, 2S')-1,1'-[disulfanediylbis[(2S)-2-méthyl-1-oxapropanone-3,1-diyl]-bis[pyrrolidine-2-carboxylique]

- Formule développée :

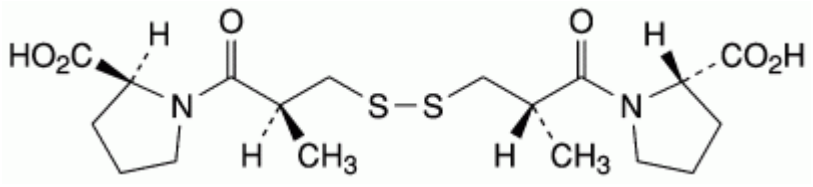


Figure 2 : structure développée du disulfure de captopril

I.2 Historique

La première pierre du développement des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine a été posée en 1956 avec l'explication de la fonction de l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine (ECA) par Leonard T. Skeggs.

En 1968, le Dr Y.S. Bakhle démontrait que l'enzyme de conversion extraite du poumon de chien était inhibée par un mélange de peptides extrait du venin de la vipère brésilienne Bothrops jararaca, décrit pour la première en 1965 par Sergio Ferreira comme potentialisant la bradykinine.

Une étude de ces peptides par Cushman et Ondetti, de la firme Squibb, a permis d'affiner le modèle hypothétique du site actif de l'enzyme de conversion, considérée comme une zinc-metallopeptidase. La séquence Trp-Ala-Pro, ou la séquence plus stable Phe-Ala-Pro, ont été jugées optimales pour se lier au site actif de l'enzyme de conversion.

Un essai fut organisé avec pour base l'acide benzylsuccinique, un analogue de la Phénylalanine, ayant la capacité de masquer le site actif de la carbopeptidase A, et de le lier à une molécule de Proline, selon les séquences mises en évidence auparavant. Cette molécule, la benzylsuccinyl-L-proline, bien que d'efficacité médiocre possédait toutes les propriétés d'un inhibiteur spécifique de l'enzyme de conversion. La synthèse de dérivés de cette structure montra que lorsque le carboxylate est remplacée par une fonction sulfhydryl, on obtenait une augmentation de plus de 2000 fois de la capacité inhibitrice de la molécule. De

même, l'adjonction d'une fonction méthyl en 2 sur le résidu succinyl montra une augmentation de 15 fois de la capacité inhibitrice de la molécule. Le captopril, chef de file des inhibiteurs de l'enzyme de conversion, fut donc créé en 1974 [13].

I.3 Indications, posologie et mode d'administration

Chez l'adulte [14, 15, 16, 17]

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) sont utilisés principalement dans le traitement de l'hypertension artérielle. Ils sont considérés comme le traitement de premier choix de l'hypertension artérielle, soit seuls (en monothérapie), soit en association avec d'autres anti-hypertenseurs (diurétiques ou un antagoniste calcique). Par ailleurs, les inhibiteurs de l'ECA se sont révélés dans de nombreuses grandes études cliniques comme ayant pour effet d'allonger la vie même en cas d'insuffisance cardiaque congestive. Cette propriété repose vraisemblablement sur la baisse de la post-charge et la diminution de la tension de la paroi du muscle cardiaque du fait de la baisse de l'angiotensine II. Ils sont aussi utilisés après un infarctus du myocarde, dans les premières 24 heures chez les patients hémodynamiquement stable et en post-infarctus du myocarde chez les patients avec dysfonction ventriculaire gauche (fraction d'éjection ≤ 40%), et en l'absence de signe clinique d'insuffisance cardiaque. La néphropathie diabétique macroprotéinurique du diabète insulinodépendant est une autre indication des inhibiteurs de l'ECA. Actuellement, seul le captopril est autorisé dans cette indication.

Chez l'enfant [17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30]

L'utilisation du captopril chez l'enfant ne fait pas l'objet d'une AMM. Néanmoins, il a fait l'objet de nombreuses publications dans le traitement de l'hypertension artérielle et de l'insuffisance cardiaque.

Les principales indications recensées dans la littérature sont :

- ***L'hypertension artérielle :*** les inhibiteurs de conversion de l'angiotensine sont indiqués pour traiter l'hypertension chronique chez les enfants en raison de leur facilité d'administration et le manque relatif d'effets indésirables graves. Le captopril est généralement administrée 3 fois par jour et parfois deux fois par jour. Il est compensé

par voie rénale et nécessite donc une adaptation de la posologie chez les patients présentant une insuffisance rénale. Les nouveau-nés et les nourrissons répondent de manière plus importante et pour une durée plus longue aux inhibiteurs de l'ECA que les enfants plus âgés.

- ***L'insuffisance cardiaque congestive de l'enfant :*** le captopril a montré son efficacité clinique avec une bonne tolérance. C'est un vasodilatateur mixte artériel et veineux, permettant une augmentation du débit cardiaque et une diminution des pressions de remplissage.

Tableau I : tableau récapitulatif des indications du captopril

Indications	Posologie pédiatrique	Posologie adulte
Hypertension chronique	<u>Prématurés et nouveau-nés :</u> Dose initiale : 0.01mg/kg/dose, puis 0,05-0,1 mg/kg/dose toutes les 8 à 24 heures, jusqu'à 0,5 mg/kg/dose toutes les 6 heures. <u>Nourrissons :</u> Dose initiale : 0.15-0,3mg/kg/dose, puis jusqu'à 6 mg/kg/ en 2 à 4 doses. Dose usuelle : 2,5-6 mg/kg/jour. <u>Enfants (1-6 ans):</u> Dose initiale : 0.3-0,5mg/kg/dose, puis jusqu'à 6 mg/kg/jour en 2 à 4 doses. <u>Enfants (6-13 ans):</u> Dose initiale : 6,25-12,5mg/kg/dose toutes les 12-24 heures, puis jusqu'à 6 mg/kg/jour en 2 à 4 doses. <u>Adolescents (13-18 ans):</u> Dose initiale : 12,5-25mg/kg/dose toutes les 8-12 heures, puis augmentation par palier de 25 mg jusqu'à un maximum de 450 mg par jour.	50 mg/j en 2 prises, puis augmenter éventuellement par palier.
Insuffisance cardiaque chronique		Instauration progressive: 6,25 mg/j puis 12,5 mg et enfin 25 mg par jour Dose recommandée : 50 et 100 mg par jour répartie en 2 ou 3 prises.
Infarctus du myocarde en phase aigue	-	Instauration : 6,25 mg puis 2 heures après 12,5 mg et 12 heures après une dose de 25 mg. Dose recommandée: 100 mg par jour en 2 prises journalières pendant 4 semaines
Post infarctus du myocarde	-	Instauration : 6,25 mg suivi par 12,5 mg 3 fois par jour pendant 2 jours puis 25 mg 3 fois par jour. Dose recommandée : 75 à 150 mg par jour en deux ou trois prises.
Néphropathie diabétique	-	50 à 100 mg/j en 2 à 3 prises

I.4 Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action moléculaire des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine a été élucidé [31, 32]. Il repose sur la similitude des inhibiteurs de l'ECA avec une fin de chaîne peptidique de l'angiotensine I. De ce fait, les inhibiteurs de l'ECA sont considérés par erreur par l'enzyme de conversion de l'angiotensine comme le substrat physiologique angiotensine I, composant du système rénine-angiotensine-aldostérone. À la différence du substrat physiologique, ils ne sont cependant pas transformés par l'enzyme et bloquent cette dernière.

Physiologie du système rénine-angiotensine-aldostérone

Le système rénine-angiotensine-aldostérone est un participant majeur de l'homéostasie hydrosodée. Il s'agit d'une cascade enzymatique dont le substrat initial est l'angiotensinogène et dont l'activation aboutit à la synthèse d'un octapeptide vasoactif, l'angiotensine (Ang) II (Figure 3).

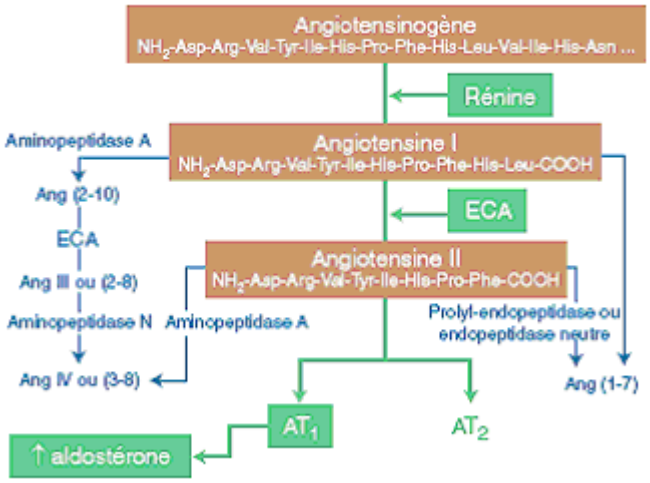


Figure 3 : d'après [31], description du système rénine-angiotensine-aldostérone

Cette cascade enzymatique nécessite deux étapes pour produire le produit actif. L'étape principale et limitante est l'hydrolyse de l'angiotensinogène par la rénine. C'est la réaction la plus lente du système et la seule régulée. L'essentiel de cette régulation porte sur la concentration circulante de rénine qui varie très rapidement lorsque le système est stimulé. Puis l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (ECA) convertit l'angiotensine I en angiotensine II (Ang II). L'angiotensine II se lie ensuite à ses récepteurs spécifiques AT1 et AT2 au niveau de ses tissus cibles pour exercer ses effets biologiques.

En dehors de l'angiotensine I, l'enzyme de conversion est capable de dégrader la bradykinine (BK), peptide vasodilatateur, en un métabolite inactif. L'ECA augmente donc la production d'un vasoconstricteur puissant, l'angiotensine II, en dégradant parallèlement un vasodilatateur potentiel, la bradykinine. La bradykinine a un effet vasodilatateur à la fois direct et indirect en stimulant la synthèse de monoxyde d'azote (NO) et de guanosine monophosphate cyclique (GMPc) et en activant la libération d'autres vasodilatateurs comme la prostaglandine E2.

Effets biologiques de l'angiotensine II

Les principaux effets biologiques de l'angiotensine II sont :

- vasculaire : une action vasopressive et trophique sur les cellules musculaires lisses des parois du système cardiovasculaire ;
- surrénal : la stimulation de la production d'aldostérone parles cellules de la zone glomérulée du cortex surrénal (l'aldostérone stimule la réabsorption de sodium au niveau du tube contourné distal en échange de potassium et d'ions H+) ;
- rénal : la régulation du débit sanguin rénal et de la filtration glomérulaire par une action vasoconstrictrice des artérioles efférente et afférente glomérulaires, la réabsorption tubulaire de sodium, la régulation de la sécrétion de rénine au niveau de l'appareil juxtaglomérulaire ;
- cérébral : la stimulation de la soif en activant la sécrétion de vasopressine, l'appétence au sel, la régulation centrale de la pression artérielle ;
- du système nerveux sympathique : la stimulation de la libération de noradrénaline.

I.5 Pharmacocinétique

La pharmacocinétique du captopril, chez l'adulte et l'enfant, est connue [14, 30, 33, 34, 35, 36].

Absorption

Chez un sujet à jeun, entre 60 et 75% de la dose administrée sont résorbés par le tractus gastro-intestinal. L'administration au cours d'un repas réduit d'environ 30% la résorption. Le

pic plasmatique est atteint 0,5 à 1,5 heures après la prise de 100 mg per os. L'effet débute 15 min après l'ingestion et est maximal en 1 heure.

Distribution

La liaison aux protéines plasmatiques varie entre 25 et 30%. L volume de distribution est de 7 litre par kg de poids corporel. Le captopril diffuse rapidement dans tous les tissus, à l'exception du système nerveux central. Il ne franchit que peu la barrière hémato-encéphalique et ne franchirait pas la barrière placentaire. Il diffuse très peu dans le lait maternel (le rapport lait/sang total est environ 1/100).

Métabolisme

Il est rapidement métabolisé au niveau hépatique (à hauteur de 44%).

Elimination

La demi vie est d'environ 1,9 heure, chez les adultes sains et est allongée en cas d'insuffisance rénale ou cardiaque (2,1 heures chez les insuffisants cardiaques). Chez les enfants, la demi-vie est de 1,5 heure, et de 3,3 heures chez les enfants souffrant d'insuffisance cardiaque. L'élimination est essentiellement rénale, 95% de la dose administrée est éliminée par les urines en 24 heures, dont environ la moitié sous forme inchangée. En cas d'insuffisance rénale, l'élimination est réduite en fonction de la clairance rénale.

I.6 Effets indésirables, interactions médicamenteuses et contre-indications

I.6.1 Effets indésirables

Les effets indésirables du captopril sont bien connus [14, 15, 16, 17].
Les principaux effets indésirables des inhibiteurs de l'ECA sont associés à une dégradation et accumulation plus lentes de la bradykinine par les inhibiteurs de l'ECA. Les réactions cutanées associées ou non à un prurit, par exemple l'exanthème (0,1 - 1%) et l'urticaire (0,01 - 0,1%) en font partie. La majorité des effets indésirables concernant les voies respiratoires peut aussi être associée à l'accumulation de bradykinine. On peut citer la toux sèche (plus fréquente chez la femme et le non-fumeur), l'enrouement et les maux de gorge (0,1 - 1%).

Des crises d'asthme et une détresse respiratoire peuvent survenir, même si cela est rare (0,01 - 0,1%)

Du fait de l'intervention du captopril dans le bilan hydrique et électrolytique, une insuffisance rénale peut occasionnellement être observée (0,1 - 1%). Le nouveau-né, à cause de son débit de filtration glomérulaire particulièrement bas, est à risque de présenter une insuffisance rénale aiguë lors d'une exposition aux inhibiteurs de l'enzyme de conversion et son emploi doit commencer exclusivement par le captopril (en raison de sa courte demie-vie), à une posologie la plus faible possible.

Une hyperkaliémie dangereuse est possible. De rares cas d'hyponatrémie ont été observés.

Le captopril est contre-indiqué pendant la grossesse et doit être remplacé par d'autres mesures thérapeutiques appropriées. On a aussi observé quelques cas de retard de croissance in utero, de prématurité et de persistance du canal artériel. Quelques cas d'anurie néonatale irréversible lors du traitement de la mère par une association diurétique-IEC ont été observés [30, 37, 38].

I.6.2 Interactions médicamenteuses

Les principales interactions médicamenteuses du captopril sont les suivantes [14, 15, 16, 30] :

Associations déconseillées

- Les diurétiques hyperkaliémiants, et les sels de potassium peuvent provoquer une hyperkaliémie (potentiellement létale), surtout lors d'une insuffisance rénale.
- Le lithium : on peut observer une augmentation de la lithémie (diminution de l'excrétion rénale du lithium).

Associations nécessitant des précautions d'emploi

- Antidiabétiques (insulines, sulfamides hypoglycémiants)

L'utilisation des inhibiteurs de l'enzyme de conversion peut entraîner une majoration de l'effet hypoglycémiant chez le diabétique traité par insuline ou sulfamides hypoglycémiants.

- Baclofène : il existe un risque de majoration de l'effet antihypertenseur.
- Diurétiques : L'association d'un IEC à un diurétique peut provoquer une hypotension artérielle brutale accompagnée ou non d'une insuffisance rénale aiguë.

- AINS, salicylés à forte doses : il existe un risque d'insuffisance rénale aiguë chez le malade à risque (sujet âgé ou déshydraté).

Associations à prendre en compte

- Antidépresseurs imipraminiques et neuroleptiques : il y a addition des effets antihypertenseurs et un risque d'hypotension orthostatique majorés.
- Corticoïdes, tétracosactide : il y a diminution de l'effet antihypertenseur.

I.6.3 Contre-indications

Il existe un certain nombre de contre-indications et de précautions d'emploi à l'usage du captopril [14, 15, 16, 30] :

Contre-indications absolues

- hypersensibilité au captopril
- antécédent d'angio-oedème (oedème de Quincke) lié à la prise d'un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine,
- grossesse et allaitement.

Précautions d'emploi

- association avec les diurétiques hyperkaliémiants, les sels de potassium et le lithium,
- sténose bilatérale de l'artère rénale ou sur rein fonctionnellement unique,
- hyperkaliémie.

I.7 Stabilité du captopril

Il n'existe qu'une d'étude portant sur la stabilité de gélules de captopril sur une durée ne dépassant pas deux mois [39]. En solution, le captopril est instable et se dégrade essentiellement en disulfure de captopril. Cette décomposition consiste en la formation d'un pont disulfure entre deux molécules de captopril, due à l'oxydation des groupements sulfhydryls du captopril. En plus, une hydrolyse de la fonction amide en solution aqueuse a été décrite. La dégradation oxydative du captopril prédomine dans la gamme de pH 2-4,6 et augmente de façon importante avec le pH [40]. Le disulfure de captopril n'a pas d'activité

inhibitrice sur l'enzyme de conversion. Un certain nombre d'informations sur la stabilité du captopril en solution sont disponibles. Les résultats publiés indiquent des stabilités pour les solutions préparées à partir de comprimés variant de 3 à 28 jours [41, 42, 43]. Les solutions de captopril pur ayant un goût désagréable incompatible avec un usage pédiatrique, différents essais de formulations figurent dans la littérature.

Les principaux facteurs influant sur la vitesse de dégradation sont les suivants :

- La température joue un rôle important dans cette dégradation. En solution, la vitesse de dégradation du captopril augmente avec la température [41, 42, 43, 44].
- Le pH : le captopril est très stable en milieu acide. Il est au contraire peu stable dans les tampons alcalins. La stabilité du captopril est pH-dépendante avec une stabilité maximale dans une gamme de pH inférieure à 4. Au-delà, l'oxydation devient la principale voie de dégradation [44, 45, 46].
- La concentration d'oxygène [40,46].
- Les ions métalliques (cuivre ou fer). La stabilité est diminuée par le contact avec des ions métalliques qui catalysent la réaction d'oxydation [40, 46].

Néanmoins, d'autres facteurs jouent un rôle dans la stabilité des formes aqueuses de captopril :

- La concentration en captopril de la solution : la stabilité du captopril augmenterait avec la concentration [47].
- Les formulations à base de sirop non dilué sont plus stables que les formules à base d'eau pure ou celles dans lesquels de l'eau a été utilisée pour diluer le sirop ou les formulations contenant de la méthylcellulose [42, 43].
- Les formulations contenant de l'EDTA disodique ou d'autres complexants des ions métalliques sont plus stables que celles dépourvues de cette composante [42].
- La qualité de l'eau utilisée pour la préparation des formulations influe sur la stabilité du captopril [42, 44, 48].
- De même, les formulations contenant un anti-oxydant, notamment de l'acide ascorbique, ont montrées une meilleure stabilité que les solutions en étant dépourvues [49].
- Il faut noter que les tampons citrates / acide citrique n'améliorent pas la stabilité des solutions [50].

- Une moindre stabilité des formes sèches a été décrite en présence d'excipients hygroscopiques [46].
- En raison de la grande variabilité des résultats des différentes études, la présence des excipients provenant de l'extraction des comprimés joue sans doute un rôle dans la stabilité du captopril. Les solutions préparées à partir de comprimés seraient moins stables que celles préparées à base de poudre, notamment de part la présence d'ions catalysant la réaction de dégradation [41, 43, 51], mais une étude présente des résultats différents [42].

