



Stabilité du paracétamol : application à un sachet produit en industrie pharmaceutique

Yacine Driad

► To cite this version:

Yacine Driad. Stabilité du paracétamol : application à un sachet produit en industrie pharmaceutique. Sciences pharmaceutiques. 2009. hal-01738987

HAL Id: hal-01738987

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01738987v1>

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.



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 POINCARÉ - NANCY 1

2009

FACULTE DE PHARMACIE

**Stabilité du paracétamol : Application à un sachet
produit en industrie pharmaceutique**

THESE

Présentée et soutenue publiquement

Le 07 décembre 2009

Pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **DRIAD Yacine**
né le 23 mars 1982 à Alger

Membres du Jury

Président : M. Philippe Maincent, Professeur.

Juges : Mme. Chantal Paulus, Pharmacien inspecteur de la région Lorraine.
Mme. Colette Zinutti, Maître de conférences.

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

SERMENT DES APOTHICAires

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

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

D'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.

De 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 moeurs 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.

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

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

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 AGREGÉ

Christophe COCHAUD	Anglais
--------------------------	---------

ASSISTANT

Annie PAVIS	Bactériologie
-------------------	---------------

Bibliothèque Universitaire Santé - Lionnois (Pharmacie - Odontologie)

Anne-Pascale PARRET.....	Directeur
--------------------------	-----------

REMERCIEMENTS

**A mon directeur et président de thèse,
Monsieur Philippe MAINCENT,**

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Nancy,
Laboratoire de Pharmacie Galénique.

« Vous m'avez fait l'honneur d'accepter la direction de ma thèse. Je vous adresse mes plus sincères remerciements pour votre accueil et vos conseils lors de la réalisation de ce travail »

A mes juges,

Madame. Chantal Paulus,

Docteur en Pharmacie,
Pharmacien inspecteur de la région Lorraine.

Madame. Colette Zinutti,

Maitre de conférences à la Faculté de Pharmacie de Nancy,
Laboratoire de Pharmacie Galénique.

« Je vous adresse mes plus sincères remerciements pour avoir accepté de juger cette thèse, veuillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance »

A mes parents,

« Qui m'ont aidé par leur extrême affection, leur soutien inconditionnel et leurs conseils avisés à avancer dans mes études et dans ma vie »

A mes frères,

« Pour leur bonne humeur contagieuse et leur présence dans les moments difficiles »

A manel,

« Pour avoir toujours cru en moi et toujours soutenu durant toutes ces années, merci pour ton amour »

A tous les miens,

Figures

Figure 1: Formule chimique du paracétamol

Figure 2: Biotransformation du paracétamol dans le foie chez les carnivores domestiques

Figure 3: AM404-un métabolite du paracétamol

Figure 4: L'anandamide- un cannabinoïde endogène

Figure 5: Impuretés du paracétamol

Figure 6: Organigramme des étapes de la production du Doliprane 500 mg sachet

Figure 7: Schéma de fabrication du Doliprane 500 mg sachet

Figure 8: Principe de fonctionnement de l'HPLC

Figure 9: Schéma de principe d'un spectromètre infrarouge

Figure 10: Suivi de l'humidité résiduelle (HR%) lors du séchage – refroidissement

Figure 11: Schéma représentant le L.A.F et les canalisations d'arrivée de l'air

Figure 12: Conditions de dégradation critiques

Figure 13: Photos des sachets mis dans différentes conditions de dégradation

Figure 14: Photos du prélèvement effectué au niveau des clapets de contre soufflage (Gauche) et du contenu d'un sachet colmaté

Tableaux

Tableau 1 : Posologies moyennes du paracétamol en fonction de l'âge

Tableau 2 : Suivi de la dégradation des sachets fabriqués à différentes température de séchage

Tableau 3 : Suivi de la quantité de PAP contenue dans des prélèvements effectués à 83°C et 89°C

Tableau 4 : Analyse des fonds de cuve et mesure du PAP

Tableau 5 : Mesure du PAP dans la matière accumulée lors du nettoyage

Tableau 6 : Résultats des essais de dégradation forcée

Tableau 7 : Résultats des essais de stabilité dans des conditions de conservation différents

Tableau 8 : Dose de PAP dans les échantillons

Tableau 9 : Récapitulatif des chromatogrammes des échantillons passés en *HPLC*

Sommaire

Introduction	12
A- Partie Théorique	13
1. Généralités sur le Paracétamol.....	13
1. 1. Historique	13
1.2. Structure et propriétés physico-chimiques :	14
1.3. Caractères organoleptiques :	17
2. Pharmacocinétique du paracétamol.....	18
2.1. L'absorption	18
2.2. La distribution tissulaire et plasmatique	19
2.3. La biotransformation.....	20
2.4. L'élimination.....	23
3. Mécanisme d'action du paracétamol	24
3.1. Mécanisme de la douleur	24
3.2. Mécanisme de la fièvre	24
3.3. Action antipyrrétique-analgésique	25
4. Indications	27
4.1. Traitement symptomatique de la douleur aiguë ou chronique	28
4.2. Traitement symptomatique de la fièvre	28
5. Contre indication	28
6. Tolérance et posologie	29
7. Toxicité et effets indésirables du paracétamol	30
7.1. Toxicité	30
7.1.1. La toxicité Hépatique	30
7.1.2. La toxicité rénale.....	32
7.1.3. Le pouvoir cancérogène.....	32
7.1.4. Le pouvoir tératogène	32
7.1.5. Le pouvoir mutagène	33
7.1.6. La toxicité oculaire.....	33
7.1.7. La pharmacodépendance	34
7.2. Effets indésirables	34
7.2.1. Allergiques	34
7.2.2. Digestifs	34
7.2.3. Sanguins	34
8. Identification, méthodes de dosage et contrôles des formes pharmaceutiques contenant du paracétamol.....	36
8.1. Identification.....	36
8.1.1. Point de fusion	36
8.1.2. Spectrophotométrie dans l'ultraviolet et le visible	36
8.1.3. Spectrophotométrie infrarouge.....	36
8.1.4. Colorimétrie	37
8.1.5. Identification d'un groupement fonctionnel.....	37
8.2. Contrôles et dosage des impuretés	37
8.2.1 Dosage des impuretés et des substances apparentées.....	37
8.2.2. Métaux lourds.....	40
8.2.3. Perte à la dessiccation.....	40
8.2.4. Cendres sulfuriques	40
8.3. Dosage du paracétamol par titrage.....	40