II Problématique et objectifs

II.1 Problématique

En raison de sa faible demi-vie, le captopril est l'inhibiteur de l'enzyme de conversion de choix en pédiatrie. Néanmoins, comme vu précédemment, il n'existe pas de spécialité commerciale de captopril adaptée à un usage pédiatrique (Annexe A), pour des raisons de posologie et de forme galénique. L'Afssaps a donc inclus cette préparation hospitalière parmi les « indispensables ». En l'absence de données de stabilité sur les gélules pédiatriques de captopril, la pharmacie du CHU de Nancy a décidé une rationalisation de sa production de gélules pédiatriques. Pour cela, en concertation avec les médecins prescripteurs, trois dosages de gélules ont été retenus comme candidats à une étude de stabilité : 0,5 ; 5 et 10 mg.

II.2 Objectifs

Actuellement, les gélules préparées au CHU utilisent le mannitol comme excipient. Celui-ci figurant dans la liste des excipients à effets notoires publiée dans le Journal Officiel [52] (il peut provoquer des troubles digestifs et des diarrhées), il a été décidé de tester un deuxième excipient, sans effet notoire connu, la cellulose microcristalline.

Il a été aussi choisi de tester trois conditionnements :

– un en vrac : en pilulier fermé avec bouchon en polyéthylène (Figure 4),

et deux en conditionnement unitaire :

- en cupules plastiques FIC (Figure 5),
- en blister individuel, avec une face transparente et une face imprimée (Figure 6).

Les objectifs de ce travail sont donc :

- la mise au point d'une méthode de dosage « stability indicating », c'est-à-dire permettant la détection et la quantification des produits de dégradation ;
- le suivi de la stabilité de 18 lots de gélules, différenciés par leur excipient (mannitol, ou cellulose microcristalline), leur dosage (0,5 mg, 5 mg et 10 mg) et leur conditionnement (FIC, blister, pilulier).

Cette étude de stabilité va se dérouler sur deux années, de M0, M1,5, M3, M6, M9, M12, M18, à M24.

Pour cela, après validation de l'uniformité de masse et de teneur, les gélules sont conditionnées, puis conservées pendant toute la durée de l'étude à température ambiante (<25°C) et à l'abri de la lumière. Les conditions ICH de conservation impose une température et une hygrométrie précises (25°C ± 2°C et 60% humidité ± 5%) [53].

En l'absence de chambre climatique et d'un contrôle strict de la température, nous partons du principe que les gélules conformes à l'issu de l'étude de stabilité le seront à fortiori dans les conditions recommandées de conservation [54].

A chacune des étapes, un échantillon de gélules sera prélevé et analysé. Chaque dosage sera fait en triple exemplaire sur chaque dosage, conditionnement, et excipient. Pour s'affranchir de l'incertitude sur le remplissage des gélules, nous raisonnerons sur la base de prises d'essai exactement pesées.



Figure 4 : exemple de pilulier



Figure 5 : exemple de conditionnement FIC



Figure 6 : exemple de blisters

III Matériel et méthode

III.1 Matériel

Le matériel utilisé pour étudier la stabilité du Captopril est composé d'un système pour chromatographie liquide haute performance et des consommables:

- un appareil pour chromatographie liquide haute performance Spectrasystem Spectra Physics Analytical composée d'une pompe P2000, d'un injecteur automatique AS3000, d'un détecteur à longueur d'ondes variables UV2000 et d'une interface Spectra SYSTEM SN 4000 qui met en relation la pompe, l'injecteur et le détecteur avec le logiciel ChromQuest d'acquisition et de traitement des données.
- la colonne chromatographique utilisée est une : UP5C8*12QS, du Laboratoire INTERCHIM©

  Taille des particules (µm) : 5 — Diamètre interne (mm) : 4.0

  Lot : C8-5-8077 — Longueur (mm) : 125

  Greffage : C8

Le matériel de laboratoire nécessaire pour la mise en œuvre de l'étude est le suivant :

- une hotte aspirante
- une balance Mettler Toledo AG204 et enregistreur Mettler Toledo SQC 14
- un agitateur ROTAMAG 10 - PROLABO
- un pHmètre Fischer Bioblock Scientific 93313
- une électrode combinée Fischer Bioblock combination ion electrode , n°4907
- des filtres nitrocellulose MILLIPORE 0,22microns, 47mm diamètre type white GSWP, lot R8NN30701
- du matériel pour filtration sur Büchner
- du matériel de laboratoire : béchers, fioles, tubes à essais, pipettes, entonnoir
- des flacons pour CLHP ThermoFisher, 1,8mL, 12x32mm, teintés : lot 572230, péremption 08/10/2023
- des bouchons à vis pour CLHP ThermoFisher : lot 572230, péremption 08/10/2023
- des filtres Millex 0,22 µm SLGL0250S : lot R9HN08712, per 06/2012

III.2 Réactifs

Tous les réactifs utilisés sont de qualité analytique ou pour chromatographie.

- Eau ultra-pure obtenue par le système Purelab Ultra
- Hélium BIP Air Products
- Captopril pot de 25 g, Laboratoire INRESA : lot : 5102-06-041, péremption : 08/2009
- Uracile SIGMA pureté 99% : lot 027K0719
- Cellulose FAGRON pot de 1 kg, lot 08H13-N01, péremption 30/04/2012
- Mannitol PROLABO: pot de 500g, lot 0502186, péremption 23/03/2010
- Dihydrogénophosphate de potassium anhydre KH_2PO4 CARLO ERBA REAGENTS pureté 99% : pot de 1000g, lot 5D032165N, péremption 04/2011/ lot 7I072017L, péremption 09/2013
- Méthanol CARLO ERBA REAGENTS: flacon de 1000mL, lot V8J719158I, péremption 09/2010
- Acide orthophosphrique PROLABO pureté 85% : flacon de 1000mL, lot 0509395, péremption 16/01/2011
- Acétonitrile : flacon de 1000mL, lot I462530847, péremption 30/11/2011(MERCK)
- Hydroxyde de sodium 1N MERCK : flacon de 1000mL, lot HC817989, péremption 04/09/2009
- Acide chlorhydrique 1N MERCK: flacon de 1000mL, lot HC817490, péremption 24/10/2009
- Solution tampon standard de pH4 BIOBLOCK: lot 070626A, péremption 23/08/2009
- Solution tampon standard de pH7 BIOBLOCK: lot 070710A, péremption 23/08/2009

III.3 Excipients utilisés

III.3.1 Le mannitol

Les principales caractéristiques du mannitol sont les suivantes [12] :

Dénomination commune internationale : D-Mannitol

Formule brute : $C_6H_{14}O_6$

Formule développée :

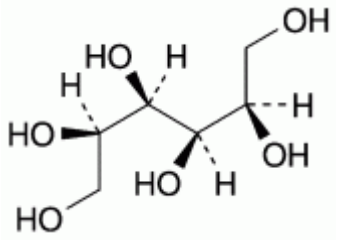


Figure 7 : structure du mannitol

Poids moléculaire : 182,2g/mol

Caractères :

- Aspect : poudre cristalline ou granulés à écoulement fluide, blancs ou sensiblement blancs.
- Solubilité : facilement soluble dans l'eau, très peu soluble dans l'éthanol à 96 pour cent.

III.3.2 La cellulose microcristalline

Définition : Cellulose purifiée, partiellement dépolymérisée, préparée par traitement avec des acides minéraux de l'alpha-cellulose obtenue sous forme de pulpe à partir de matière végétale fibreuse [12].

Formule brute : $C_{6n}H_{10n+2}O_{5n+1}$

Formule développée :

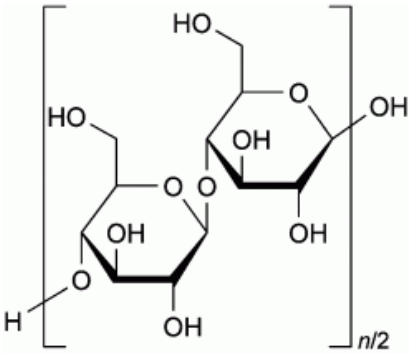


Figure 8 : structure de la cellulose

Poids moléculaire : 182,2g/mol

Caractères :

- Aspect : poudre blanche ou sensiblement blanche, fine ou granuleuse.
- Solubilité : pratiquement insoluble dans l'eau, dans l'acétone, dans l'éthanol anhydre, dans le toluène, dans les acides dilués et dans une solution d'hydroxyde de sodium à 50 g/l.

IV Validation de la méthode

La méthode utilisée dérive de celle de la Pharmacopée européenne [12]. L'analyse est réalisée en régime isocratique, en maintenant un dégazage à l'hélium.
Avant chaque séance d'analyse, la colonne est équilibrée pendant 30 minutes avec la phase mobile. Puis, un test de contrôle de la ligne est effectué. Après chaque séance d'analyse, la colonne est reconditionnée sous acétonitrile.

IV.1 Conditions chromatographiques

– Débit d'élution : 1mL/min
– Température de la colonne : ambiante (non thermostatée)
– Longueur d'onde de détection : 220 nm
– Volume de la boucle d'injection : 20µL
– Temps d'analyse : 15 min

IV.1.1 Détermination de la composition de la phase mobile :

La phase mobile utilisée doit permettre de répondre aux caractéristiques suivantes :
- le pic principal ne doit pas avoir le même temps de rétention que les composés non retenus (uracile ou nitrite de sodium),
- le temps de rétention du composé principal ne doit pas se superposer (cf. infra) aux pics des impuretés et produits de dégradation,
- la Pharmacopée Européenne imposant l'enregistrement jusqu'à trois fois le temps de rétention du captopril, le temps de rétention de celui-ci doit être suffisamment bref afin de minimiser le temps de manipulation et le coût en réactif.

Un premier essai de phase mobile préparée suivant les instructions de la Pharmacopée Européenne (*acide phosphorique R, méthanol R, eau R* 0,05:50:50 *V/V/V)* n'a pas permis de séparer le captopril du composé non retenu (nitrite de sodium). Il a donc été décidé de modifier la composition de la phase mobile (augmentation de la part aqueuse du mélange) et de remplacer le nitrite de sodium par l'uracile comme composé non retenu, des variations du temps de rétention de celui-ci ayant été observés.

Ce deuxième essai (*acide phosphorique R, méthanol R, eau R* 0,05:25:75 *V/V/V)* a amené le temps de rétention du captopril à 9,6 minutes. Il a donc été décidé :

- de modifier la composition de la phase mobile, de façon à réduire le temps d'élution du captopril,
- de tamponner la phase mobile, afin d'éviter toute interférence de l'ionisation du composé sur son temps de rétention. Compte tenu des données de stabilité du captopril disponible dans la littérature, du pH d'une solution de captopril à 20g/L (2,0-2,6 Ph.Eur.) et du pH des solutions précédentes, le pH visé pour la phase aqueuse de la phase mobile sera de 2,5.

Le nouveau mélange de phase mobile (*acide phosphorique R, potassium dihydrogène phosphate, méthanol R, eau R* 0,05:478,5:40:60 *V/M/V/V)* (unités mL et mg) a permis de faire passer le temps de rétention du captopril à 3,5 min. Ce temps de rétention étant très voisin du volume mort de la colonne, il a été décidé d'augmenter la part aqueuse de la phase mobile, afin d'augmenter le temps d'élution du captopril.

La phase mobile suivante : *acide phosphorique R, potassium dihydrogène phosphate, méthanol R, eau R (*0,05: 478,5:35:65 *V/M/V/V)* (unités mL et mg) a permis de faire passer le temps de rétention du captopril à 4,4 minutes. Ce temps de rétention a été considéré comme adéquat en fonction des critères précédents, sous réserve d'une bonne séparation avec les produits de dégradations formés lors de la dégradation forcée.

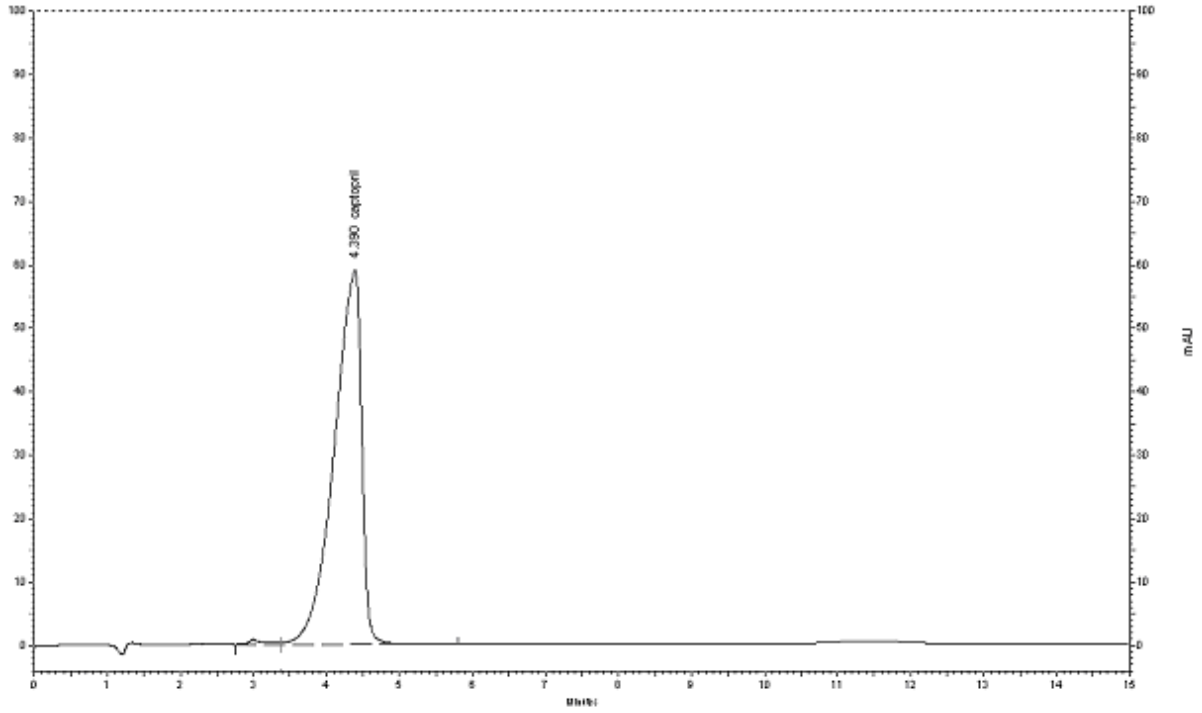


Figure 9 : chromatogramme du captopril

IV.1.2 Détermination de la concentration test

Dans son essai d'identification, la Pharmacopée Européenne utilise une solution de captopril à 1 mg dans 100 mL de phase mobile.

Cette concentration ne nous paraissant pas suffisante pour visualiser les impuretés (l'absorbance du pic principal étant très faible), nous avons décidé d'utiliser une solution plus fortement dosée.

Pour cela, un compromis a été trouvé en fonction de la solubilité des excipients et de l'allure du pic obtenu. La teneur de captopril retenue est de 10 mg pour 100 mL de solvant.

IV.1.3 Validation de la méthode

Les performances d'une colonne sont exprimées en fonction de deux paramètres principaux :

- le nombre de plateaux théorique (« efficacité » de la colonne) qui exprime la finesse des pics des composés sortant des colonnes
- la sélectivité qui est l'aptitude du système utilisé à distinguer, donc à séparer les composés injectés.

Pour qu'une séparation soit efficace il faut optimiser simultanément les deux paramètres précédents.

IV.1.4 Grandeurs chromatographiques expérimentales

IV.1.4.1 Efficacité

L'efficacité, ou résolution, se mesure en nombre de plateaux théoriques [55]. Elle exprime la finesse des pics des composés sortant des colonnes (Figure 10).

$$N = 16(tr / w)^2 = 5{,}54\ (tr / w^1/_2)^2$$

Avec :

tr : temps de rétention (en minutes)

$w^1/_2$: largeur du pic à mi-hauteur (en minutes)

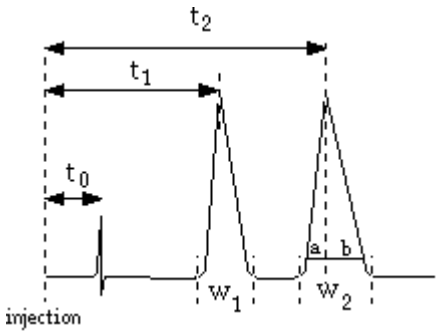


Figure 10 : exemple de chromatogramme

Dans notre système, N est égal à 696.

IV.1.4.2 Facteur de capacité (ou coefficient de distribution massique)

Chaque composé élué sort avec un temps de rétention t_r représentant le temps séparant l'injection du produit et la sortie du composé [55]. Les composés non retenus sortent avec un temps de rétention nommé t_0, correspondant au volume mort de la colonne (Figure 10). Le facteur de capacité est une mesure du temps de rétention d'un composé corrigé par le temps d'élution d'un composé non retenu :

$$k' = (t_r - t_0)/t_0$$

Avec :

t_r : temps de rétention du composé mesuré à partir de l'injection (en minutes)

t_0 : temps de rétention du composé non retenu (uracile) (en minutes)

Les valeurs idéales de k' sont comprises entre 1 et 10 et les valeurs extrêmes entre 0,5 et 20. Dans notre système, le temps de rétention du captopril est de 4,40 minutes, celui de l'uracile de 1,31 minutes. Le facteur de capacité du système vaut donc 2,43.

IV.1.4.3 Facteur de symétrie (ou traînée de pic)

En CLHP, un pic idéal tend vers une courbe d'aspect gaussien. Il est possible de calculer l'asymétrie du pic par l'intermédiaire du facteur *f*, qui est le rapport entre la largeur du pic au 1/20 de sa hauteur et la distance entre la perpendiculaire abaissée du sommet du pic et le bord d'entrée au 1/20 de sa hauteur [55].

$$f = w_{0,05}/2A$$

Avec :

$w_{0;05}$: largeur du pic au 1/20 de sa hauteur (en minutes)

A : distance entre la perpendiculaire abaissée du sommet du pic et le bord d'entrée au 1/20 de sa hauteur (en minutes)

Les valeurs idéales de *f* sont comprises entre 0,8 et 1,2. Le pic est alors symétrique. Si le pic présente une traînée d'entrée, *f* sera inférieur à 1, s'il présente une queue, *f* sera supérieur à 1. Dans ce système, *f* vaut 0,64. Le pic présente une traînée d'entrée.

IV.2 Plan de manipulation

IV.2.1 Etude de la solubilité des excipients

- Gélules avec le mannitol comme excipient:

Actuellement, pour les gélules préparées à l'hôpital d'enfant, le mannitol est utilisé comme excipient. Le rapport captopril/mannitol a donc facilement pu être extrait à partir des fiches de fabrication existantes (Annexe B).

Soit :

- Gélules dosées à 0,5 mg de captopril (fort rapport) : en arrondissant à la dizaine supérieure, le rapport captopril/mannitol est de 1 pour 400.
- Gélules dosées à 10 mg de captopril (faible rapport) : en arrondissant à la dizaine supérieure, le rapport captopril/mannitol est de 1 pour 20.

Solubilité du mannitol :

La concentration cible de captopril initialement retenue étant de 10 mg/100 mL, et compte tenu de la nécessité d'obtenir 140% de la concentration cible dans la gamme d'étalonnage, la solubilité du mannitol a été évaluée de manière visuelle, dans la phase mobile et dans de l'eau purifiée (Tableau II).

Tableau II : solubilité du mannitol

Mannitol	3 g /100mL	4 g /100mL	5 g /100mL	10 g /100mL	12,5 g /100mL	15 g /100mL	20 g /100mL
Phase mobile	+	-	-	-	-	-	-
Eau purifiée	+	+	+	+	+	-	-

+ : dissolution totale

- : dissolution incomplète

En raison de la solubilité très basse du mannitol dans la phase mobile, il a été décidé d'abandonner la phase mobile pour de l'eau purifié lors de la préparation des échantillons. Pour limiter la quantité de réactifs utilisés, et faciliter les calculs ultérieurs, le choix s'est fait sur la préparation d'une solution mère de mannitol à 10 g/100mL.

- Gélules avec comme excipient la cellulose microcristalline :

Nous nous sommes basés sur le diagramme suivant pour déterminer le volume de poudre de principe actif et d'excipient, en prenant pour base le même numéro de gélule que pour le mannitol.

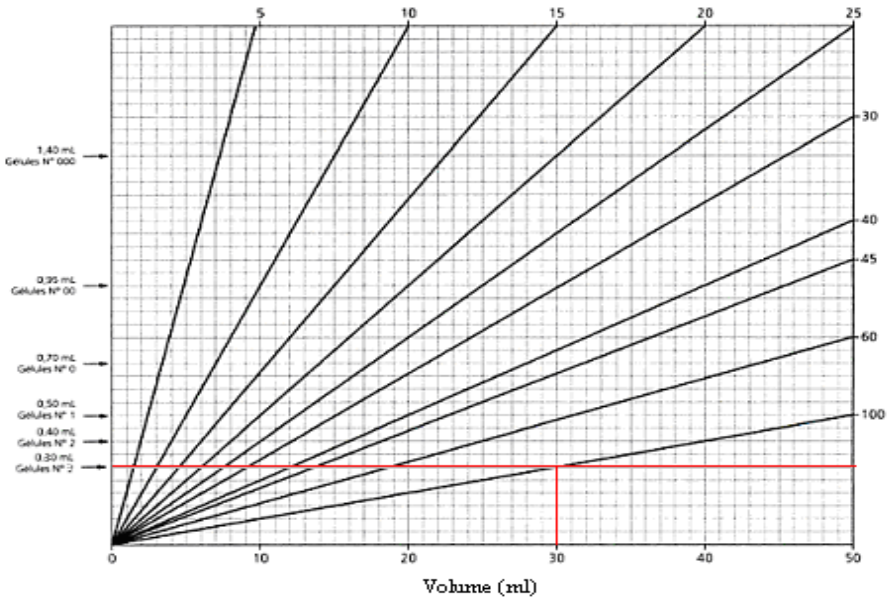


Figure 11 : diagramme taille de gélule-volume de poudre [56]

Après avoir déterminer à l'aide du graphique le volume de poudre nécessaire au remplissage de 100 gélules n°3, une éprouvette graduée a été remplie avec la quantité nécessaire de poudre de captopril, puis de la cellulose microcristalline a été ajouté jusqu'à atteindre le volume déterminé (30 mL). Une pesée de ces volumes a permis de calculer le rapport cellulose/captopril.

- Gélules dosées à 0,5 mg de captopril (fort rapport) : en arrondissant à la dizaine supérieure, le rapport captopril/mannitol est de 1 pour 200.
- Gélules dosées à 10 mg de captopril (faible rapport) : en arrondissant à la dizaine supérieure, le rapport captopril/mannitol est de 1 pour 10.

Solubilité de la cellulose microcristalline :

La cellulose microcristalline étant pratiquement insoluble dans l'eau [12], une filtration de l'échantillon sur filtre 0,22 µm avant injection est systématiquement mise en place.

Pour des raisons d'homogénéité le solvant utilisé lors de la préparation des échantillons est l'eau purifiée. Pour limiter la quantité de réactifs utilisés, et faciliter les calculs ultérieurs, le choix s'est fait sur la préparation d'une solution mère de cellulose à 5 g/100mL.

IV.2.2 Essai de dégradation forcée et spécificité de la méthode

La spécificité est la propriété d'une méthode d'analyse de convenir exclusivement à la caractéristique ou à l'analyte, avec la garantie que le résultat de l'analyse ne provient que de l'analyte. Très souvent la spécificité se fonde sur une absence d'interférences.

Elle sera obtenue grâce à une connaissance aussi complète que possible du processus d'analyse [57, 58].

Spécificité par rapport à l'excipient

Le mannitol et la cellulose microcristalline (après filtration) sont passés sur la colonne afin de vérifier l'absence de composés liés à l'excipient et présents sur le chromatogramme. Aucun pic n'a été décelé pour les excipients.

Spécificité par rapport aux produits de dégradation [54]

La méthode consiste à dégrader intentionnellement la molécule afin de vérifier que la séparation des produits de dégradation et de la molécule intacte est suffisante. Les

caractéristiques chimiques des molécules étant extrêmement différentes, il n'y a pas de méthode standard de dégradation.

Elle permet de déterminer si la méthode est "stability indicating".

La dégradation forcée du captopril est réalisée sous l'action de différents stress chimiques (acide, base) et thermique (Tableau III).

Tableau III : protocole de dégradation forcée du captopril

	Blanc (eau osmosée)	**Acide HCl 0,1N**	**Acide HCl 1,0N**	**Base NaOH 0,5N**	**Base NaOH 1,0N**
Solution mère (mL)	5	5	5	5	5
Agent (mL)	5 mL eau osmosée	5 mL HCl 0,1N	5 mL HCl 1,0N	5 mL NaOH 0,5N	5 mL NaOH 1,0N
	Chauffage à l'étuve à 80°C pendant 24 heures				
Neutralisation	5 mL eau osmosée	5 mL NaOH 0,1N	5 mL NaOH 1,0N	5 mL HCl 0,5N	5 mL HCl 1,0N
Ajustement du volume	5 mL eau osmosée	5 mL eau osmosée	5 mL eau osmosée	5 mL eau osmosée	5 mL eau osmosée

En raison de la dégradation accélérée du captopril dans l'eau et à haute température, le blanc a été préparé de façon extemporanée.

- Dégradation en milieu acide (Figure 12, Figure 13) :

Le temps de rétention du captopril ne varie pas (4,4 minutes), quelque soit la quantité d'acide utilisée pour la dégradation.

Un deuxième pic important fait son apparition à 7,8 minutes (rétention relative : 1,77), quelque soit la quantité d'acide utilisée pour la dégradation. Il s'agit probablement de captopril disulfure.

Il est difficile de présumer une relation entre la quantité d'acide utilisée et la quantité de captopril dégradé, même si globalement, la hauteur du pic de captopril diminue bien avec la quantité d'acide.

Des impuretés ont aussi été observées avec les retentions relatives suivantes : 0,61, 0,68 et 1,50.

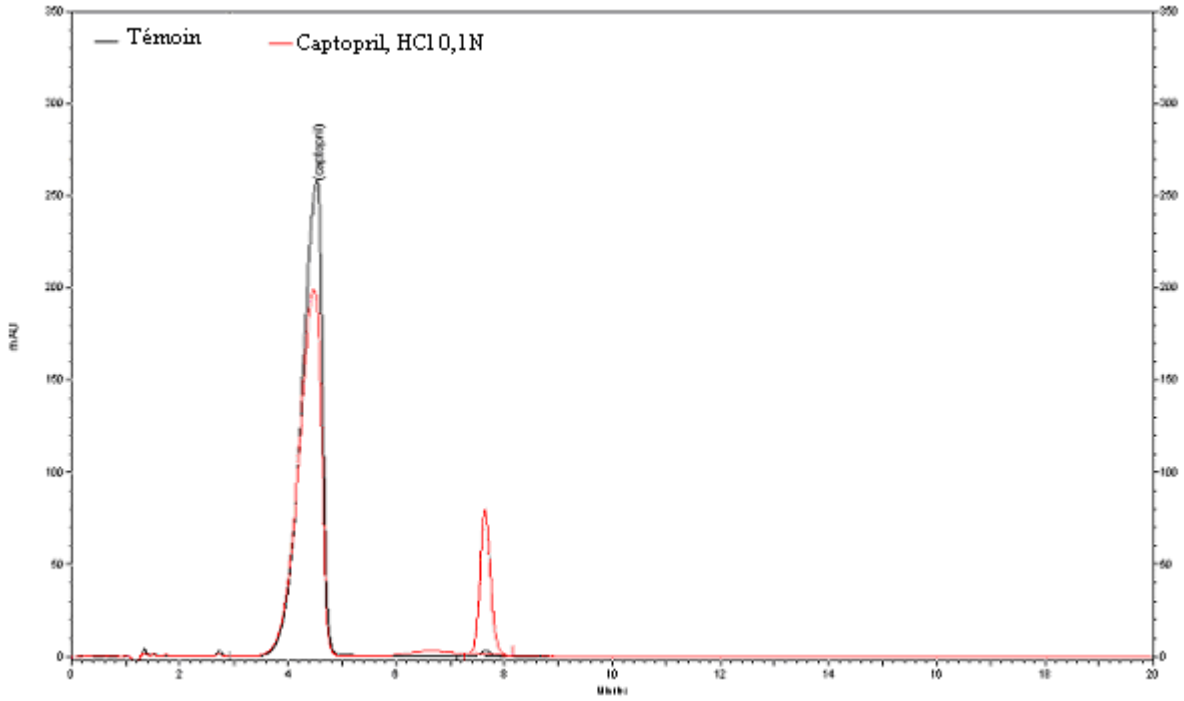


Figure 12 : chromatogramme de dégradation du captopril dans l'acide à 0,1N

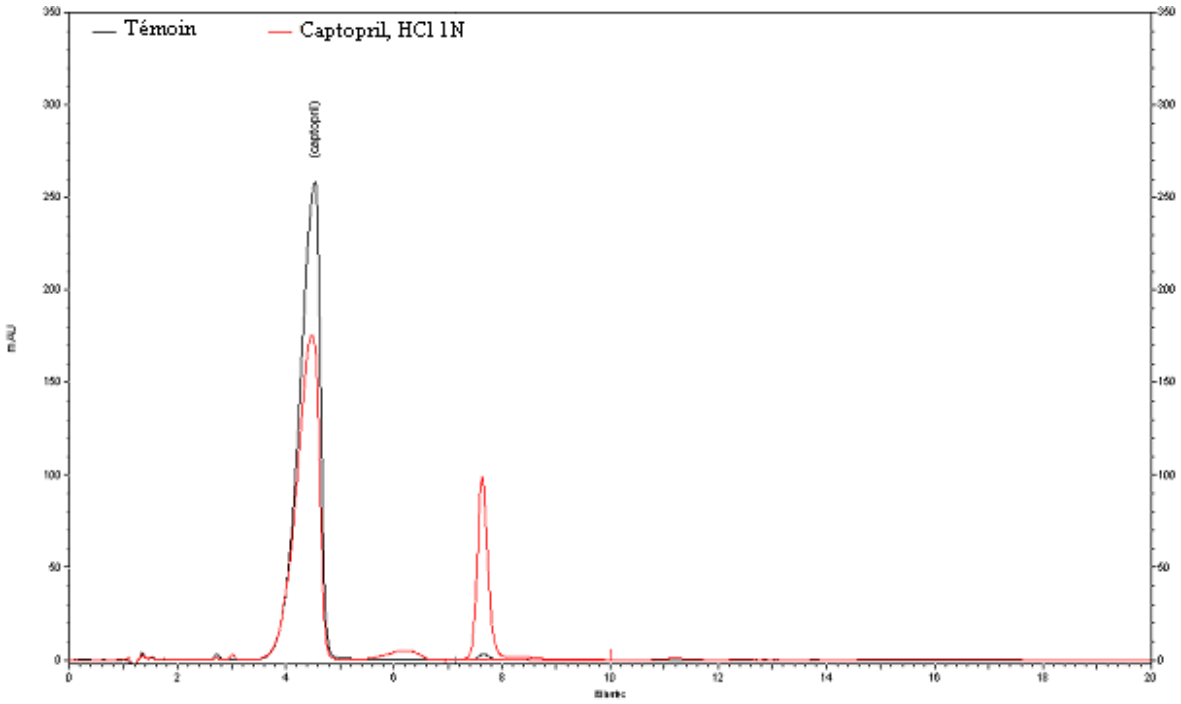


Figure 13: chromatogramme de dégradation du captopril dans l'acide 1N

- Dégradation en milieu basique (Figure 14, Figure 15):

Le temps de rétention du captopril ne varie pas quelque soit la quantité de base utilisée pour la dégradation.

Un deuxième pic important fait son apparition à 8,2 minutes (rétention relative 1,86). Il s'agit probablement du captopril disulfure.

Il existe également l'apparition d'un pic au niveau du volume mort de la colonne (1,3 minutes, rétention relative 0,32), correspondant probablement aux formes ionisées de la molécule de captopril (ionisation des fonctions COOH et SH acides en milieu basiques).

Des irrégularités de la ligne de base sont observées entre le pic du captopril ionisé et le pic principal liées à la présence d'autres impuretés aux rétentions relatives 0,54 ; 0,61 ; 0,72.

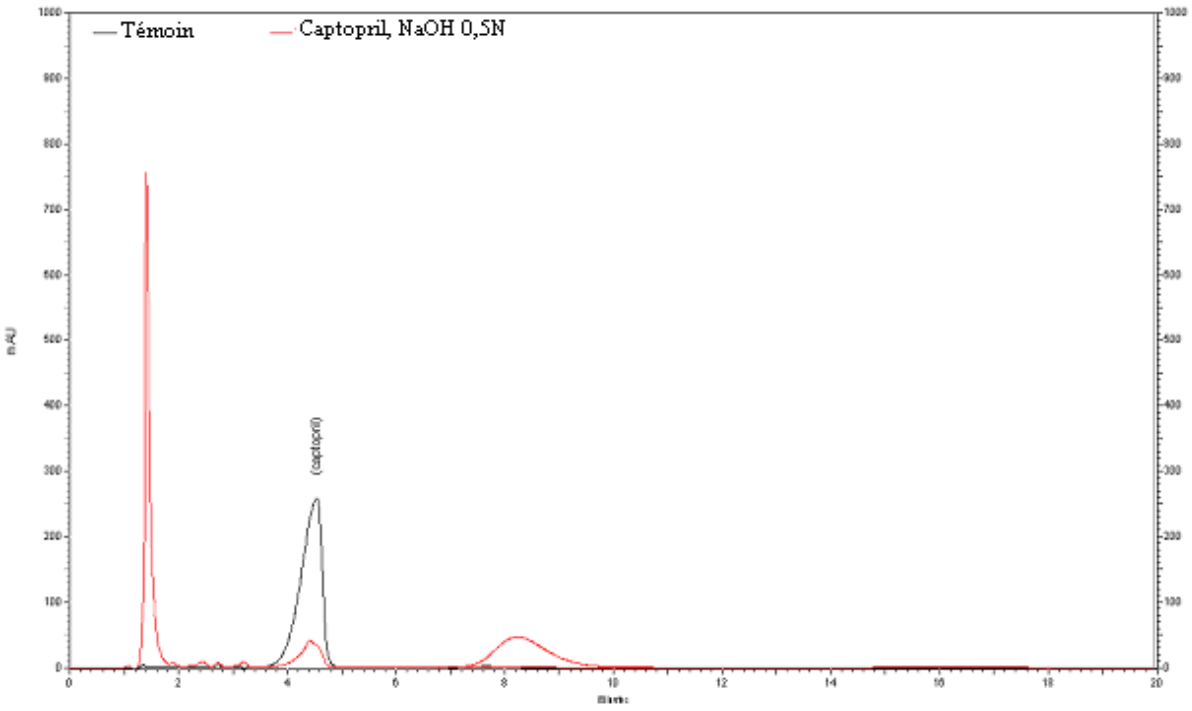


Figure 14 : chromatogramme de dégradation du captopril en milieu basique 0,5N

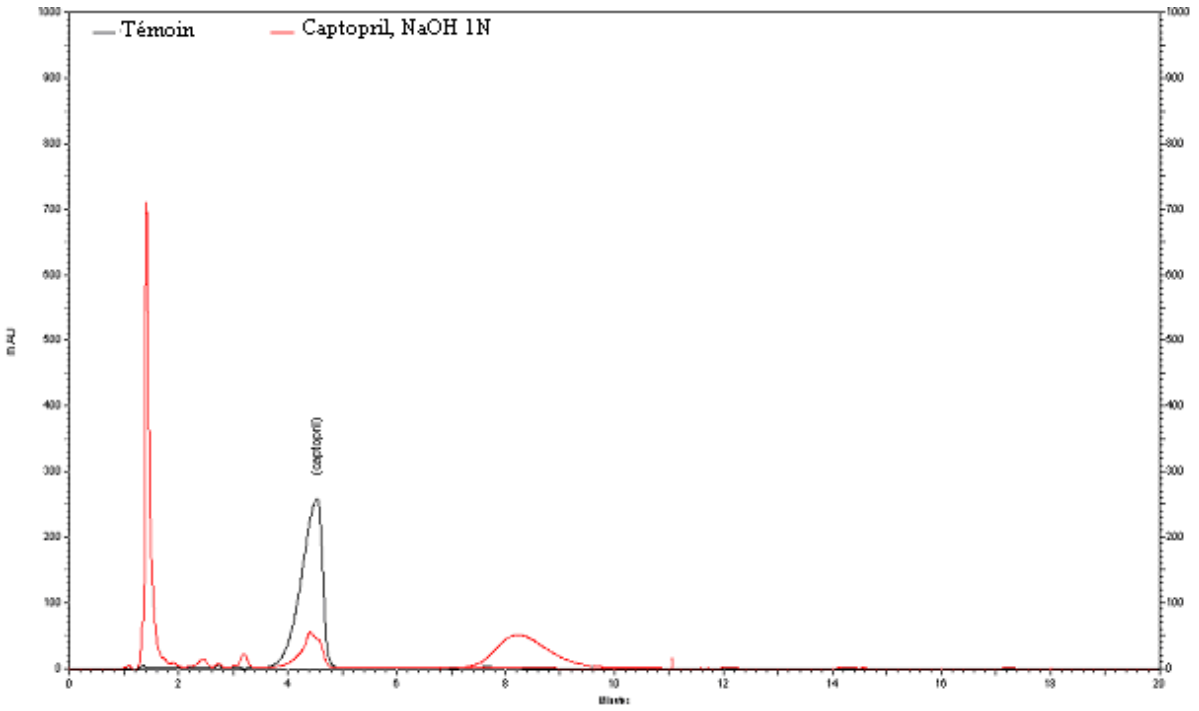


Figure **15 : chromatogramme de dégradation du captopril en milieu basique 1,0N**

Résultats :

La dégradation forcée du captopril à 80°C pendant 24 heures montre une stabilité du temps de rétention du captopril (4,4 minutes) avec l'apparition de six pics de dégradation avec des rétentions relatives de 0,32 ; 0,54 ; 0,61 ; 0,68 ; 0,72 ; 1,50, 1,77 et 1,86 (Tableau IV).