B- Partie expérimentale	41
1. La problématique.....	41
2. Description du procédé de fabrication du Doliprane® 500 mg sachets	42
3. Matériel et Méthode	45
3.1. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) phase inverse : (Dosage de la teneur en Para-aminophénol).....	45
3.2. Spectrophotométrie Infrarouge à transformée de Fourier.....	48
3.3. Dessiccateur.....	50
3.4. Granulomètre.....	51
4. Plan d'action-Résultats.....	51
4.1. Impact du procédé	52
4.2. Impact du nettoyage et ces fréquences	56
4.3. Identification du mécanisme d'apparition de la couleur par des combinaisons des matières premières	59
4.4. Conditions de dégradation et ses facteurs critiques	64
4.5. Comparaison des chromatogrammes des sachets colmatés (dégradés) et des sachets d'aspect correct.....	65
4.6. Identification du composé brun.....	68
5. Discussion-Conclusion	71

Introduction

De nos jours, le paracétamol est devenu un des analgésiques et des antipyrétiques les plus utilisés chez l'homme. Plus de 160 spécialités pharmaceutiques commercialisées en France sont à base de paracétamol. Il est présent notamment dans le «Doliprane®», l'«Efferalgan®» ou encore le « Di-antalvic® » qui sont les spécialités les plus vendues en officine. Son efficacité, sa bonne tolérance, son profil pharmacocinétique, son coût et son acceptabilité en font le médicament de première intention dans le traitement de la douleur d'intensité légère à modérée.

Il est généralement disponible en comprimés de 500 mg, et également disponible sous forme soluble (sachets, comprimés effervescents). Il est même décliné sous forme des préparations liquides pour les jeunes enfants.

Néanmoins, la stabilité du paracétamol a été peu étudiée dans la littérature. En effet, le paracétamol est instable en solution aqueuse et reste très sensible à l'humidité, ce qui représente un inconvénient majeur lors de sa production en industrie. Ainsi, lors de la dégradation du paracétamol, il se produit du 4- aminophénol et de la quinone-imine qui sont tous deux connus pour leur effet cytotoxique. Cette dégradation est accentuée par une température élevée et l'exposition du paracétamol à la lumière.

Dans ce travail, après quelques rappels physico-chimiques, pharmacocinétiques et pharmacologiques, nous étudierons un problème rencontré dans un atelier de production de sachets de paracétamol. Tout d'abord, nous décrirons le procédé de fabrication du dit produit. Ensuite, nous expliquerons les investigations entreprises et le plan d'action mis en place afin de résoudre ce problème. Enfin, nous exposerons les résultats obtenus avant d'envisager les moyens permettant de garantir la conformité réglementaire des sachets produits ainsi que les éventuelles futures et nécessaires investigations.

A- Partie Théorique

1. Généralités sur le Paracétamol

1. 1. Historique

En 1878, Harmon Northrop Morse synthétise une molécule appelée acétylaminophénol. Ce composé reconnu pour ses vertus antipyrétiques a été créé dans le but de substituer l'écorce de *Cinchona* très utilisée à l'époque, et qui devenait rare et chère.

En 1893, un médecin allemand, J. Von Mering, découvre les propriétés antipyrétiques et analgésiques de l'acétylaminophénol, et le reconnaît déjà comme médicament. Néanmoins, ce n'est qu'en 1930 que la molécule fut commercialisée sous le nom de **paracétamol**. Ce dernier a été un temps abandonné par crainte de toxicité rénale.

Toutefois, ce n'est que vers 1950 que le paracétamol connaît un essor lorsqu'il est identifié comme le principal métabolite actif de la phénacétine et de l'acétanilide qui furent, elles, abandonnées pour leur action méthémoglobinisante.

Le paracétamol connaît alors un franc succès dans les pays anglo-saxons (première AMM en 1955 aux Etats-Unis) ; en France (AMM en 1957), se développent aussi de nombreuses spécialités en vente libre en pharmacie, il est également utilisé en association avec :

- Un analgésique morphinique et un dérivé pipéridinique (buprénorphine, ciramadol, codéine, dextropropoxyphène, morphine, ...)
- Un corticostéroïde (la prednisone, la prednisolone, la méthyl prednisone, la dexaméthasone, la bétamétasone ou un de leurs esters)
- Un agent anti-inflammatoire du type AINS (anti-inflammatoire non stéroïdien) et en particulier dérivé d'un acide phénylcétique (le kétoprofène, le flurbiprofène, l'acide tiaprofénique, l'acide niflumique, le diclofénac ou le naproxène)

- Un agent antiémétique soit neuroleptique d'action centrale (l'haloperidol ou la chlorpromazine ou la métopimazine) ou d'action gastrocinétique (le métochlopramide ou la dompéridone)
- Un agent antiépileptique (le valproate de sodium, le chlonazépam, la carbamazépine ou la phénytoïne)
- Un agent antidépresseur tricyclique (l'amitriptyline, l'imipramine, la chlomipramine)

Ces associations de deux principes actifs permettent en général, grâce à une action synergique, de diminuer le dosage de chacune des deux molécules au sein de cette association, limitant ainsi le risque d'apparition d'effets indésirables pour la même efficacité avec chacun des deux principes actifs pris séparément ⁽¹⁾.