Tableau IV : tableau récapitulatif des rétentions relatives des pics de dégradation

	Pic n°1	Pic n°2	Pic n°3	Pic n°4	Pic n°5	Captopril	Pic n°6	Pic n°7	Pic n°8
Rétentions relatives après dégradation en milieu acide	-	-	0,61	0,68	-	1,00	1,50	1,77	-
Rétentions relatives après dégradation en milieu basique	0,32	0,54	0,61		0,72	1,00	-	-	1,86

IV.2.3 Linéarité

La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité, à l'intérieur d'un intervalle donné, d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration de l'analyte dans l'échantillon [59]. Une méthode de dosage est dite linéaire si elle suit une équation du type

y=ax+b, où x représente un signal (en CLHP, la surface du pic) et y la variable concentration. Le coefficient de corrélation r^2 doit être voisin de 1.

Pour l'établissement de la linéarité, une gamme d'au moins cinq concentrations est recommandée. Dans cette étude, la gamme se compose de 60, 80, 100, 120, et 140% de la valeur cible. Chaque gamme est répétée trois fois.

Afin de mesurer l'influence éventuelle des excipients sur la méthode de dosage, la gamme réalisée à l'aide de captopril pur (Tableau V) est comparée à celles réalisées en présence d'excipient, correspondant au rapport captopril/excipient le plus fort et le plus faible (Tableau VI).

Tableau V : préparation de la gamme de captopril pur

	60%	80%	100%	120%	140%
Captopril à 40mg/100mL	1,5 mL	2,0 mL	2,5 mL	3,0 mL	3,5 mL
Concentration finale en captopril	60 µg/mL	80 µg/mL	100 µg/mL	120 µg/mL	140 µg/mL
Eau purifiée	8,5 mL	8,0 mL	7,5 mL	7,0 mL	6,5 mL
Volume final	10 mL				

Tableau VI : préparation des gammes captopril – excipient

	60%	80%	100%	120%	140%
Captopril à 40mg/100mL	1,5 mL	2,0 mL	2,5 mL	3,0 mL	3,5 mL
Concentration finale en captopril	60 µg/mL	80 µg/mL	100 µg/mL	120 µg/mL	140 µg/mL
Excipient	2,4 mL	3,2 mL	4,0 mL	4,8 mL	5,6 mL
Eau purifiée	6,1 mL	4,8 mL	3,5 mL	2,2 mL	0,9 mL
Volume final	10 mL				

Excipients :

- Mannitol 10gr/100mL
- Cellulose 5gr/100mL
- Mannitol 500 mg/100mL
- Cellulose 250 mg/100mL

La méthode est linéaire car tous les coefficients de corrélation sont supérieurs à 0,99 (Tableau VII, Figure 16, Figure 17, Figure 18, Figure 19, Figure 20). La méthode est donc linéaire entre 60 et 140 µg/mL. Néanmoins, la variance élevée des paramètres de la droite ne permet pas la définition d'une droite moyenne pour les différents échantillons. Il sera donc nécessaire, lors du dosage des échantillons, de construire une droite d'étalonnage spécifique à chaque type d'échantillon.

Il n'y a pas eu de variation significative des temps de rétention du captopril en présence des excipients. Aucune interaction type « effet matrice » n'a été décelée.

Tableau VII : équations des droites d'étalonnage du captopril

	Pente	Ordonnée à l'origine	r2
Captopril pur	6,34211	1,75271	0,999682
	6,25785	5,89578	0,999778
	6,68317	-2,43246	0,998531
Mannitol faiblement concentré	6,70468	0,536415	0,999031
	6,40204	0,195117	0,999892
	6,74762	-0,0149801	0,999115
Mannitol fortement concentré	6,48782	-1,06552	0,999646
	6,42931	-0,549179	0,999941
	6,75816	-0,589837	0,999801
Cellulose faiblement concentrée	5,9761	-1,31744	0,999781
	5,90483	-0,234209	0,999713
	6,03327	-1,14144	0,999933
Cellulose fortement concentrée	5,9265	-0,338569	0,999232
	5,94281	1,88261	0,999808
	6,46099	6,29849	0,99949
Moyenne	6,33715	0,59183	
Variance	0,09938	6,21637	
Ecart-type	0,31525	2,49326	

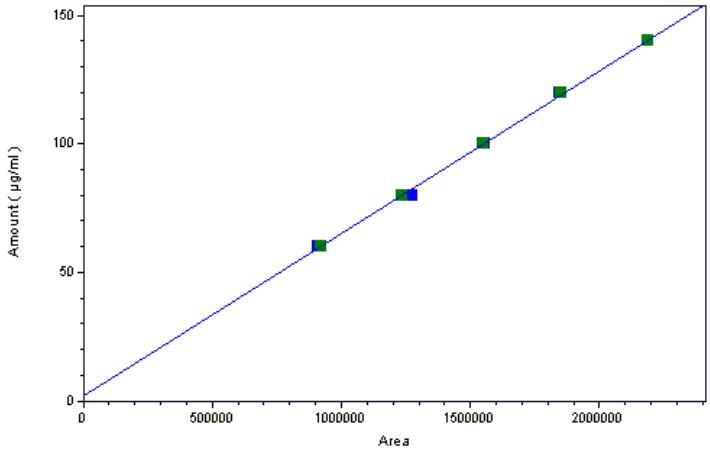


Figure 16 : droite d'étalonnage du captopril pur

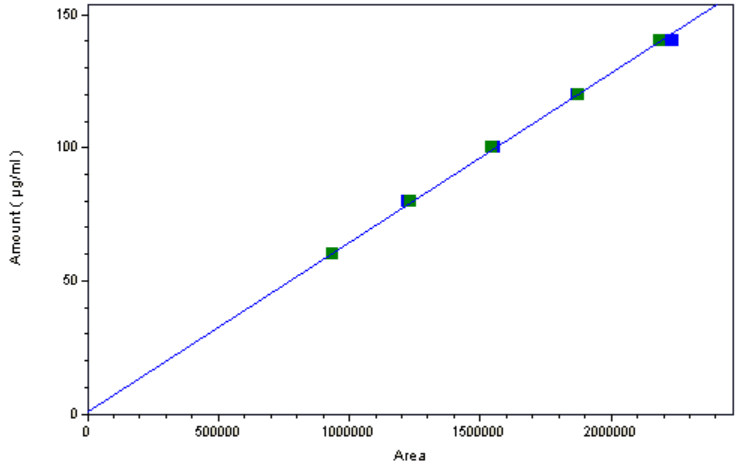


Figure 17 : gamme d'étalonnage du captopril dans la cellulose (rapport faible)

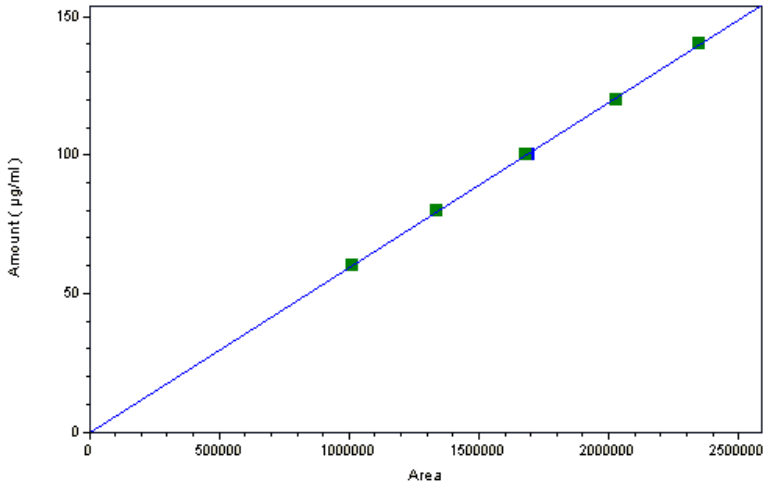


Figure 18 : gamme d'étalonnage du captopril dans la cellulose (rapport fort)

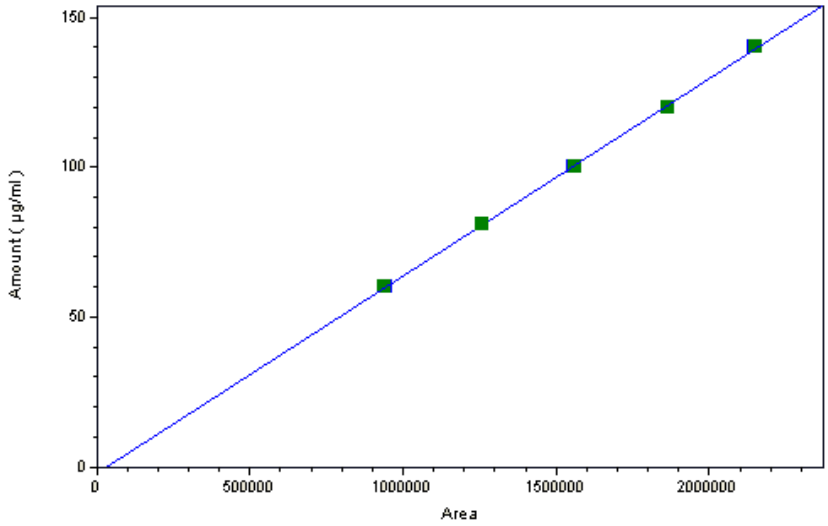


Figure 19 : droite d'étalonnage du captopril dans le mannitol (rapport fort)

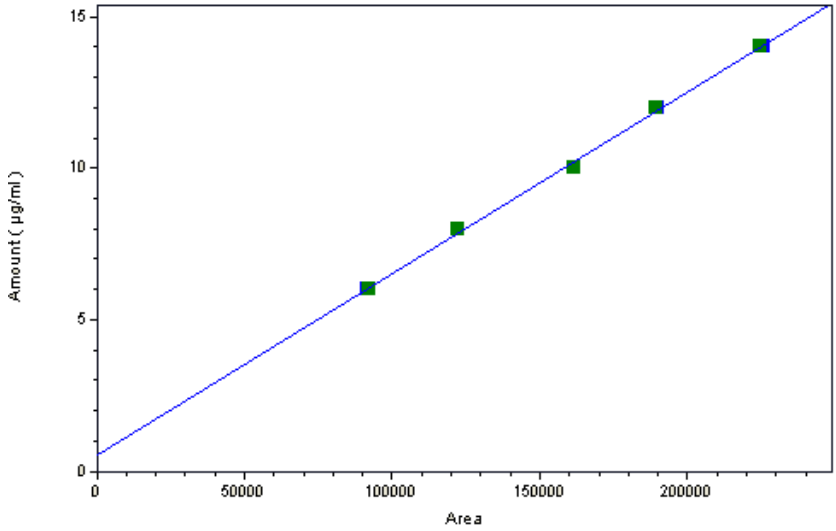


Figure 20 : droite d'étalonnage du captopril dans le mannitol (rapport fort)

IV.2.4 Reproductibilité intra-série

Elle est aussi appelée précision et exprime la réponse analytique à l'intérieur d'une série de mesures. Elle est appréciée par la moyenne, l'écart-type de répétabilité, le coefficient de variation intra-série ou écart type relatif de répétabilité.

Elle est définie par les ICH [60] comme étant le degré de dispersion entre des séries de mesures obtenues à partir de l'échantillonnage multiple du même échantillon.

La reproductibilité intra-série est basée sur la mesure, sur trois jours différents de 7 échantillons de même dosage de captopril, à 10 mg/100 mL. La mesure a été faite pour chaque série de manipulation, c'est-à-dire captopril pur, captopril-cellulose (fort rapport),

captopril-cellulose (faible rapport), captopril-mannitol (fort rapport), captopril-mannitol (faible rapport).

Pour obtenir la concentration cible à 10 mg/mL et le rapport adéquat d'excipient, les modes opératoires suivants ont été utilisés (Tableau VIII, Tableau IX) :

Tableau VIII : préparation des échantillons de captopril pur pour les tests de reproductibilité

	Valeur cible 100 µg/mL
Captopril à 40mg/100mL	25 mL
Eau purifiée	75 mL
Volume final	100 mL

Tableau IX : préparation des échantillons de captopril - excipient pour les tests de reproductibilité

En mL	Valeur cible 100 µg/mL
Captopril à 40mg/100mL	25
Excipient	40
Eau purifiée	35
Volume final	100 mL

Excipients :

- Mannitol 10gr/100mL
- Cellulose 5gr/100mL
- Mannitol 500 mg/100mL
- Cellulose 250 mg/100mL

Les concentrations moyennes en captopril varient entre 98.82 et 101.58 µg/mL (Tableau X). Soit un intervalle inférieur à 2% autour de la valeur cible. Les coefficients de variation pour chaque série sont les suivants :

- Captopril pur : 0,75 ; 0,71 ; 1,15%.
- Captopril-mannitol (rapport faible) : 2,60 ; 1,05 ; 1,01 %.
- Captopril-mannitol (rapport fort) : 0,83 ; 1,47 ; 1,88 %.
- Captopril-cellulose (rapport faible) : 1,17 ; 1,64 ; 1,66 %.
- Captopril-cellulose (rapport fort) : 2,21 ; 0,46 ; 0,79 %.

Tous les coefficients de variation sont inférieurs à 3%. La méthode est répétable.

Tableau X : résultats des mesures pour tests de reproductibilité

		Captopril pure	Captopril-mannitol (rapport faible)	Captopril-mannitol (rapport fort)	Captopril-cellulose (rapport faible)	Captopril-cellulose (rapport fort)
Moyenne	J1	99,85	100,22	99,84	101,26	98,90
	J2	101,28	101,58	101,29	98,82	100,07
	J3	101,47	99,89	100,74	100,42	103,05
Ecart-type	J1	0,75	2,60	0,83	1,19	2,18
	J2	0,72	1,06	1,49	1,62	0,46
	J3	1,17	1,00	1,90	1,67	0,81
C.V.	J1	0,75	2,60	0,83	1,17	2,21
	J2	0,71	1,05	1,47	1,64	0,46
	J3	1,15	1,01	1,88	1,66	0,79

IV.2.5 Reproductibilité inter-série

Elle exprime la réponse analytique observée pour les différentes séries de mesure réalisées dans les mêmes conditions.

Elle est appréciée par la moyenne, l'écart-type de reproductibilité et le coefficient de variation inter-séries ou écart type relatif de reproductibilité.

Elle a été calculée à partir de tous les échantillons de reproductibilité, soit 21x5, réalisés à différents temps de l'étude (Tableau XI).

Les résultats suivants ont été obtenus :

Moyenne : 100,59 µg/mL

Ecart type : 1,70

C.V. : 1,69%.

La reproductibilité inter-séries est correcte puisque sur les 104 mesures le coefficient de variation est de 1,69%. La méthode est donc reproductible.

Tableau XI : résultats des dosages de captopril pour test de reproductibilité intersérie.

	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7
Captopril pur 1	100,37	99,45	99,80	100,19	98,5	100,86	99,76
Captopril pur 2	101,84	101,06	101,46	101,40	102,38	100,37	100,47
Captopril pur 3	100,55	101,66	103,93	100,79	100,85	101,6	100,88
Mannitol rapport faible 1	101,70	96,84	96,71	101,99	102,88	99,29	102,12
Mannitol rapport faible 2	101,71	99,82	101,75	101,71	103,45	101,37	101,26
Mannitol rapport faible 3	101,26	99,16	99,37	101,36	99,41	98,91	99,74
Mannitol rapport fort 1	99,19	101,25	99,10	99,91	98,99	100,01	100,46
Mannitol rapport fort 2	104,53	100,90	101,34	100,34	100,1	100,94	100,88
Mannitol rapport fort 3	100,80	99,66	99,71	100,25	104,89	99,4	100,44
Cellulose rapport faible 1	100,18	99,73	101,03	103,40	101,36	101,32	101,8
Cellulose rapport faible 2	*	97,14	100,79	100,60	97,62	99,23	97,56
Cellulose rapport faible 3	103,19	100,68	100,47	101,80	98,67	98,71	99,39
Cellulose rapport fort 1	98,44	95,46	98,26	101,81	100,8	100,18	97,34
Cellulose rapport fort 2	100,51	99,34	99,79	99,72	100,49	100,45	100,18
Cellulose rapport fort 3	104,33	102,94	103,00	102,80	101,72	102,85	103,69

* Echantillon inexploitable

IV.3 Préparation des échantillons

D'après le Code de la Santé Publique, la réalisation des préparations doit se faire dans un lieu dédié [61]. Deux cents gélules de chaque dosage, conditionnées sous les trois formes étudiées (blister, FIC, pilulier) ont été fabriquées dans le préparatoire de la pharmacie de l'Hôpital de Brabois Enfant selon les Bonnes Pratiques de Préparation (BPP) [11]. Leur préparation se fait selon un protocole indiquant les masses de poudre (principe actif et excipient) à utiliser en fonction du dosage des gélules, et de la quantité à produire. La taille de la gélule est la plus faible possible. Il n'a pas été inclus de marqueur de l'homogénéité de la poudre (carmin) afin de ne pas avoir d'interférences sur la méthode de dosage.

IV.3.1 Tests de conformité des gélules fabriquées

Les gélules doivent répondre aux exigences de la Pharmacopée.
Deux essais sont réalisés :
– l'essai d'uniformité de masse
– l'essai d'uniformité de teneur

IV.3.1.1 Essai d'uniformité de masse

La Pharmacopée européenne propose de peser individuellement 20 gélules prises au hasard et de déterminer la masse moyenne. La masse individuelle de deux au plus des 20 gélules peut s'écarter de la masse moyenne de 10 % (si la masse moyenne est inférieure à 300 mg) ou de 7,5 % (si la masse moyenne est supérieure ou égale à 300 mg), mais la masse d'aucune gélule ne peut s'écarter de plus du double de ce pourcentage.

Le mode opératoire consiste à peser une gélule pleine puis, sans perdre de fragments de l'enveloppe, à vider le contenu et à peser l'enveloppe. La masse du contenu est calculée par différence. L'opération est répétée sur les 19 autres gélules.

Ce type de contrôle (du fait de la destruction inévitable d'une partie du lot fabriqué) est difficilement réalisable en pratique pour une pharmacie hospitalière étant donné les petites quantités produites et la lourdeur du mode opératoire imposé par les précautions à prendre lors de la manipulation des produits anticancéreux. Ainsi avons nous dû modifier cet essai pour le rendre plus commode. L'« essai modifié » consiste à peser 20 gélules pleines dès qu'elles sont fabriquées, à l'intérieur même de l'isolateur rigide, puis vérifier que la masse de

deux gélules au plus s'écarte des limites inscrites sur le protocole de fabrication. Ces limites, fixées à ± 10 % de la masse théorique du contenu de la gélule, sont calculées automatiquement par l'ordinateur auquel on a préalablement intégré les masses moyennes des gélules vides. Aucune masse ne doit s'écarter de plus du double de ce pourcentage.