Le paracétamol devient alors une médication grand public, qui, contrairement à certains principes actifs comme l'acide acétylsalicylique, n'entraîne pas de lésions de la muqueuse gastrique et n'interfère pas avec la fonction plaquettaire et la coagulation.

1.2. Structure et propriétés physico-chimiques :

Le paracétamol a été synthétisé pour la première fois par Morse, en réduisant du para-nitrophénol à l'aide de l'étain en milieu acétique : c'est le N-acétyl-para-nitrophénol. Chimiquement, il s'agit de l'hydroxy-1-acétamido-4-benzéne (abrégé NAPAP) :

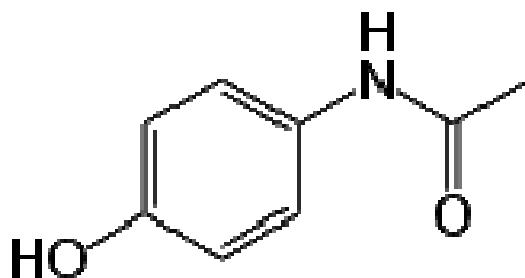


Figure 1 : Formule chimique du paracétamol ⁽²⁾

C'est une molécule appartenant au groupe des anilides, possédant un noyau commun à plusieurs composés à propriétés antipyrétiques et analgésiques.

La molécule est constituée d'un cycle benzénique, substitué par un groupement hydroxyle et par un groupement amide en position para. Le paracétamol ne comporte pas de carbone asymétrique et n'a pas de stéréo-isomère. Un des deux doublets libres de l'atome d'oxygène du groupement hydroxyle, le cycle benzénique, le doublet libre de l'atome d'azote et l'orbitale p du carbone du carbonyle forment un système conjugué (possibilité de mésomérie). Cette conjugaison réduit la basicité des oxygènes et de l'azote et rend le groupement hydroxyle plus acide (comme les phénols) car la délocalisation des charges s'effectue sur un ion phénolate.

La présence de deux groupements activants rend le cycle hautement réactif pour une substitution électrophile aromatique, les substituants étant ortho et para directeurs. Toutes les positions du cycle sont plus ou moins activées de la même manière et il n'y a donc pas de site privilégié dans le cas d'une substitution électrophile.

La dénomination commune internationale (DCI) recommandée par l'organisation mondiale de la santé (O.M.S) est « PARACETAMOL », mais au National Formulary 13 (U.S.A), figure l'appellation : « Acétaminophen ».

Dans la littérature, on le désigne aussi par acétamidophénol, acétyl-aminophénol, hydroxy-4-acétamilide, parahydroxy-acétanilide ou encore N-acétyl-para-aminophénol.

- Formule brute.....C₈H₉NO₂
- Masse molaire.....151,2 g/mol
- Point de fusion à.....168-172°C
- Solubilité ^{(2), (3)} :
 - Eau.....assez soluble
 - Alcool.....facilement soluble
 - Ether et chloroforme.....très peu soluble

- Absorption dans l'ultra-violet (U.V):
 - Il possède un maximum d'absorption dans l'U.V (éthanol) à 240 nm.
- Stabilité et conditions de dégradation :

Le paracétamol est peu liposoluble et reste stable, en solution aqueuse et à l'état sec (sauf en milieu très alcalin), pendant 5 ans dans les conditions normales de stockage, (15°C à 25°C) à l'abri de la lumière ^{(4), (1)}.

C'est un acide faible par sa fonction phénol qui lui confère un pKa de 9,5 à 25°C ; ainsi, le paracétamol se retrouve sous sa forme ionisée dans l'estomac et l'intestin grêle ce qui facilitera son absorption à ce niveau.

Il est connu, depuis quelques années et notamment dans les travaux publiés par Fairbrother ⁽⁵⁾, que le paracétamol placé en milieu humide, et « *a fortiori* » lorsqu'il se trouve en solution aqueuse, est susceptible de subir une hydrolyse pour former un produit de dégradation primaire : « ***para-aminophénol*** » (abrégé PAP), lui-même susceptible de donner des produits de dégradation secondaires : « ***quinone-imine*** ». La vitesse de dégradation du paracétamol croît avec l'augmentation de la température et à la lumière. C'est pour cela que la conservation du paracétamol se fait à l'abri de l'air, afin d'éviter tout contact avec l'humidité de l'air ambiant.

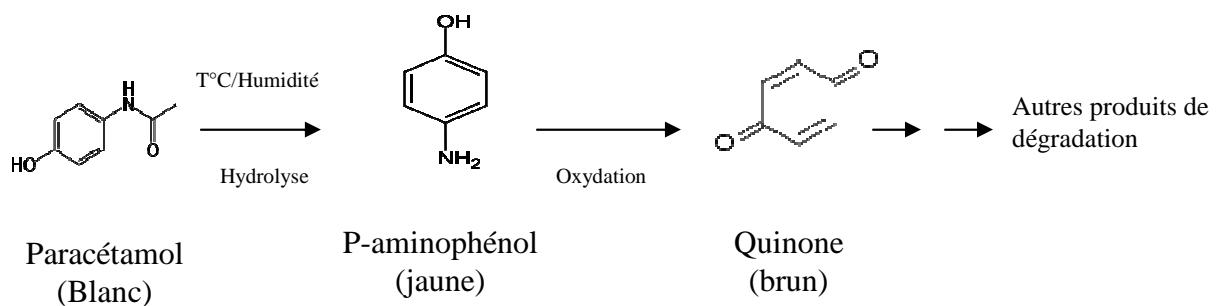
Par ailleurs, l'hydrolyse du paracétamol en solution aqueuse est catalysée à la fois par les acides et les bases, l'instabilité du paracétamol en solution aqueuse en fonction du pH de la solution a été largement décrite. Ainsi, selon l'article de Koshy et Lach ⁽⁶⁾, la solution aqueuse de paracétamol présente une instabilité qui se traduit par, en premier lieu, une hydrolyse. Cette dégradation est minimale à un pH voisin de 6, la demi-vie de dégradation atteignant dans ce cas 21,8 années à 25°C.