Si l'essai d'uniformité de masse est non conforme, la série de gélules est détruite et l'essai d'uniformité de teneur n'est pas réalisé. L'essai d'uniformité de masse est réalisé sur toute série de gélules fabriquées.

Les différents lots de gélules ont tous passé avec succès l'essai d'uniformité de masse.

IV.3.1.2 Essai d'uniformité de teneur (Pharmacopée Européenne)

Cet essai est basé sur la détermination de la teneur individuelle en principe actif des gélules composant l'échantillon. Il permet de vérifier que les teneurs individuelles en principe actif se situent bien dans les limites établies par rapport à la teneur moyenne de l'échantillon.

Dix gélules sont prélevées au hasard et dosées individuellement. Au CHU, deux méthodes sont utilisées pour le dosage des gélules de captopril fabriquées à l'hôpital d'enfant, selon le dosage de la gélule : CLHP ou titrimétrie. La cellulose n'ayant pas été testée avec ces méthodes, l'essai d'uniformité de teneur a été réalisé avec la méthode mise au point dans cette étude. La préparation satisfait à l'essai si la teneur individuelle d'une seule gélule s'écarte des limites de 85 à 115 % de la teneur moyenne tout en ne s'écartant pas des limites de 75 à 125 % de la teneur moyenne.

Si la teneur individuelle de trois gélules au plus s'écarte des limites de 85 à 115 % de la teneur moyenne, et si aucune teneur individuelle ne s'écarte des limites de 75 à 125 % de la teneur moyenne, la Pharmacopée préconise de prélever au hasard vingt autres gélules et de les doser individuellement.

Aucune des 6x10 gélules testées ne s'est écartée des bornes 85-115%.

IV.3.2 Validation des calculs préliminaires

Les tickets de pesée récapitulant les quantités de matières premières utilisées pour la préparation des différentes séries de gélules ont permis de valider les calculs théoriques de

rapport entre le principe actif et l'excipient. De plus, selon la même méthodologie, un rapport captopril/quantité d'excipients a été défini pour les dosages intermédiaires, pour chaque excipient (mannitol et cellulose microcristalline). Cette donnée est nécessaire à l'établissement de la gamme d'étalonnage des dosages intermédiaires de gélules.

Les rapports suivants ont été extraits des fiches de fabrication :

- Captopril/mannitol :

Gélules dosées à 10 mg (rapport faible) :1/20
Gélules dosées à 5 mg (rapport intermédiaire) :1/40
Gélules dosées à 0,5 mg (rapport fort) :1/400

- Captopril/cellulose :

Gélules dosées à 10 mg (rapport faible) :1/10
Gélules dosées à 5 mg (rapport intermédiaire) :1/20
Gélules dosées à 0,5 mg (rapport fort) :1/200

IV.3.3 Calcul des prises d'essai

La stabilité de chaque dosage, chaque conditionnement et pour chaque excipient a été vérifiée à partir de solutions préparées avec la poudre des gélules. Quelque soit le dosage initial, la concentration cible est toujours 10 mg/ 100mL.
Pour cela, la pesée d'une prise d'essai de poudre calculée à partir du protocole de fabrication des gélules permet de s'affranchir de l'incertitude de remplissage de ces gélules. Un protocole de manipulation a été rédigé à partir de ces données (Annexe C).

- Captopril/mannitol

Gélules de captopril 10mg
Peser environ exactement 195,3mg de poudre de gélules de captopril 10mg (ce qui équivaut à 10 mg de captopril). Dissoudre cette prise d'essai dans 100 mL d'eau ultra-pure.

Gélules de captopril 5mg

Peser environ exactement 192,1mg de poudre de gélules de captopril 5mg (ce qui équivaut à 5 mg de captopril). Dissoudre cette prise d'essai dans 50 mL d'eau ultra-pure.

Gélules de captopril 0,5mg

Peser environ exactement 357,3mg de poudre de gélules de captopril 0,5mg (ce qui équivaut à 1 mg de captopril). Dissoudre cette prise d'essai dans 10 mL d'eau ultra-pure.

- Captopril/cellulose

Avant injection, la solution est filtrée sur filtre 0,22µm

Gélules de captopril 10mg

Peser environ exactement 123,0mg de poudre de gélules de captopril 10mg (ce qui équivaut à 10 mg de captopril). Dissoudre cette prise d'essai dans 100 mL d'eau ultra-pure.

Gélules de captopril 5mg

Peser environ exactement 119,2mg de poudre de gélules de captopril 5mg (ce qui équivaut à 5 mg de captopril). Dissoudre cette prise d'essai dans 50 mL d'eau ultra-pure.

Gélules de captopril 0,5mg

Peser environ exactement 233,8mg de poudre de gélules de captopril 0,5mg (ce qui équivaut à 1 mg de captopril). Dissoudre cette prise d'essai dans 10 mL d'eau ultra-pure.

V Stabilité du captopril

Les résultats présentés correspondent aux deux premiers mois de l'étude.

V.1 Dosage des gélules de captopril 0,5 mg (excipient : mannitol)

Les résultats sont répertoriés dans le Tableau XII et la Figure 21.

Tableau XII : résultats des dosages de échantillons de poudre extraits des gélules de captopril dosées à 0,5 mg (excipient : mannitol)

	J0	J45 (en µg/mL)	J90 (en µg/mL)
FIC	89,92	80,77	72,18
	84,49	77,46	78,27
	94,43	79,74	79,65
Moyenne	89,61	79,32	76,70
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	88,52	85,59
PILULIER	89,67	59,83	45,24
	88,23	59,06	45,99
	91,21	62,51	44,61
Moyenne	89,70	60,47	45,28
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	67,41	50,48
BLISTER	89,05	82,38	76,81
	90,90	78,91	74,27
	84,92	80,94	79,9
Moyenne	88,29	80,74	76,99
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	91,45	87,21

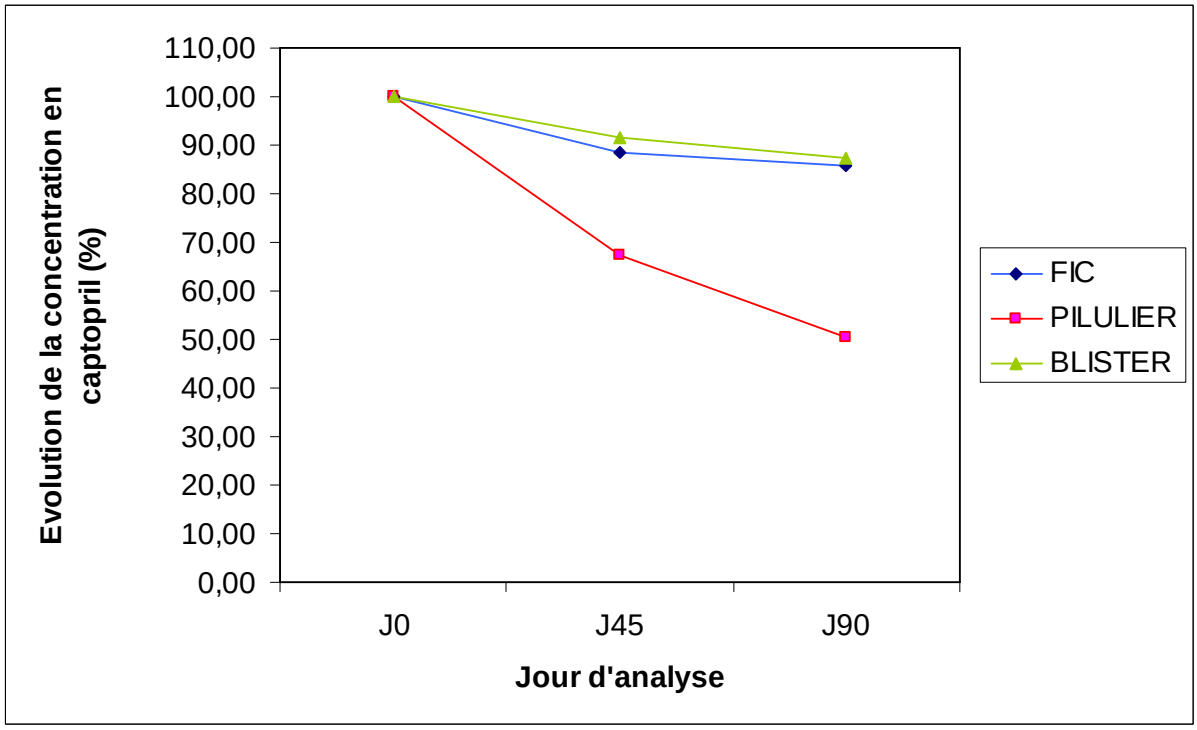


Figure 21 : évolution de la concentration (en %) en captopril des gélules de captopil à 0,5 mg (excipient : mannitol)

Au 45ème jour :

Aucun changement d'aspect de la poudre n'a été décelé. Une nette diminution de la teneur en captopril est observée; cette diminution dépasse les 30% à 45 jours pour les gélules conditionnées en pilulier. Sur la plupart des chromatogrammes figure un pic de dégradation au niveau du produit de dégradation principal, à l'exception des échantillons FIC1 et Blister 1 (Annexe D).

Au 90ème jour :

Aucun changement d'aspect de la poudre n'a été décelé. Le pic de dégradation devient constant à J90, et son importance rapportée au pic du captopril s'accroît. Il existe une relation entre la surface du pic de dégradation et la diminution de la surface du pic du captopril (Tableau XIII), même si elle ne semble pas linéaire. La dégradation du principe actif se poursuit, atteignant presque 50% à 3 mois pour les gélules conditionnées en pilulier.

Tableau XIII : surface des pics de dégradation des échantillons préparés à partir des gélules de captopril à 0,5 mg (excipient : mannitol)

	J45			J90		
	Aire du pic de captopril	Aire du pic de l'impureté principale	rapport Simpureté / Scaptopril (en%)	Aire du pic de captopril	Aire du pic de l'impureté principale	rapport Simpureté / Scaptopril (en%)
Témoin	1655554	ND	NC	1557718	ND	NC
FIC1	1323684	ND	NC	1140951	27823	2,44
FIC2	1269534	180606	14,23	1234691	223412	18,09
FIC3	1306893	204827	15,67	1255979	200991	16,00
Moyenne	3900111	385433	9,88	3631621	452226	12,45
PIL1	981228	219283	22,35	726449	202381	27,86
PIL2	968579	457154	47,20	738040	669198	90,67
PIL3	1025024	539845	52,67	716791	684584	95,51
Moyenne	2974831	1216282	40,89	2181280	1556163	71,34
BLI1	1349963	ND	NC	1212157	692552	57,13
BLI2	1293222	163718	12,66	1173124	211901	18,06
BLI3	1326435	214483	16,17	1259805	247393	19,64
Moyenne	3969620	378201	9,53	3645086	1151846	31,60

ND : Non Déterminé
NC : Non Calculable

V.2 Dosage des gélules de captopril 5 mg (excipient : mannitol)

Les résultats sont répertoriés dans le Tableau XIV et la Figure 22.

Tableau XIV : résultats des dosages des échantillons de poudre extraits des gélules de captopril dosées à 5 mg (excipient : mannitol)

	J0	J45 (en µg/mL)	J90 (en µg/mL)
FIC	93,62	94,66	93,67
	93,92	95,43	93,38
	94,35	95,13	94,12
Moyenne	93,96	95,07	93,72
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	101,18	99,74
PILULIER	95,08	90,48	85,62
	94,74	90,79	86,72
	95,91	97,00	85,69
Moyenne	95,24	92,76	86,01
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	97,39	90,31
BLISTER	88,81*	97,50	95,38
	93,49*	94,67	94,59
	91,57*	94,00	92,18
Moyenne	91,29	95,39	94,05
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	104,49	103,02

* les résultats du dosage à J0 semblent légèrement inférieurs aux dosages ultérieurs.

Au 45ème jour :

Aucun changement d'aspect de la poudre n'a été décelé. Un faible pic de dégradation a été observé, notamment au niveau des gélules conditionnées en pilulier. La perte ne principe actif la plus importante (presque 3%) correspond à ces mêmes gélules.

Au 90ème jour :

Aucun changement d'aspect de la poudre n'a été décelé. Un pic de dégradation de faible importance est apparu au niveau des chromatogrammes, notamment ceux correspondant aux gélules conservées en pilulier.

La variation de la concentration en captopril la plus importante reste inférieure à 4%, à l'exception notable des gélules conditionnées en pilulier. Pour ce conditionnement, la perte en principe actif atteint presque 10 % en trois mois. Une analyse de la surface des pics montre leur accroissement au cours du temps (Tableau XV).

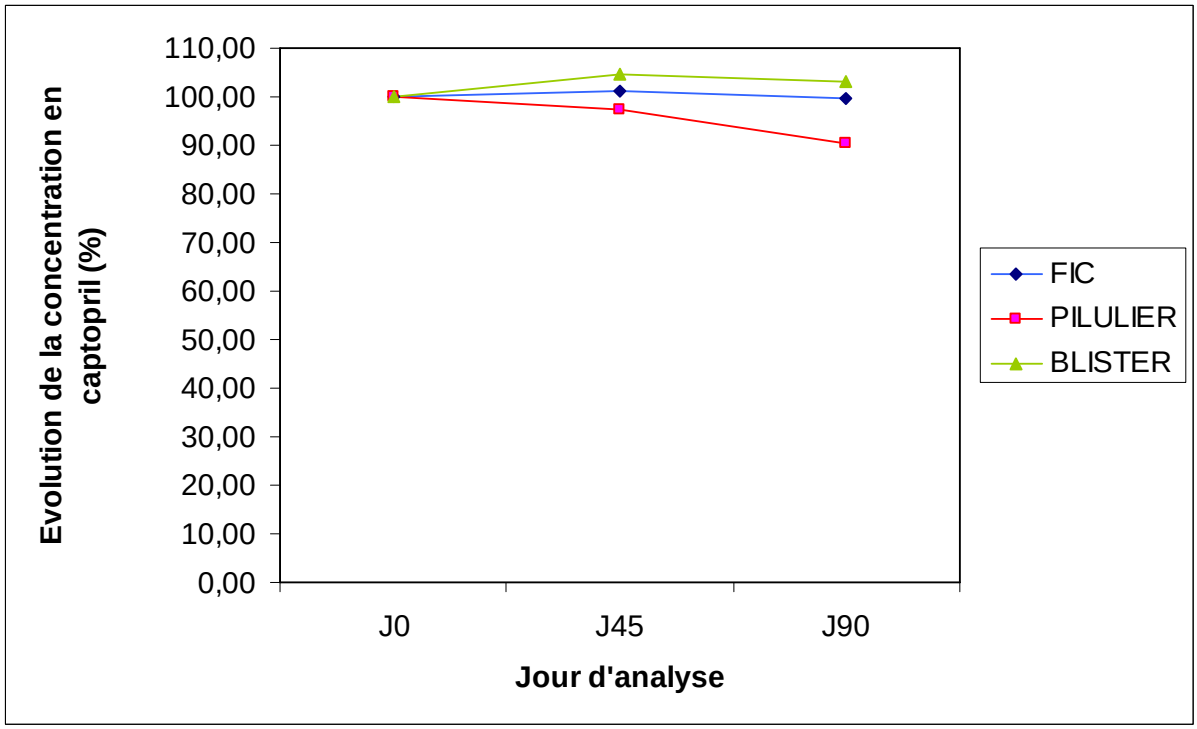


Figure 22 : évolution de la concentration (en %) en captopril des gélules de captopril à 5 mg (excipient : mannitol)

Tableau XV : évolution des surfaces des pics de captopril et de l'impureté principale au cours du temps (gélules à 5 mg, excipient : mannitol)

	J45			J90		
	Aire du pic de captopril	Aire du pic de l'impureté principale	rapport Simpureté / Scaptopril (en %)	Aire du pic de captopril	Aire du pic de l'impureté principale	rapport Simpureté / Scaptopril
Témoin	1654355	ND	NC	1552577	ND	NC
FIC1	1536136	ND	NC	1429842	60769	4,25
FIC2	1548600	29597	1,91	1425462	62495	4,38
FIC3	11543720	35920	0,31	1436726	68910	4,80
Moyenne	4876152	32759	0,67	1430677	64058	4,48
PIL1	1468897	38355	2,61	1306491	65617	5,02
PIL2	1473964	89804	6,09	1456154	165257	11,35
PIL3	1573881	50665	3,22	1323372	150760	11,39
Moyenne	1505581	59608	3,96	1362006	127211	9,34
BLI1	1581900	64722	4,09	1307577	161341	12,34
BLI2	1536299	28740	1,87	1443997	50861	3,52
BLI3	1525595	30478	2,00	1407141	64368	4,57
Moyenne	1547931	41313	2,67	1386238	92190	6,65

ND : Non Déterminé

NC : Non Calculable

V.3 Dosage des gélules de captopril 10 mg (excipient : mannitol)

Les résultats sont répertoriés dans le Tableau XIV et dans la Figure 23.

Tableau XVI : résultats des dosages de échantillons de poudre extraits des gélules de captopril dosées à 10 mg (excipient : mannitol)

	J0	J45 (en µg/mL)	J90 (en µg/mL)
FIC	90,91	97,42	95,97
	96,45	96,19	94,79
	97,70	96,29	96,08
Moyenne	95,02	96,63	95,61
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	101,70	100,62
PILULIER	94,57	93,97	93,33
	98,20	96,02	92,64
	97,11	95,66	95,84
Moyenne	96,63	95,22	93,94
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	98,54	97,22
BLISTER	96,36	97,47	95,92
	96,26	93,66	94,94
	90,76	96,68	92,14
Moyenne	94,46	95,94	94,33
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	101,56	99,87

Au 45ème jour :

Aucun changement d'aspect de la poudre n'a été décelé. Aucun pic de dégradation n'a été observé sur les chromatogrammes. La perte ne principe actif la plus importante n'atteint pas 2% (gélules conditionnées en pilulier).

Au 90ème jour :

Aucun changement d'aspect de la poudre n'a été décelé.

La variation de concentration la plus importante reste inférieure à 3% (gélules conditionnées en pilulier). Nous n'avons pas observé de pic de dégradation.