L'application de la loi d'Arrhenius à l'aide de la constante de réaction spécifique déterminée par ces auteurs conduit à calculer un temps d'environ 19 mois pour observer une baisse de 5 % du titre en paracétamol d'une solution aqueuse conservée à 25°C au pH optimum (pH=6). Indépendamment de l'hydrolyse, la

molécule de paracétamol subit un autre type de décomposition par formation d'une quinone-imine susceptible de se polymériser en donnant naissance à des polymères azotés⁽⁷⁾.

Ces polymères et notamment ceux de N-acétyl para-benzoquinone-imine ont été décrits en outre comme étant les métabolites toxiques du paracétamol, notamment cytotoxique et hémolytique. La décomposition de ce métabolite en milieu aqueux est encore plus complexe et donne naissance à de la para-benzoquinone et à de l'hydroquinone⁽⁸⁾.

Des tests de dégradation forcée (suivi de la dégradation du paracétamol sous forme de comprimés placés à 40°C et à 75% en humidité relative pendant 12 semaines) effectués par le laboratoire Rhône-Poulenc[®], ont permis de faire l'hypothèse suivante concernant la dégradation du paracétamol en comprimés⁽⁹⁾ :



1.3. Caractères organoleptiques :

Le paracétamol se présente sous forme d'une poudre cristalline blanche, inodore, de saveur amère⁽³⁾.

2. Pharmacocinétique du paracétamol

De nombreux travaux concernant la pharmacocinétique du paracétamol ont été publiés depuis une cinquantaine d'années. Nous avons fait une synthèse des données les plus pertinentes.

2.1. L'absorption

- **Voie orale**

Le paracétamol, comme il a été évoqué précédemment, se présente, quand il est administré par voie orale, sous forme ionisée au niveau de l'estomac et de l'intestin grêle. Ainsi, le paracétamol est rapidement et presque totalement résorbé au niveau de l'intestin grêle^{(10), (26)} par transport passif⁽¹¹⁾. Le pic plasmatique est obtenu en 15 minutes à 2 heures selon les formulations^{(12), (13), (1)}. Il existe un effet de premier passage hépatique⁽¹⁴⁾ peu marqué et sa biodisponibilité absolue par voie orale est voisine de 80 %. Un retard de vidange gastrique peut retarder sa résorption^{(15), (16)}. À ce propos, il a été démontré en 1972⁽¹⁷⁾, que la prise de nourriture, ainsi que d'autres facteurs, tels que le sommeil, la position allongée⁽¹⁸⁾ lors de l'administration peuvent ralentir sa cinétique d'absorption. L'âge ne semble pas plus influer sur sa vitesse d'absorption^{(19), (20)}.

La forme soluble (solution, comprimés effervescents) est absorbée plus rapidement que la forme solides.

- **Voie rectale**

Par voie rectale, le paracétamol est résorbé et sa biodisponibilité n'est que de 10 à 20 % inférieure à celle de la voie orale. Cette résorption est progressive et la courbe des concentrations en fonction du temps est voisine de celle observée avec un comprimé de paracétamol à libération prolongée⁽²¹⁾.

L'absorption par voie rectale présente l'inconvénient d'être irrégulière, variable d'un enfant à l'autre, d'une prise à l'autre chez un même enfant, et selon la taille et la nature des excipients des suppositoires. Les concentrations plasmatiques maximales

sont atteintes plus de 2 heures après la prise et sont moins élevées que lors d'une prise orale.

N.B : *La demi-vie d'absorption des solutions orales et des suppositoires est plus longue chez le nourrisson et rejoint les valeurs de l'adulte après 6-8 mois.*

- **Voie intra-veineuse**

Le paracétamol peut s'administrer en perfusion intraveineuse de 15 minutes soit sous forme d'une pro-droge : le propacétamol, soit sous forme de paracétamol. Le propacétamol, sous l'effet d'estérases plasmatiques, libère du paracétamol à raison de 500 mg de paracétamol pour 1 g de propacétamol. Les concentrations maximales de paracétamol sont environ 2 fois supérieures à celles obtenues après la prise de la même dose sous forme de comprimés.

Au-delà de la première heure, les formes orale et intraveineuse fournissent des concentrations plasmatiques identiques, et leurs demi-vies d'élimination sont similaires.

La concentration plasmatique maximale est atteinte dès la fin d'une perfusion sur 15 minutes.

2.2. La distribution tissulaire et plasmatique

Le paracétamol se répartit relativement uniformément dans les tissus⁽²²⁾ (excepté dans les graisses du fait de sa faible liposolubilité), et avec une concentration au niveau du foie et des reins (le volume apparent de distribution chez l'homme est de 0,9 l/kg). Il traverse la barrière fœto-placentaire grâce à sa faible masse moléculaire et passe dans le lait. Toutefois, les quantités excrétées dans le lait sont inférieures à 2 % de la quantité ingérée, c'est pour cela que le paracétamol n'est pas déconseillé au cours de l'allaitement.

Il est aussi retrouvé dans la salive ; une fraction de 1,21 par rapport aux taux plasmatiques a été déterminée par Cardot et coll. ⁽²³⁾, ce qui a pour intérêt de permettre une étude de la biodisponibilité plus facile, moins contraignante et sans traumatisme, en évitant les ponctions veineuses répétées.

Le paracétamol se lie peu aux protéines plasmatiques (< à 15 %). Selon Gozzard et coll. ⁽²⁴⁾, sa liaison aux protéines plasmatiques est négligeable aux doses thérapeutiques chez l'homme ; toutefois, ce pourcentage s'élève à 15-20% lors d'un surdosage.

Il diffuse rapidement à travers la barrière hémato-encéphalique et ses concentrations dans le liquide céphalo-rachidien sont proches des concentrations plasmatiques ⁽²⁵⁾.

2.3. La biotransformation

Le paracétamol est activement métabolisé au niveau du foie sous l'influence du système enzymatique microsomial ⁽¹²⁾. Les deux voies hépatiques majeures du catabolisme du paracétamol sont (Figure 2) :

- la glycuro-conjugaison qui représente de 50% à deux tiers du métabolisme du paracétamol ⁽²⁷⁾.
- la sulfo-conjugaison (sulfatation) qui représente 20-40% du métabolisme du paracétamol ⁽²⁷⁾, est la voie prédominante chez le nouveau-né et le jeune enfant ⁽²⁸⁾.

Ces deux voies conduisent à des métabolites inactifs, non toxiques qui sont éliminés par voie urinaire en 24 heures, ces derniers possèdent une demi-vie plasmatique de 4 à 5 heures et de 8 à 10 heures.

Une autre forme mineure (<5%), catalysée par le cytochrome P-450, conduit à la formation d'un métabolite instable réactif, le N-acétyl paraquinone imine (NAPQI) qui est rapidement detoxifié ⁽²⁹⁾ par le glutathion réduit et éliminé dans les urines après conjugaison à la cystéine et à l'acide mercapturique, lors de l'utilisation à des

doses thérapeutiques^{(30),(31)}. En cas de surdosage massif cette réaction devient importante et induit une déplétion en glutathion à l'origine d'un stress oxydatif pouvant entraîner une nécrose centrolobulaire hépatique. La toxicité hépatique impliquerait également une production de peroxynitrites à l'origine d'un stress nitrosant⁽³²⁾.

Les conséquences de l'alcoolisme chronique sur le métabolisme et la toxicité hépatique du paracétamol restent controversées. D'autant plus que l'augmentation de la toxicité hépatique du paracétamol chez l'alcoolique chronique n'est pas établie⁽³³⁾.

Le risque d'hépato-toxicité est considérable si une simple dose excède 150 mg/kg par voie orale. L'administration aussi précoce que possible de l'antidote N-acétylcystéine par voie orale ou de préférence par voie IV est efficace⁽³⁴⁾.

La production de NAPQI est due principalement à trois isoenzymes du cytochrome P450: CYP2E1 et CYP1A2 et le CYP2D6. Le taux de production de NAPQI dépend fortement du polymorphisme génétique du gène CYP2D6. Ainsi, les individus peuvent être classés comme «rapide», «ultra-rapide », et « pauvres » métaboliseurs (producteurs de NAPQI), en fonction de leur niveau d'expression du gène CYP2D6⁽³⁵⁾.

Utilisé aux doses thérapeutiques, le paracétamol est un antalgique sûre. Même les nouveaux -nés sont capables de le métaboliser.

Le métabolisme du paracétamol dépend de l'âge et du sexe du sujet. Rawlins⁽²²⁾ et Cléments, en 1983⁽³⁶⁾, ont démontré que les doses n'ont pas d'influence sur la cinétique quelle que soit la voie d'administration. Toutefois, ils signalent la saturation de la formation du sulfoconjugué du fait de la déplétion en acide sulfurique au niveau de la sécrétion tubulaire rénale.

Nous relèverons aussi que deux familles de produits interfèrent dans le métabolisme du paracétamol : les inducteurs et les inhibiteurs enzymatiques⁽¹⁶⁾. Une troisième catégorie interfère par un phénomène de compétitions aux conjugaisons ; Il s'agit

entre autre de l'Oxazépam pour la glycuroconjugaison, de l'acide ascorbique à forte dose pour la sulfoconjugaison⁽³⁷⁾.