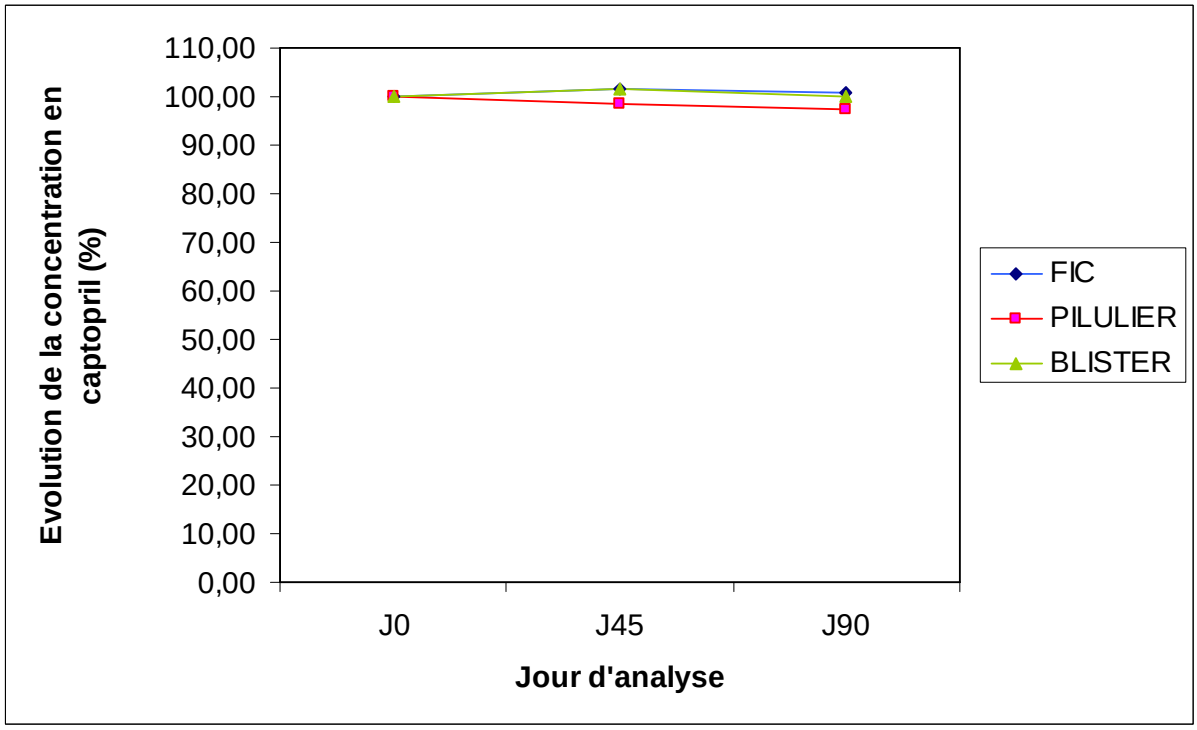


Figure 23 : Evolution de la concentration (en %) en captopril des gélules de captopril à 10 mg (excipient : mannitol)

V.4 Dosage des gélules de captopril 0,5 mg (excipient : cellulose)

Les résultats sont répertoriés dans le Tableau XVII et la Figure 24.

Tableau XVII : résultats des dosages de échantillons de poudre extraits des gélules de captopril dosées à 0,5 mg (excipient : cellulose)

	J0	J45 (en µg/mL)	J90 (en µg/mL)
FIC	82,07	76,01	79,12
	80,35	84,18	76,06
	85,80	78,95	72,97
Moyenne	82,74	79,71	76,05
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	96,34	91,91
PILULIER	86,18	80,18	74,27
	80,99	73,99	72,84
	82,95	84,95	79,07
Moyenne	83,37	79,71	75,39
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	95,60	90,43
BLISTER	83,40	81,70	74,34
	84,69	78,73	77,71
	82,05	77,47	79,57
Moyenne	83,38	79,30	77,21
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	95,11	92,60

Au 45ème jour :

Aucun changement d'aspect de la poudre n'a été décelé.

La perte en principe actif la plus importante reste inférieure à 5%. Nous n'avons pas observé de pic de dégradation.

Au 90ème jour :

Aucun changement d'aspect de la poudre n'a été décelé.

Des pics de dégradation commencent à apparaître. La perte en principe actif atteint presque 10%, mais reste homogène entre conditionnements différents. Le rapport entre le pic de dégradation et le pic principal est d'emblé important (Tableau XVIII).

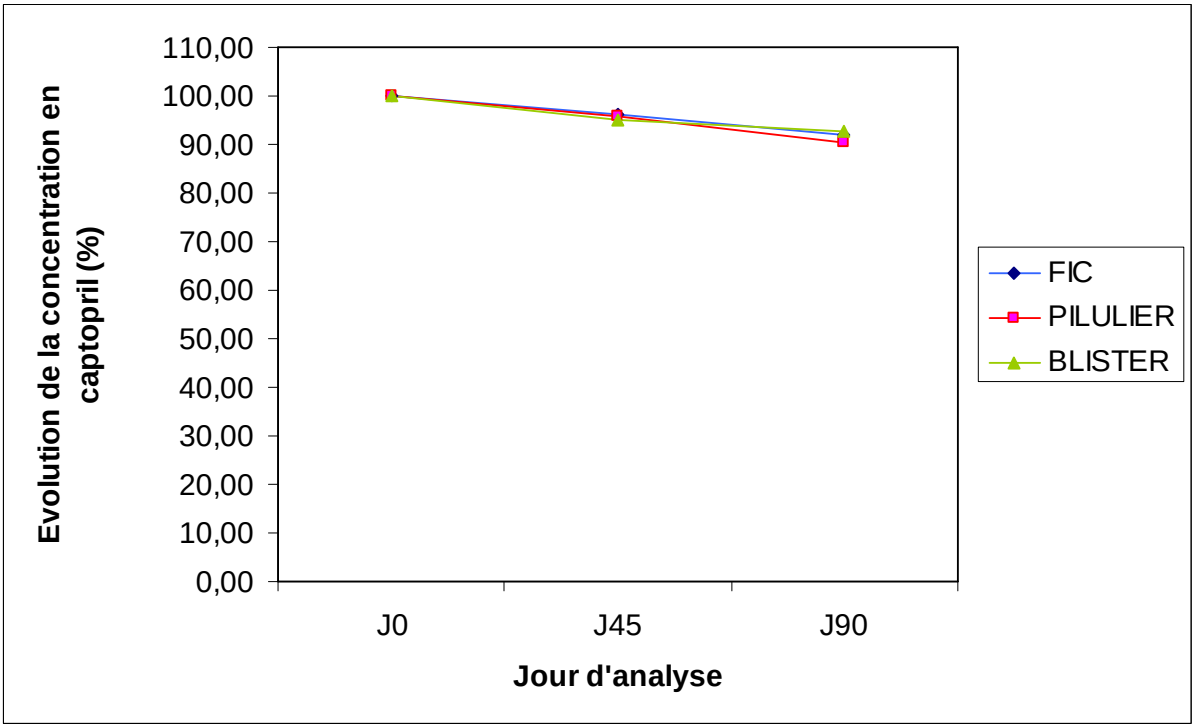


Figure 24 : évolution de la concentration (en %) en captopril des gélules de captopril à 0,5 mg (excipient : cellulose)

Tableau XVIII : évolution des surfaces des pics de captopril et de l'impureté principale au cours du temps (gélules à 0,5 mg, excipient : cellulose)

	J45			J90		
	Aire du pic de captopril	Aire du pic de l'impureté principale	rapport Simpureté / Scaptopril (en %)	Aire du pic de captopril	Aire du pic de l'impureté principale	rapport Simpureté / Scaptopril (en %)
Témoin	1539637	ND	NC	1576699	33903	2,15
FIC1	1170709	ND	NC	1256525	56054	4,46
FIC2	1298429	ND	NC	1207474	259245	21,47
FIC3	1216540	ND	NC	1157687	255521	22,07
Moyenne	1228559	NC	NC	1207229	190273	15,76
PIL1	1235872	ND	NC	1178581	271678	23,05
PIL2	1139089	ND	NC	1155647	273395	23,66
PIL3	1310454	ND	NC	1255840	277869	22,13
Moyenne	1228472	NC	NC	1196689	274314	22,92
BLI1	1259580	ND	NC	1179768	272109	23,06
BLI2	1213108	ND	NC	1233946	217953	17,66
BLI3	1193518	ND	NC	1263817	221082	17,49
Moyenne	1222069	NC	NC	1225844	237048	19,34

ND : Non Déterminé

NC : Non Calculable

V.5 Dosage des gélules de captopril 5 mg (excipient : cellulose)

Les résultats sont répertoriés dans le Tableau XIX et la Figure 25.

Tableau XIX : résultats des dosages de échantillons de poudre extraits des gélules de captopril dosées à 5 mg (excipient : cellulose)

	J0	J45 (en µg/mL)	J90 (en µg/mL)
FIC	98,04	93,90	93,02
	92,95	97,75	94,9
	95,94	93,15	89,67
Moyenne	95,64	94,93	92,53
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	99,26	96,74
PILULIER	95,13	93,82	91,53
	92,89	94,46	92,83
	94,23	94,85	87,24
Moyenne	94,08	94,38	90,53
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	100,31	96,23
BLISTER	97,13	88,96	92,93
	95,68	96,81	92,62
	94,03	92,84	93,79
Moyenne	95,61	92,87	93,11
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	97,13	97,39

Au 45ème jour :

Aucun changement d'aspect de la poudre n'a été décelé.

La variation la plus importante reste inférieure à 3%. Il n'existe pas de pic de dégradation.

Au 90ème jour :

Aucun changement d'aspect de la poudre n'a été décelé.

La perte en principe actif ne dépasse pas 4%. Aucun pic de dégradation n'a été observé.

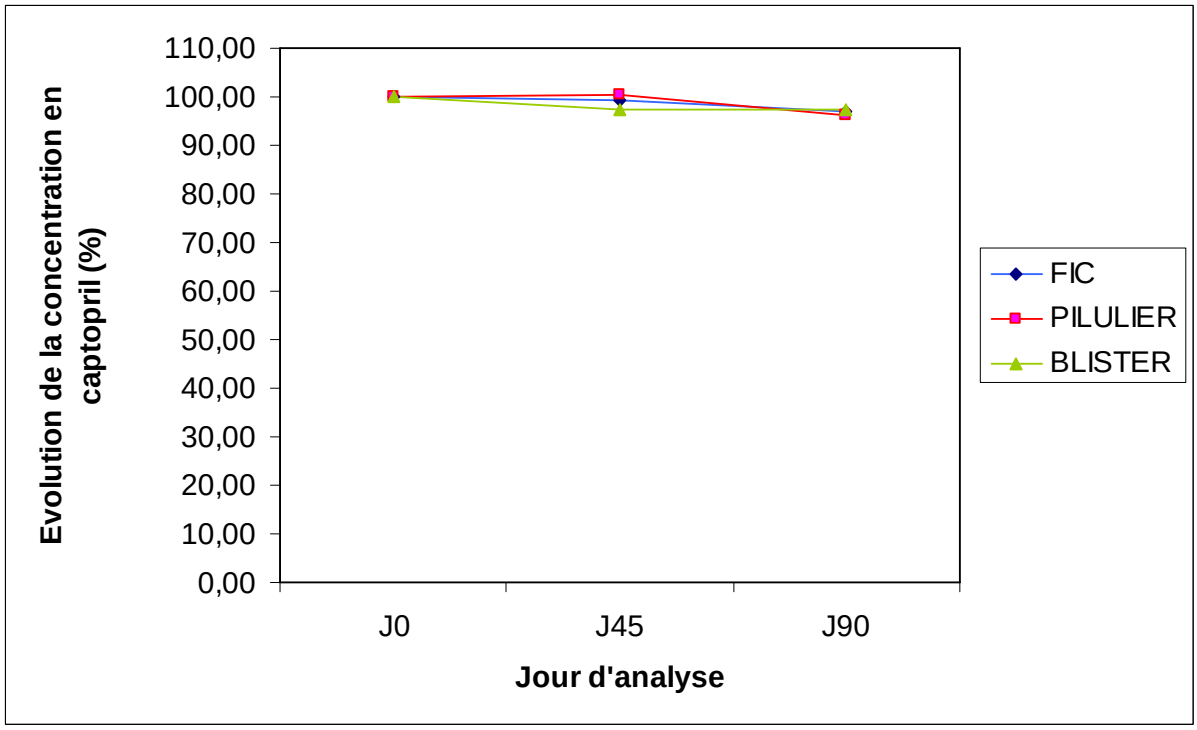


Figure 25 : évolution de la concentration (en %) en captopril des gélules de captopril à 5 mg (excipient : cellulose)

V.6 Dosage des gélules de captopril 10 mg (excipient : cellulose)

Les résultats sont répertoriés dans le Tableau XX et la Figure 26.

Tableau XX : résultats des dosages de échantillons de poudre extraits des gélules de captopril dosées à 10 mg (excipient : cellulose)

	J0	J45 (en µg/mL)	J90 (en µg/mL)
FIC	89,73	89,73	95,95
	90,09	93,28	94,74
	100,33	92,40	97,62
Moyenne	93,38	91,80	96,10
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	98,31	102,91
PILULIER	100,58	93,00	90,51
	87,48	94,98	94,8
	91,92	92,76	93,64
Moyenne	93,33	93,58	92,98
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	100,27	99,63
BLISTER	92,05	97,32	95,12
	94,41	92,87	93,25
	98,16	95,21	91,76
Moyenne	94,87	95,13	93,38
Pourcentage de produit restant (%)	100,00	100,27	98,42

Au 45ème jour :

Aucun changement d'aspect de la poudre n'a été décelé.

La variation la plus importante reste inférieure à 2%. Aucun pic de dégradation n'est apparu sur le chromatogramme.

Au 90ème jour :

Aucun changement d'aspect de la poudre n'a été décelé.

La perte en principe actif la plus importante reste inférieure à 2%. Il n'a pas été observé de pic de dégradation.

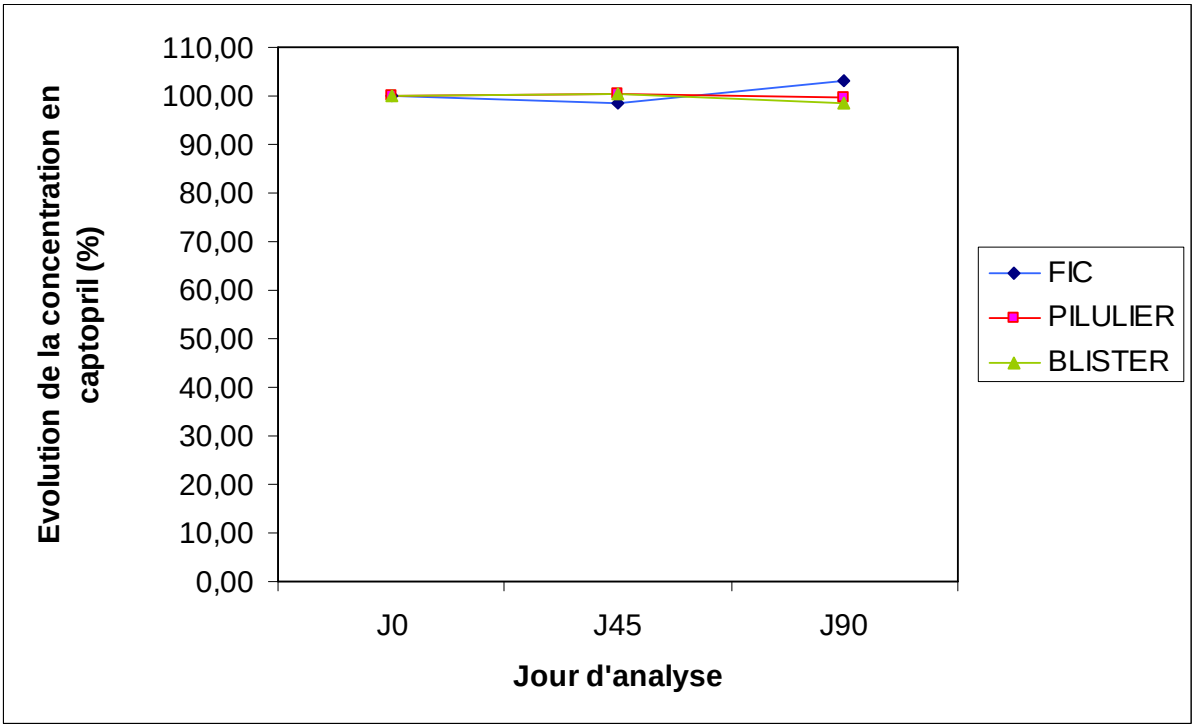


Figure 26 : évolution de la concentration (en %) en captopril des gélules de captopril à 10 mg (excipient : cellulose)

VI Discussion

VI.1 Validation de la méthode de dosage

Il faut noter que la colonne n'étant pas thermostatée, des variations des paramètres chromatographiques liés à la température peuvent se produire. Si le coefficient de corrélation des droites de régression est toujours supérieur à 0,99 ; les paramètres des droites (pente et ordonnée à l'origine) présentent des variations suffisantes pour motiver la réalisation d'une gamme d'étalonnage préalablement à chaque série de manipulation, afin de minimiser l'impact des variations de température et de la dégradation du captopril entre la préparation de l'échantillon et son injection. Cette gamme d'étalonnage a subit le même traitement que les échantillons à doser (présence d'excipient aux concentrations définis, filtration pour la cellulose).

Comme cela a été vu précédemment, les grandeurs chromatographiques expérimentales (efficacité et symétrie) sont faibles pour ce type de méthode d'analyse. Elles sont toutefois suffisantes pour permettre la mise en évidence des paramètres de dégradation et le dosage du principe actif.

Il a été montré que les excipients n'influent pas sur le chromatogramme. Aucun effet matrice n'a été décelé.

L'analyse de trois séries de sept échantillons pour le captopril pur et les rapports extrêmes principe actif/excipient a montré que la méthode est répétable et reproductible.
L'analyse des concentrations obtenues indique que la moyenne des concentrations est proche de 100µg/mL, l'écart maximum observé étant de 3,4%.

La méthode est donc linéaire, répétable et reproductible.

Le nombre d'analyse effectuée sur la colonne étant très élevé, il conviendra de s'assurer que l'usure de la colonne n'influe pas sur les analyses ultérieures.

VI.2 Mise en évidence des produits de dégradation

La dégradation du captopril soumis à différents stress a permis de mettre en évidence différents produits de dégradation, le principal étant le disulfure de captopril. Ces produits n'ayant pas le même temps de rétention que le captopril, ils n'interfèrent pas lors de l'analyse des chromatogrammes.

VI.3 Premier résultats de l'étude de stabilité

Dans le cadre de cette étude la définition retenue pour la stabilité est celle proposée par l'ICH Q1A [53] :

« In general, "significant change" for a drug product is defined as:

1. A 5% change in assay from its initial value; or failure to meet the acceptance criteria for potency when using biological or immunological procedures;
2. Any degradation product's exceeding its acceptance criterion;
3. Failure to meet the acceptance criteria for appearance, physical attributes, and functionality test (e.g., color, phase separation, resuspendibility, caking, hardness, dose delivery per actuation); however, some changes in physical attributes (e.g., softening of suppositories, melting of creams) may be expected under accelerated conditions; and, as appropriate for the dosage form:
4. Failure to meet the acceptance criterion for pH; or
5. Failure to meet the acceptance criteria for dissolution for 12 dosage units».

Sur cette base, les gélules de captopril seront considérées comme stable si la variation de principe actif est inférieure à 5% et si les limites de la pharmacopée européenne pour les impuretés ne sont pas atteintes, soit 1% de la surface du pic principal pour chaque impureté, et au maximum 2 % de la surface du pic principal pour la somme des impuretés.

Aucune altération des caractères de la poudre n'a été décelée sur les différents lots, à J45 comme à J90.

A J45, à l'exception de la série de gélules de captopril dosées à 0,5 mg dans le mannitol, la teneur en captopril des gélules reste supérieure à la teneur limite. La teneur en impureté des gélules préparées dans le mannitol et dosées à 5 mg (sauf pour le conditionnement FIC) et 0,5 mg (tout conditionnement) dépasse le seuil limite.