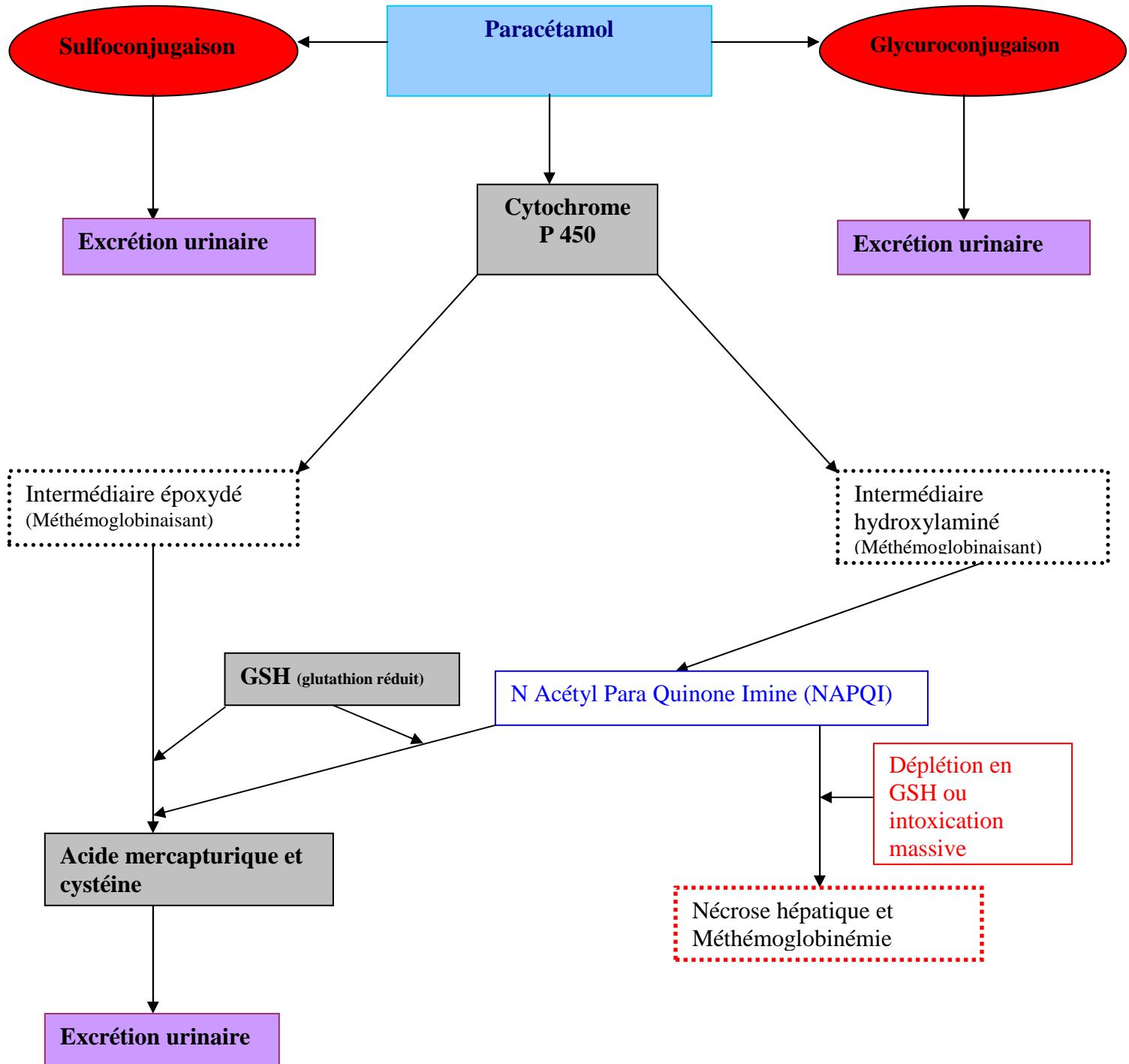


Figure 2 : Biotransformation du paracétamol dans le foie chez les carnivores domestiques^{(30), (31)}

2.4. L'élimination

L'élimination du paracétamol est essentiellement urinaire : 90 % de la dose ingérée est éliminée par le rein en 24 heures, principalement sous forme glycuroconjuguée et sulfoconjuguée et moins de 5 % est éliminé sous forme de paracétamol inchangé. La demi-vie d'élimination est d'environ 2 heures.

La demi-vie d'élimination du paracétamol administré par voie rectale est près de 2 fois supérieure à celle obtenue par une prise orale⁽³⁸⁾.

Les demi-vies d'élimination plasmatiques sont identiques pour les voies orale et intraveineuse.

En cas d'insuffisance rénale, la demi-vie des deux métabolites conjugués est augmentée tandis que la demi-vie plasmatique du paracétamol reste inchangée⁽³⁹⁾.

Nous pouvons rappeler que l'excrétion du paracétamol est essentiellement urinaire. Selon Prescott⁽³⁹⁾, la clairance rénale moyenne chez des sujets sains recevant 20 mg/kg de paracétamol est de 13 ml/min. Il confirme par ailleurs que cette valeur augmente avec la vitesse du flux urinaire mais qu'elle ne dépend pas de son pH. Corroboration les études effectuées sur les animaux, Moris et coll.⁽⁴⁰⁾ définissent le mécanisme d'élimination du paracétamol comme une filtration glomérulaire avec une importante réabsorption tubulaire passive. Ils remarquent aussi que le sulfoconjugué active la sécrétion tubulaire rénale, ce qui est compatible avec les résultats des recherches sur l'action du glycuroconjugué chez l'animal.

En fait, la clairance moyenne des conjugués diminue avec l'augmentation de leur concentration plasmatique. Dans l'ordre, elle est de 166 et 130 ml/min pour les sulfoconjugués et glycuroconjugués. D'après Prescott⁽³⁹⁾, c'est une élimination rapide totalement indépendante du pH et de la vitesse du flux urinaire.

En cas d'insuffisance rénale sévère, avec une clairance de la créatinine inférieure à 10 ml/min, l'élimination du paracétamol et de ses métabolites est retardée⁽⁴¹⁾.

Cummings et coll. ⁽⁴²⁾, en 1967, définissent la vitesse d'élimination du paracétamol comme une réaction de premier ordre dont les constantes sont plus faibles que celles de ses métabolites. Cette vitesse atteint un maximum trois heures après l'administration du paracétamol mais pour le glycuroconjugué, ce maximum survient jusqu'à six heures après. Ensuite la courbe devient linéaire.

3. Mécanisme d'action du paracétamol

Cela fait plus d'un siècle que l'homme utilise le paracétamol en thérapeutique, pour ses propriétés antipyrétiques et analgésiques. Cela dit, son mécanisme d'action reste néanmoins un sujet controversé et au stade hypothétique ^{(43), (44)}. Cependant, de récentes études convergent sur le fait que le paracétamol a principalement une activité au niveau du système nerveux central ⁽⁴⁵⁾.

3.1. Mécanisme de la douleur

La douleur est un phénomène chimique dû à la stimulation des nocicepteurs centraux et périphériques. La douleur peut être soit immédiate, liée à l'excitation directe des récepteurs périphériques, soit tardive et diffuse résultant de la sécrétion de substances chimiques algogénées déclenchée par l'ischémie ou l'inflammation des tissus avec libération de bradykinine, d'histamine et de prostaglandine. L'influx nerveux ainsi créé par ces réactions, est véhiculé à la corne postérieure de la moelle épinière par des fibres sensitives spécifiques de petit calibre, puis par les voies ascendantes jusqu'au cortex cérébral. Il existe, à côté du système de conduction ascendante, des voies inhibitrices descendantes, issues du cortex et du tronc cérébral, qui se projettent sur la moelle où la douleur est filtrée depuis son entrée, et qui sont inhibées par l'action des prostaglandines.

3.2. Mécanisme de la fièvre

La fièvre est déclenchée par de nombreux facteurs externes qui vont agir sur l'organisme en entraînant la formation d'Interleukine 1 produite par les cellules macrophagiennes. Cette substance endogène agit essentiellement au niveau des

centres thermorégulateurs, situés dans la zone pré-optique de l'hypothalamus antérieur, soit directement, soit par l'intermédiaire d'effecteurs tissulaires (Prostaglandine E2, neuromédiateur) et cellulaires (Adénosine Monophosphate Cyclique) responsables d'une élévation de la température et des phénomènes immunitaires dans l'organisme.