A J90, la dégradation des gélules conditionnées dans le mannitol et dosées à 0,5 mg se poursuit, jusqu'à atteindre presque 50% de perte en principe actif pour les gélules conditionnées en pilulier. La concentration des gélules à 5 mg (excipient : mannitol) est supérieure à 95% à J90, à l'exception des gélules conditionnées en pilulier, dont la teneur diminue de presque 10%.
Une diminution de presque 10% de la teneur en principe actif des gélules dosées à 0,5 mg avec la cellulose comme excipient est observable à J90. Contrairement aux gélules préparées dans le mannitol, celle-ci semble homogène dans les trois conditionnements.
La perte en principe actif des gélules dosées à 10 mg, quelque soit l'excipient, et des gélules dosées à 5 mg et préparées avec de la cellulose n'a pas dépassée 4% pendant les trois premiers mois d'étude.
Les teneurs limites définies par la pharmacopée ont été atteintes pour les gélules dosées à 0,5 mg et 5 mg dans le mannitol, et 0,5 mg dans la cellulose.

Sur la base de ces données parcellaires, au moins trois facteurs semblent influer sur la stabilité des gélules :

- **l'excipient :** les gélules conditionnées dans la cellulose microcristalline sont plus stables que celle préparées à base de mannitol ;
- **le dosage en principe actif :** les gélules faiblement dosées se dégradent plus rapidement ;
- **le conditionnement :** à dosage égal, les gélules se dégradant le plus vite sont conditionnées en pilulier, au moins pour celles préparées dans le mannitol.

Un essai de d'analyse de gélules dosées à 0,5 mg et préparées au CHU fin mai 2009 a montré une teneur inférieur à plus de 10% de la valeur cible. La surface des pics de dégradation est presque 3 fois inférieure à celle de leurs homologues à J90. La dégradation, si elle est bien présente, semble moins rapide. Il faut noter que ces gélules ont été préparées à partir de comprimés écrasés, et non pas de la substance pure. Toutefois, d'après la littérature, cet élément est préjudiciable à la stabilité, au moins pour les solutions [41, 43, 51].

Ces données vont engager la pharmacie dans une réflexion sur les formes pédiatriques de captopril. Pour les gélules fortement dosées, un changement d'excipient (la cellulose remplaçant le mannitol) devrait permettre d'augmenter la stabilité des préparations. Le remplacement des gélules les plus faiblement dosées par une solution de captopril et d'acide ascorbique est une solution possible. De nombreuses études documentent ce type de préparation [42, 43, 46, 49, 51]. Pour confirmer ces résultats, et compte tenu des différences de stabilité possible entre les formulations à base de comprimés écrasés et à base de la substance pure, il serait souhaitable de réaliser un essai de conformité de teneur sur des lots de gélules préparées à intervalle régulier (1 mois), afin de mesurer de manière approximative l'évolution de la teneur en captopril au cours du temps de la formulation préparée de manière usuelle.

Conclusion

Le but de cette étude était de mettre au point une méthode *stability-indicatiog* de dosage du captopril permettant la réalisation d'une étude de stabilité. Dix huit lots de gélules font l'objet de l'étude (3 dosages : 0,5 ; 5 et 10 mg ; 2 excipients : cellulose et mannitol ; 3 conditionnements : pilulier, blister, conditionnement unitaire FIC). La stabilité a été définie comme correspondant à une perte de principe actif inférieure à 5% et une quantité d'impuretés inférieure aux seuils définis.

Les premiers résultats de cette étude montrent un manque de stabilité de toutes les gélules de captopril dosées à 0,5 mg, et des gélules dosées à 5 mg conditionnées dans le mannitol. Les gélules conditionnées dans la cellulose se dégradent moins rapidement que celles conditionnées dans le mannitol. Une dégradation accélérée a été observée pour les gélules conditionnées avec du mannitol et stockées sous forme de pilulier. Les gélules conditionnées dans le mannitol et dosées à 10 mg sont stables pendant 90 jours selon les critères définis. De même, la stabilité des gélules de captopril à 5 et 10 mg dans la cellulose est avérée pendant 90 jours sur la base de ces premiers résultats.

Cette étude apporte les premiers éléments à une rationalisation du choix de la date de péremption des gélules pédiatriques fabriquées à l'Hôpital d'Enfants, ainsi qu'une réflexion sur la forme galénique utilisée compte tenu des résultats des dosages des gélules faiblement dosées.

Bibliographie

[1] Di Paolo ER., Stoetter H., Cotting J., Frey P., Gehri M., Beck-Popovic M., Tolsa JF., Fanconi S., Pannatier A.
Unlicensed and off-label drug use in a Swiss paediatric university hospital.
Swiss Medical Weekly 2006, 136: p.218-222.

[2] Henn-Ménétré S., Prévot M., May I.
Préparations hospitalières et assurance qualité : fabrication de gélules à usage pédiatrique.
Journal de Pharmacie Clinique 2003, 22: p.101-106.

[3] Levine SR., Choen MR., Blanchard NR., Frederico F., Magelli M., Lomax C.
Draft guidelines for preventing medication errors in padiatrics.
Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics 2001, 6: p.426-442.

[4] Fontan J.E., Mille F., Brion F.
L'administration des médicaments à l'enfant hospitalisé.
Archives de pédiatrie 2004, 11: p.1173–1184.

[5] Conroy S., Choonara I., Impicciatore P., Mohn A., Arnell H.
Survey of unlicensed and off label drug use in paediatric wards in European countries.
British Medical Journal 2000, 320: p.79-82.

[6] Nahata MC.
Pediatric drug formulations: challenges and potential solutions.
The Annals of Pharmacothererapy 1999, 33: p.247-249.

[7] World Health Organisation
17th Expert Committee on the Selection and Use of Essential Medicines
Geneva, March 2009.
http://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/17/en/index.html, site consulté le 05/2009.

[8] Ministère de la Santé, de la Famille et des Personnes Handicapées.
Arrêté du 29 décembre 2003 fixant le contenu du dossier de déclaration des préparations hospitalières prévues à l'article L. 5121-1 du code de la santé.
J.O. du 24/01/2004 : p.1809-1811.

[9] Perissutti M.
Gélules à usages pédiatriques étude de stabilité : phase préliminaire.
Mémoire de DES de Pharmacie Hospitalière et des Collectivités.
Nancy, Juin 2009, 46p.

[10] Agence française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
Résumé du rapport d'analyse des préparations hospitalières déclarées à l'Afssaps (période janvier 2004-janvier 2006) .
Résumé du rapport d'analyse des préparations hospitalières déclarées à l'Afssaps (période janvier 2006-janvier 2009) .
http://www.afssaps.fr/Afssaps-media/Publications/Rapports-et-syntheses consultés le 05/2009.

[11] Ministère de la Santé, de la Jeunesse et des Sports.
Agence française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.
Bonnes Pratiques de Préparation.
Bulletin officiel, No 2007/7 bis, Fascicule special, 79 p.

[12] Pharmacopée Européenne 6.0.
Addendum 6.2 ; Strasbourg : Conseil de l'Europe, 2008, 6499 p.

[13] Cusham D. W., Ondetti M. A.
History of the design of captopril and related inhibitors of angiotensin converting enzyme.
Hypertension 1991, 17: p. 589-592.

[14] Le dictionnaire Vidal®2009
85ème Édition ; Paris : éditions Vidal, 2009, 2656 p.

[15] Guide Pratique des Médicaments Dorosz 2009.
28ème Édition ; Paris : édition Maloine; 2009, 1893 p.

[16] Base de données Thériaque.
CNHIM.
http://theriaque.org, site consulté le 09/09/2009.

[17] Martindale: the complete drug reference.
34ème edition; London: Pharmaceutical Press , 2005, 2756 p.

[18] Mirkin B.L. and Newman T.J.
Efficacy and safety of captopril in the treatment of severe childhood hypertension: report of the International Collaborative Study Group.
Pediatrics 1985, 75: p.1091-100.

[19] Flynn J.
Pharmacologic management of childhood hypertension: current status, future challenges.
American Journal of Hypertension 2002, 15, p. 30-33.

[20] Robinson R., Nahata C., Batisky D., Mahan J.
Pharmacologic Treatment of Chronic Pediatric Hypertension.
Pediatric Drugs 2005, 7: p. 27-40.

[21] Norwood VF.
Hypertension.
Pediatrics 2002, 23: p.197-209.

[22] Wood EG., Bunchman TE., Lynch RE.
Captopril-induced reversible acute renal failure in an infant with coarctation of the aorta.
Pediatrics 1991, 88: p.816–818.

[23] Cachat F.
Traitement de l'hypertension artérielle chez l'enfant : recommandations actuelles
Paediatrica, 2004 ; 15 : p.26-34.

[24] Kaplan S.
New drug approaches to the treatment of heart failure in infants and children.
Drugs 1990, 39: p.388-393.

[25] Mirkin BL., Newman TJ.
Efficacy and safety of captopril in the treatment of severe childhood hypertension : report of the international collaborative study group.
Pediatrics 1985, 75 : p.1091-1100.

[26] Montigny M., Davignon A.., Fouron JC.
Captopril in infants for congestive heart failure secondary to a large ventricular left-to-right shunt.
American Journal of Cardiology 1989, 63 : p.661-663.

[27] Scammell AM., Arnold R., Wilkinson JL.
Captopril in treatment of infant heart failure: a preliminary report.
International Journal of Cardiology 1987, 75 : p.1091-1100.

[28] Chatterjee N., Rouleau JL., Parmley WW.
Captopril in congestive heart failure : left ventricular function with decreased metabolic cost.
American Heart Journal 1982, 104 : p.1137-1146.

[29] Temple M., Nahata M.
Treatment of Pediatric Hypertension: Pharmacologic Treatment
Pharmacotherapy 2000, 20: p.140-150.

[30] Taketomo C., Hodding J., Kraus D.
Paediatric dosage handbook
15 édition, Hudson : Lexi-Comp, 1998, 1600 p.

[31] Mimran A.
HTA et système rénine–angiotensine–aldostérone.
La Revue de médecine interne 2007, 28 : p.11.

[32] Lepoutre-Lussey C., Gimenez-Roqueplo A.-P., Leviel F., Plouin P.-F.
EMC Endocrinologie-Nutrition: Physiologie et méthodes d'exploration du système rénine-angiotensine-aldostérone.
Paris : Elsevier Masson, 2008.

[33] Creasey WA., Funke PT., McKinstry DN., Sugerman AA.
Pharmacokinetics of captopril in elderly healthy male volunteers .
Clinical Pharmacology and Therapeutics 1980, 27: p.636-641.

[34] Devlin RG., Fleiss PM.
Captopril in human blood and breast milk.
Journal of Clinical Pharmacology 1981, 21: p.110-113.

[35] Kripalani K., McKinstry D., Singhvi S., Willard D., Vukovich R., Migdalof B
Disposition of captopril in normal subjects .
Clinical Pharmacology and Therapeutics 1980, 27: p.636-641.

[36] Yves C., Christian J.
Pharmacologie 6°édition.
Paris ; Masson : 2008, 512 p.

[37] Rosenthal T., Oparil S.
The effect of antihypertensive drugs on the foetus.
Journal of Human Hypertension 2002, 16: p.293-308.

[38] Guignard JP., Gouyon JB.
Adverse effects of drugs on the immature kidney.
Biology of the Neonate 1988, 53: p.243–252.

[39] Colucci RD., Auty R., Scavone J., Glassner-Cohen L.
The chemical stability of captopril capsules.
International journal of clinical pharmacology, therapy, and toxicology 1989, 27: p. 599-601.

[40] Lee T., Notari RE.
Kinetics and mechanism of captopril oxydation in aqueous solution under controlled oxygen partial pressure.
Pharmaceutical Research 1987, 4 : p.98-103.

[41] Berger-Gryllaki M., Podilsky G., Widmer N, Gloor S., Testa B., Pannatier A
The development of a stable oral solution of captopril for paediatric patients
EJHP Science 2007, 13 : p. 67-72.

[42] Lye M., Yow K., Lee L., Chan S., Chan E., Ho P.
Effects of ingredients on stability of captopril in extemporaneously prepared oral liquids.
American Journal of Health-System Pharmacy 1997, 57: p.2483-2487.

[43] Pramar Y, Das Gupta V, Bethea C.
Stability of captopril in some aqueous systems.
Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics 1992, 17: p.185-189.

[44] Peter T., Ivan M., Yu-chang J.
Factors affecting captopril stability in aqueous solution.
International Journal of Pharmaceutics 1982, 11 : p. 329-336.

[45] Schlatter J., Sola A., Saulnier J.-L.
Stabilité d'une solution orale de captopril 1 mg/mL = Stability of oral captopril solutions.
Journal de pharmacie clinique 1997, 16 : p. 125-128.

[46] Trissel L.
Trissel's Stability of Compounded Formulations
3° édition; Washington : APhA Publication, 2005, 496 pages.

[47] Kristensen S., Lao Y. E., Brustugun J., Braenden J. U.
Influence of formulation properties on chemical stability of captopril in aqueous preparations.
Pharmazie 2008, 12 : p.872-877.

[48] Pereira CM., Tam YK.
Stability of captopril in tap water.
American Journal of Hospital Pharmacy 1992, 49: p.612-615.

[49] Nahata MC., Morosco RS., Hipple TF.
Stability of captopril in liquid containing ascorbic acid or sodium ascorbate.
American Journal of Hospital Pharmacy 1994, 51: p.95-96.

[50] Kenneth A., Connors Gordon L., Amidon Valentino J.
Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists.
2°édition ; Hoboken : Wiley-Interscience, 1986, 847 p.

[51] Chan DS., Sato AK., Claybaugh JR.
Degradation of captopril in solution compounded from tablets and standard powder.
American Journal of Hospital Pharmacy 1994, 51: p.2105-2107.

[52] Décision du 8 juin 2007 portant inscription au répertoire des groupes génériques mentionné à l'article R. 5121-5 du code de la santé publique.
J.O. du 12/10/2007 : p.16697.

[53] International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. ICH Harmonised Tripartite
ICH Topic Q 1 A (R2) Stability Testing of new Drug Substances and Products : Note for guidance on stability testing : Note for guidance on stability testing : stability testing of new drug substances and products, 2003.

[54] International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use.
ICH Harmonised Tripartite Guideline, Evaluation For Stability Data Q1E, 2003.

[55] Hagan RL.
High-performance liquid chromatography for small-scale studies of drug stability.
American Journal of Hospital Pharmacy 1994, 51: p. 2162-2175.

[56] Fonteneau J-M, Klusiewicz P.
Travaux pratiques de préparation et de conditionnement des médicaments.
Paris : Editions Porphyre, 2008, 281 p.

[57] Désenfant M., Priel M., Rivier C.
De la validation des méthodes d'analyse à l'évaluation de l'incertitude des résultats de mesure.
Laboratoire National d'Essais.
http://www.lne.fr/publications/actes_11e_congres_metrologie/81.pdf, consulté le 05/2009.

[58] Norme FD V 01-000
Analyse des produits agricoles et alimentaires – Terminologie, Décembre 1999.

[59] International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use.
ICH Harmonised Tripartite Guideline, Validation Of Analytical Procedures : Text and Methodology Q2(R1), 2005.

[60] International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use.
ICH Harmonised Tripartite Guideline, Text on Validation of Analytical Procedures Q2A, 1994.

[61] Décret n °2000-1316 du 26 décembre 2000 relatif aux pharmacies à usage intérieur.
J.O. du 26/12/2000: p.20454.

Liste des figures

Figure 1 : structure du captopril 8

Figure 2 : structure développée du disulfure de captopril 9

Figure 3 : d'après [31], description du système rénine-angiotensine-aldostérone 13

Figure 4 : exemple de pilulier 21

Figure 5 : exemple de conditionnement FIC 21

Figure 6 : exemple de blisters 21

Figure 7 : structure du mannitol 24

Figure 8 : structure de la cellulose 25

Figure 9 : chromatogramme du captopril 27

Figure 10 : exemple de chromatogramme 29

Figure 11 : diagramme taille de gélule-volume de poudre [56] 31

Figure 12 : chromatogramme de dégradation du captopril dans l'acide à 0,1N 34

Figure 13: chromatogramme de dégradation du captopril dans l'acide 1N 34

Figure 14 : chromatogramme de dégradation du captopril en milieu basique 0,5N 35

Figure 15 : chromatogramme de dégradation du captopril en milieu basique 1,0N 36

Figure 16 : droite d'étalonnage du captopril pur 39

Figure 17 : gamme d'étalonnage du captopril dans la cellulose (rapport faible) 39

Figure 18 : gamme d'étalonnage du captopril dans la cellulose (rapport fort) 39

Figure 19 : droite d'étalonnage du captopril dans le mannitol (rapport fort) 40

Figure 20 : droite d'étalonnage du captopril dans le mannitol (rapport fort) 40

Figure 21 : évolution de la concentration (en %) en captopril des gélules de captopil à 0,5 mg (excipient : mannitol) 49

Figure 22 : évolution de la concentration (en %) en captopril des gélules de captopril à 5 mg (excipient : mannitol) 52

Figure 23 : Evolution de la concentration (en %) en captopril des gélules de captopril à 10 mg (excipient : mannitol) 55

Figure 24 : évolution de la concentration (en %) en captopril des gélules de captopril à 0,5 mg (excipient : cellulose) 57

Figure 25 : évolution de la concentration (en %) en captopril des gélules de captopril à 5 mg (excipient : cellulose) 60

Figure 26 : évolution de la concentration (en %) en captopril des gélules de captopril à 10 mg (excipient : cellulose) 62

Liste des tableaux

Tableau I : tableau récapitulatif des indications du captopril 12

Tableau II : solubilité du mannitol 31

Tableau III : protocole de dégradation forcée du captopril 33

Tableau IV : tableau récapitulatif des rétentions relatives des pics de dégradation 36

Tableau V : préparation de la gamme de captopril pur 37

Tableau VI : préparation des gammes captopril – excipient 37

Tableau VII : équations des droites d'étalonnage du captopril 38

Tableau VIII : préparation des échantillons de captopril pur pour les tests de reproductibilité 41

Tableau IX : préparation des échantillons de captopril - excipient pour les tests de reproductibilité 41

Tableau X : résultats des mesures pour tests de reproductibilité 42

Tableau XI : résultats des dosages de captopril pour test de reproductibilité intersérie. 43

Tableau XII : résultats des dosages de échantillons de poudre extraits des gélules de captopril dosées à 0,5 mg (excipient : mannitol) 48

Tableau XIII : surface des pics de dégradation des échantillons préparés à partir des gélules de captopril à 0,5 mg (excipient : mannitol) 50

Tableau XIV : résultats des dosages des échantillons de poudre extraits des gélules de captopril dosées à 5 mg (excipient : mannitol) 51

Tableau XV : évolution des surfaces des pics de captopril et de l'impureté principale au cours du temps (gélules à 5 mg, excipient : mannitol) 53

Tableau XVI : résultats des dosages de échantillons de poudre extraits des gélules de captopril dosées à 10 mg (excipient : mannitol) 54

Tableau XVII : résultats des dosages de échantillons de poudre extraits des gélules de captopril dosées à 0,5 mg (excipient : cellulose) 56

Tableau XVIII : évolution des surfaces des pics de captopril et de l'impureté principale au cours du temps (gélules à 0,5 mg, excipient : cellulose) 58

Tableau XIX : résultats des dosages de échantillons de poudre extraits des gélules de captopril dosées à 5 mg (excipient : cellulose)..... 59

Tableau XX : résultats des dosages de échantillons de poudre extraits des gélules de captopril dosées à 10 mg (excipient : cellulose)..... 61

ANNEXE A

LISTE DES SPECIALITES COMMERCIALISEES CONTENANT DU CAPTOPRIL

Base de donnée Thériaque, consultée le 01/2009.