3.3. Action antipyrrétique-analgésique

Dans les paragraphes qui suivent, nous allons présenter les mécanismes d'action du paracétamol les plus étudiés et les plus probables :

- Certains auteurs pensent que le paracétamol possède une activité inhibitrice des Cyclo-oxygénases (COX) hypothalamiques⁽⁴⁶⁾.

La famille des enzymes COX sont responsables du métabolisme de l'acide arachidonique en prostaglandine, une molécule instable qui est, à son tour, convertie en de nombreux autres composés inflammatoires qui sont impliqués dans les processus de la douleur et de la fièvre.

Des études récentes, ont suggéré que le paracétamol inhiberait, au même titre que les pyrazolés⁽⁴⁹⁾, une isoforme particulière des COX, appelée COX-3⁽⁴⁷⁾ (par réduction de la forme oxydée^{(50), (51)}), réduisant ainsi le niveau de la *prostaglandine E2* dans le système nerveux central. La COX-3 serait une variante de la COX-1⁽⁴⁸⁾, présente au niveau central. Ainsi, le paracétamol n'aurait pas d'action directe sur la COX-1 et la COX-2⁽⁵²⁾, les deux formes de COX sur lesquelles agissent les AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiens) comme l'aspirine.

Il faut aussi noter que l'expression de la COX-3 chez l'homme demeurerait incertaine^{(53), (54)}.

Roberts et Marrow, quant à eux, pensent que le paracétamol bloque la cyclo-oxygénase COX-1 et Cox-2 (comme l'aspirine), mais seulement dans un environnement inflammatoire particulier où la concentration des peroxydes n'est pas élevée. En effet, une augmentation de la concentration des peroxydes augmenterait l'oxydation du paracétamol, ce qui inhiberait son action⁽⁴⁸⁾.

Selon une étude publiée en 2006, le paracétamol agirait effectivement en inhibant au niveau central la production des prostaglandines, mais par le biais d'une action inhibitrice sur l'enzyme prostaglandine H₂ synthase (PGHS), qui comporte notamment un site actif « cyclo-oxygénase » (ou COX), cible de la majorité des AINS, et un site « peroxydase » (ou POX), sur lequel agirait le paracétamol⁽²⁷⁾.

N.B 1 : *Le paracétamol n'inhibe pas la synthèse de la prostaglandine dans les tissus et ne présente pas les effets secondaires rencontrés avec les anti-inflammatoires stéroïdiens ou non stéroïdiens quand il est utilisé aux doses habituelles.*

N.B 2 : *Le paracétamol, faible inhibiteur des COX-1 et COX-2, est préféré aux autres antalgiques non opioïdes pour les patients atteints de troubles sanguins* ⁽⁵⁵⁾.

- D'autres auteurs, parlent des propriétés activatrices des voies descendantes sérotoninergiques⁽⁵⁶⁾.

Un mécanisme d'action sérotoninergique central est suspecté depuis quelques temps⁽⁵⁷⁾ pour expliquer l'activité analgésique et antipyrrétique du paracétamol. Ce dernier potentialiserait l'effet des neurones sérotoninergiques descendants de la moelle épinière exerçant un contrôle inhibiteur sur les voies de la douleur⁽⁵⁸⁾.

- D'autres travaux semblent parler de l'action du paracétamol sur les récepteurs cannabinoïdes CB-1⁽⁵⁹⁾.

Le paracétamol module aussi le système des cannabinoïdes endogènes⁽⁶⁰⁾. Le paracétamol est métabolisé en AM404 (combinaison entre le paracétamol et l'acide arachidonique), un composé qui a pour action principale; l'inhibition de l'absorption des cannabinoïdes endogènes (Anandamide, Vanilloid) par les neurones. Or, l'absorption de l'Anandamide aurait pour conséquence l'activation du récepteur de la douleur principale du corps. Il a été aussi démontré qu'après le blocage des récepteurs cannabinoïdes (rendant ainsi toute action de la recapture des cannabinoïdes impossible), le paracétamol perd son effet analgésique, ce qui suggère que son action analgésique est médiée par le système des cannabinoïdes endogènes⁽⁶¹⁾.

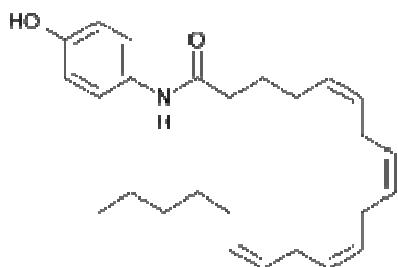


Figure 3: AM404-un métabolite du paracétamol

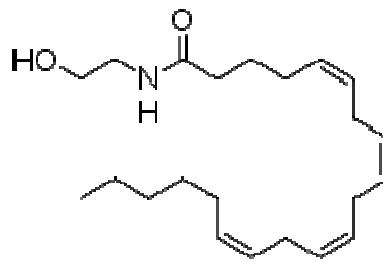


Figure 4: L'anandamide- un cannabinoïde

En outre, l'AM404 inhibe les canaux sodiques, tout comme la lidocaïne et la procaïne⁽⁶²⁾. Ainsi, certains auteurs pensent que l'action du paracétamol se rapproche des mécanismes d'action de ces composés.

Le paracétamol pourrait agir aussi, en limitant la libération de Béta-endorphines⁽⁶³⁾.

Le paracétamol possède par ailleurs des propriétés antioxydantes qui pourraient être à l'origine d'une réduction de l'oxydation des LDL (lipoprotéines de basse densité), d'une diminution du risque cardio-vasculaire et d'un effet préventif sur la cataracte. Les conditions de l'exploitation clinique de ces propriétés restent toutefois à établir⁽⁶⁴⁾. Une activité cardioprotectrice, a été également mise en évidence dans des modèles d'ischémie-reperfusion myocardique⁽⁶⁵⁾.