CAPOTEN 5MG/ML SOL BUV

CAPTEA 50MG/25MG CPR

CAPTOPRIL ARW 25MG CPR

CAPTOPRIL ARW 50MG CPR

CAPTOPRIL BGA 25MG CPR

CAPTOPRIL BGA 50MG CPR

CAPTOPRIL CRT 25MG CPR

CAPTOPRIL CRT 50MG CPR

CAPTOPRIL EG 25MG CPR

CAPTOPRIL EG 50MG CPR

CAPTOPRIL HCTZ ACT 50/25MG CPR

CAPTOPRIL HCTZ ARW 50/25MG CPR

CAPTOPRIL HCTZ BGA 50/25MG CPR

CAPTOPRIL HCTZ EG 50/25MG CPR

CAPTOPRIL HCTZ MYL 50/25MG CPR

CAPTOPRIL HCTZ QUA 50/25MG CPR

CAPTOPRIL HCTZ RTP 50/25MG CPR

CAPTOPRIL HCTZ SDZ 50/25MG CPR

CAPTOPRIL HCTZ TVC 50/25MG CPR

CAPTOPRIL MYL 25MG CPR

CAPTOPRIL MYL 50MG CPR

CAPTOPRIL QUA 25MG CPR

CAPTOPRIL QUA 50MG CPR

CAPTOPRIL RTP 25MG CPR

CAPTOPRIL RTP 50MG CPR

CAPTOPRIL SDZ 25MG CPR

CAPTOPRIL SDZ 50MG CPR
CAPTOPRIL TVC 25MG CPR
CAPTOPRIL TVC 50MG CPR
CAPTOPRIL WTR 12,5MG CPR
CAPTOPRIL WTR 25MG CPR
CAPTOPRIL WTR 50MG CPR
CAPTOPRIL ZYD 25MG CPR
CAPTOPRIL ZYD 50MG CPR
ECAZIDE 50MG/25MG CPR
LOPRIL 25MG CPR
LOPRIL 50MG CPR

ANNEXE B

EXEMPLE DE FICHE DE FABRICATION

Capto-cellulose.xls - modèle paramétrisé copie [Page 1 de 2] imp.le 04/09/2009

CHU DE NANCY - PHARMACIE HÔPITAL D'ENFANTS

PREPARATION DES GELULES PEDIATRIQUES

CAPTOPRIL	5, mg	Ord : 0

Gélules réalisées à partir de CAPTOPRIL de pureté égale à 100,0%

N° D'ORDONNANCIER	Date de fabrication	stockage :	Péremption fixée à 1 an
	4 septembre 2009	t° ambiante et abri de la lumière	1 septembre 2010

NOMBRE DE GELULES A PREPARER :	200 gélules	n° lot gélules : 66069
Taille de gélule n° 3	Masse d'une gélule vide :	49, mg
Gélules préparées par : [redacted]	Fabrication contrôlée par : [redacted]	
(Signature)	(Signature)	

Poudre principe actif

Quantité totale de CAPTOPRIL nécessaire **1 000, mg**

Masse de poudre de CAPTOPRIL équivalent à **1, g**

Excipient cellulose microcristalline

Masse de cellulose microcristalline utilisé **22,8356 g**

PRODUITS	QUANTITE	NUMERO LOT (péremption)	PESEE
CAPTOPRIL	1, g	66069 01/09/2012	-0.001 g 1.000 g 0.000 g 22.836 g
cellulose microcristalline	22,836 g	08H13 - N01 30/04/2012	
			(coller les pesées)

Préparation de la poudre
Mise en gélules

Date : 4/09/09.
Heure : 15h00
Exécutant : [redacted]
(Signature)

Pesée pour 100 gélules : 11,918 g
Pesée pour 200 gélules : 23,836 g

Quantité obtenue
198 Gélules

0.000 g
23.600 g

Coller les

Conditionnement - Etiquetage → LISTE I

Date : 4/09/09
Heure : 15h20
Exécutant : [redacted]

CHU NANCY
Pharmacie HE
Captopril
5 mg
gélule voie orale
formule :
per : 01 sept 10
Respecter les doses prescrites

ANNEXE C

MODE OPERATOIRE

NB : prévoir environ 2,5 heures par série de manipulation (une série correspondant à un dosage de gélule dans un excipient donné, soit au total : 6 séries de manipulation).

Matériel et réactifs

- un appareil pour chromatographie liquide haute performance Spectrasystem Spectra Physics Analytical composée d'une pompe P2000, d'un injecteur automatique AS3000, d'un détecteur à longueur d'ondes variables UV2000 et d'une interface Spectra SYSTEM SN 4000 qui met en relation la pompe, l'injecteur et le détecteur avec le logiciel ChromQuest d'acquisition et de traitement des données.
- la colonne chromatographique utilisée est une : UP5C8*12QS, du Laboratoire INTERCHIM©

  Taille des particules (µm) : 5 Diamètre interne (mm) : 4.0

  Lot : C8-5-8077 Longueur (mm) : 125

  Greffage : C8

- une hotte aspirante
- une balance Mettler Toledo AG204 et enregistreur Mettler Toledo SQC 14
- un agitateur ROTAMAG 10 - PROLABO
- un pHmètre Fischer Bioblock Scientific 93313
- une électrode combinée Fischer Bioblock combination ion electrode , n°4907
- des filtres nitrocellulose MILLIPORE 0,22microns, 47mm diamètre
- du matériel pour filtration sur Büchner
- du matériel de laboratoire : béchers, fioles, tubes à essais, pipettes, entonnoir
- des flacons pour CLHP ThermoFisher, 1,8mL, 12x32mm
- des bouchons à vis pour CLHP ThermoFisher
- des filtres Millex 0,22 µm
- Eau ultrapure obtenue par le système Purelab Ultra
- Hélium BIP Air Products
- Captopril pot de 25 g, Laboratoire INRESA
- Cellulose FAGRON

- Mannitol PROLABO
- Dihydrogénophosphate de potassium anhydre CARLO ERBA REAGENTS
- Méthanol CARLO ERBA REAGENTS
- Acide orthophosphrique PROLABO pureté 85%

Préparer la phase mobile

*Tampon phosphate pH 2,5, méthanol R, eau R (*35 : 65 *V/V)*

Dans une fiole jaugée de 2 L, mélanger 2 mL d'acide phosphorique et 9,57 g de dihydrogenophosphate de potassium. Compléter à 2 L avec de l'eau ultrapure. Vérifier le pH (2,5). Ajuster si nécessaire. Filtrer sur Büchner. Ajouter la quantité nécessaire de méthanol. Dégazer la phase mobile à l'hélium.

Paramétrer la colonne et programmer le logiciel Chromquest®

– Débit d'élution : 1mL/min
– Longueur d'onde de détection : 220 nm
– Volume de la boucle d'injection : 20µL
– Temps d'analyse : 15 min

Préparer les gammes d'étalonnage

- **Préparer la solution mère de captopril**

Peser exactement 100,0 mg de captopril. Dissoudre dans 250 mL d'eau ultrapure.

- **Préparer les solutions mères d'excipient nécessaires**

Mannitol

- Mannitol 10gr/100mL (solution A) : peser environ 10 gr de mannitol. Dissoudre dans 100 mL d'eau ultrapure. Agiter (Appareil à ultrasons).
- Mannitol 1 gr/100mL : prélever 10 mL de la solution A. Dissoudre dans 100 mL d'eau ultrapure. Agiter (Appareil à ultrasons).
- Mannitol 500 mg/100mL: prélever 5 mL de la solution A. Dissoudre dans 100 mL d'eau ultrapure. Agiter (Appareil à ultrasons).

Cellulose

- Cellulose 5gr/100 mL (solution A) : peser environ 5 gr de cellulose. Dissoudre dans 100 mL d'eau ultrapure. Agiter (Appareil à ultrasons).
- Cellulose 500 mg/100mL : prélever 10 mL de la solution A. Dissoudre dans 100 mL d'eau ultrapure. Agiter (Appareil à ultrasons).
- Cellulose 250 mg/100mL: prélever 5 mL de la solution A. Dissoudre dans 100 mL d'eau ultrapure. Agiter (Appareil à ultrasons).

– **Préparer les gammes nécessaires dans des fioles jaugées de 10 mL à l'aide du tableau suivant:**

Préparation des gammes captopril – excipient

	60%	80%	100%	120%	140%
Captopril à 40 mg/100mL	1,5 mL	2,0 mL	2,5 mL	3,0 mL	3,5 mL
Concentration finale en captopril	60 µg/mL	80 µg/mL	100 µg/mL	120 µg/mL	140 µg/mL
Excipient	2,4 mL	3,2 mL	4,0 mL	4,8 mL	5,6 mL
Eau purifiée	q.s.p. 10 mL				

Excipients :

- Mannitol 10gr/100mL
- Mannitol 1gr/100mL
- Mannitol 500 mg/100mL
- Cellulose 5gr/100mL
- Cellulose 500 mg/100mL
- Cellulose 250 mg/100mL

Agiter.

Important : Filtrer les gammes préparées dans la cellulose dans une série de tubes à essai à l'aide de filtres Millex 0,22µm.

Préparer les échantillons

Gélules de captopril 10mg

Peser environ exactement 195,3mg de poudre de gélules de captopril 10mg (ce qui équivaut à 10 mg de captopril). Dissoudre cette prise d'essai dans 100 mL d'eau ultrapure.
A répéter 3 fois.

Gélules de captopril 5mg

Peser environ exactement 192,1mg de poudre de gélules de captopril 5mg (ce qui équivaut à 5 mg de captopril). Dissoudre cette prise d'essai dans 50 mL d'eau ultrapure.
A répéter 3 fois.

Gélules de captopril 0,5mg

Peser environ exactement 357,3mg de poudre de gélules de captopril 0,5mg (ce qui équivaut à 1 mg de captopril). Dissoudre cette prise d'essai dans 10 mL d'eau ultrapure.
A répéter 3 fois.

Gélules de captopril 10mg

Peser environ exactement 123,0mg de poudre de gélules de captopril 10mg (ce qui équivaut à 10 mg de captopril). Dissoudre cette prise d'essai dans 100 mL d'eau ultrapure. **Avant injection, la solution est filtrée sur filtre 0,22µm.**
A répéter 3 fois.

Gélules de captopril 5mg

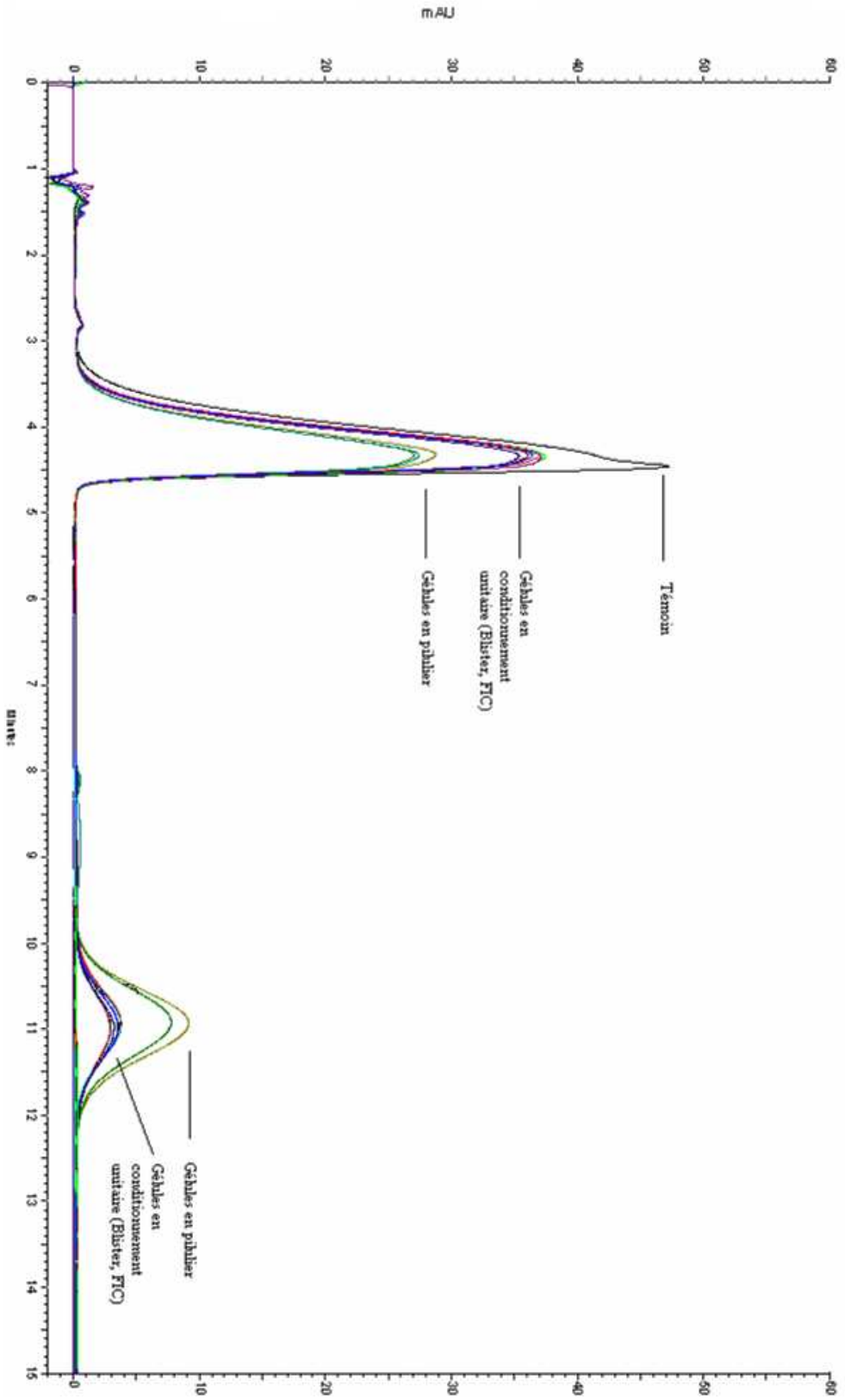
Peser environ exactement 119,2mg de poudre de gélules de captopril 5mg (ce qui équivaut à 5 mg de captopril). Dissoudre cette prise d'essai dans 50 mL d'eau ultrapure. **Avant injection, la solution est filtrée sur filtre 0,22µm.**
A répéter 3 fois.

Gélules de captopril 0,5mg

Peser environ exactement 233,8mg de poudre de gélules de captopril 0,5mg (ce qui équivaut à 1 mg de captopril). Dissoudre cette prise d'essai dans 10 mL d'eau ultrapure. **Avant injection, la solution est filtrée sur filtre 0,22µm.**
A répéter 3 fois.

ANNEXE D

CHROMATOGRAMMES DES ECHANTILLONS DE GELULES DE CAPTOPRIL A 0,5 MG DANS LE MANNITOL À J45



N° d'identification :

TITRE

ETUDE DE STABILITE DE GELULES DE CAPTOPRIL A USAGE PEDIATRIQUE

Thèse soutenue le 03/02/2010

Par Nicolas VERAN

RESUME :

L'enfant est considéré comme un patient particulièrement à risque, en médecine libérale et à l'hôpital, l'une des raisons étant que les spécialités commerciales disponibles sont souvent inadaptées à un usage pédiatrique. Les dosages des spécialités commerciales sont souvent très supérieurs à ce qui serait nécessaire, ce qui conduit au prélèvement de faibles volumes de précision médiocre. De plus, les formes orales solides ne peuvent être avalées par les enfants de moins de six ans et l'utilisation de certains excipients est déconseillée chez eux.

Face à cette situation, le pharmacien hospitalier se voit dans l'obligation de déconditionner de nombreuses spécialités, afin de préparer des formes prêtes à l'emploi utilisables en pratique pédiatrique. Le guide de bonnes pratiques de préparation publié au bulletin officiel 2007/7 bis fixe les principes qui s'appliquent à l'ensemble des préparations (magistrales, officinales et hospitalières), réalisées notamment au sein des Pharmacies à Usage Intérieur dûment autorisées. En ce qui concerne la date limite d'utilisation, ce guide précise que « la date limite d'utilisation des préparations terminées est fixée à la suite d'études bibliographiques et/ou d'essais de stabilité. A défaut, la date limite d'utilisation ne peut dépasser un mois. Cette limite peut être réduite en fonction de la stabilité de la préparation. »

Ces différents éléments ont poussé la Pharmacie du CHU de Nancy à initier une étude de la stabilité sur deux ans des gélules de captopril à usage pédiatrique fabriquées à la pharmacie de l'Hôpital d'Enfant, afin de pouvoir prolonger la péremption de ses préparations. Dix huit lots de gélules font l'objet de l'étude (3 dosages : 0,5 ; 5 et 10 mg ; 2 excipients : cellulose et mannitol ; 3 conditionnements : pilulier, blister, conditionnement unitaire FIC). La stabilité a été définie comme correspondant à une perte de principe actif inférieure à 5% et une quantité d'impuretés inférieure aux seuils définis dans la Pharmacopée Européenne.

Les premiers résultats de cette étude montrent un manque de stabilité de toutes les gélules de captopril dosées à 0,5 mg, et des gélules dosées à 5 mg conditionnées dans la cellulose. Les gélules conditionnées dans la cellulose se dégradent moins rapidement que celles conditionnées dans le mannitol. Une dégradation accélérée a été observée pour les gélules conditionnées avec du mannitol et stockées sous forme de pilulier. Les gélules conditionnées dans le mannitol et dosées à 10 mg sont stables pendant 90 jours selon les critères définis. De même, la stabilité des gélules de captopril à 5 et 10 mg dans la cellulose est avérée pendant 90 jours sur la base de ces premiers résultats.

Cette étude apporte les premiers éléments à une rationalisation du choix de la date de péremption des gélules pédiatriques fabriquées à l'Hôpital d'Enfants, ainsi qu'une réflexion sur la forme galénique utilisée compte tenu des résultats des dosages des gélules faiblement dosées.

MOTS CLES : Pharmacie – Stabilité – Captopril – Gélule – Pédiatrie - CLHP

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Mr Jean VIGNERON	**Pharmacie, Hôpital de Brabois Adulte, CHU de Nancy**	Expérimentale ☒ Bibliographique ☐ Thème 3

Thèmes	1 – Sciences fondamentales 3 – Médicament 5 - Biologie	2 – Hygiène/Environnement 4 – Alimentation – Nutrition 6 – Pratique professionnelle