Toutes ces hypothèses ont été démontrées et vérifiées dans des conditions particulières, et peuvent correspondre au véritable mécanisme d'action du paracétamol. Toutefois, le mystère de ce mécanisme reste encore à élucider en termes de site initiateur, de séquence neuronale impliquée et d'extrapolation de son effet antipyrrétique.

4. Indications

Le paracétamol est le substitut par excellence de l'aspirine, en particulier chez les patients où les effets secondaires gastriques de l'aspirine peuvent être une préoccupation. En thérapeutique, le paracétamol est utilisé principalement pour ses deux propriétés, antalgique et antipyrétique, comparables à celles de l'aspirine. , Mais, contrairement à ce dernier le paracétamol est dénué d'activité anti-

inflammatoire. Ainsi, les hyperthermies et les douleurs sont les deux principales indications de ce produit :

4.1. Traitement symptomatique de la douleur aiguë ou chronique

Le paracétamol est utilisé principalement dans le traitement symptomatique des douleurs d'intensité légère à modérée⁽⁶⁶⁾. Il s'agit d'un antalgique de palier 1 selon la classification de l'OMS⁽⁶⁷⁾ (Annexe 1).

Il peut être utilisé en association avec d'autres antalgiques de palier 2 (codéine, dextropropoxyphène, tramadol) pour les douleurs modérées à intenses. Pour les douleurs intenses ou rebelles, le paracétamol est utilisé en association avec un médicament analgésique de palier 3.

Le paracétamol est très efficace dans les douleurs postopératoires, dentaires, d'origine gynécologiques, de céphalées y compris pendant la grossesse⁽⁶⁸⁾.

4.2. Traitement symptomatique de la fièvre

La fièvre est un symptôme observé au cours de multiples pathologies infectieuses et inflammatoires. Elle peut occasionner des convulsions hyperthermiques, que le paracétamol préviendrait fort bien, en particulier chez les enfants⁽⁶⁶⁾. Ainsi, le paracétamol est utilisé en traitement symptomatique et constitue l'antipyrétique de première intention.

N.B : *l'Organisation Mondiale de la Santé recommande l'utilisation du paracétamol chez les enfants ayant une fièvre supérieure à 38,5°C⁽⁵⁸⁾.*

Il faut noter que l'efficacité du paracétamol n'est réelle qu'en complément du traitement étiologique de l'hyperthermie.

5. Contre indication

Les contre-indications absolues sont⁽⁶⁹⁾ :

- l'hypersensibilité au paracétamol, qui est rare,
- l'insuffisance hépatocellulaire sévère, qui entraîne une augmentation de la demi-vie d'élimination du paracétamol
- la porphyrie.

En cas d'insuffisance rénale avec une clairance de la créatinine inférieure à 10 ml/mn, qui entraîne une accumulation de conjugués de paracétamol au niveau du rein. Les prises de paracétamol nécessitent alors un espacement d'au moins 8 heures^{(70), (71)}.

6. Tolérance et posologie

Selon la pharmacopée de différents pays, on trouve des chiffres contradictoires pour ses posologies, plus particulièrement pour les posologies infantiles. En France, la recommandation est de⁽⁷²⁾ :

- **Adultes** : 500 mg à 1 g par prise, à renouveler en respectant un intervalle minimum de 4 heures. Il n'est généralement pas nécessaire de dépasser la dose de 3 g par jour chez l'adulte. Toutefois, exceptionnellement, la dose maximale peut atteindre 4 g par jour (Tableau 1).
- **Enfant** : La posologie infantile, généralement admise, est de 50 mg/kg/jour ; en France, il est recommandé une posologie de 20 à 30 mg/kg/jour ; la Pharmacopée britannique autorise une dose de 65 mg/kg/jour. La pharmacopée des Etats Unis et de la République Fédérale d'Allemagne préconisent aussi des posologies plus importantes que celles figurant dans la pharmacopée française X^{ème} édition.

Tableau 1 : Posologies moyennes du paracétamol en fonction de l'âge^{(4), (70)}.

Age	Posologie par prise	Dose maximale par jour
Enfants		
3 mois-1ans	60 mg	240 mg
1an-6 ans	60 à 120 mg	240 à 480 mg
6 ans – 12 ans	240 mg	960 mg
Adultes	500 à 1000 mg	3000 à 4000 mg

Les critères d'efficacité thérapeutique sont l'abaissement de la fièvre et/ou sa régression, voire la disparition de la douleur⁽⁷⁰⁾. Néanmoins, il est important de souligner que certaines situations nécessitent une surveillance particulière :

- **Insuffisance rénale sévère** : on rappelle qu'il est recommandé d'espacer les prises unitaires de 8 heures au minimum et de ne pas dépasser une posologie quotidienne de 3 g, et ce en raison de l'élimination rénale prédominante.
- **Consommation excessive chronique d'alcool** : une augmentation du risque d'atteinte hépatique sévère a été rapportée en cas d'alcoolisme chronique et de consommation de paracétamol à dose thérapeutique. Néanmoins, cette notion est actuellement très controversée⁽⁷³⁾.

7. Toxicité et effets indésirables du paracétamol

7.1. Toxicité

Le paracétamol a été largement étudié et sa sécurité d'emploi aux doses habituelles recommandées est connue. Ainsi, après une utilisation large en clinique du paracétamol pendant de longues années, il semble qu'il soit dépourvu d'effets cancérogène, mutagène ou tératogène. Cependant, certains auteurs continuent à étudier ce principe actif afin de prouver son innocuité absolue.

7.1.1. La toxicité Hépatique

Dans les conditions normales d'utilisation le paracétamol est un produit bien toléré⁽⁷⁴⁾. Comme il a été déjà évoqué précédemment, son métabolite toxique le N-acétyl p-benzoquinone imine (qui peut provoquer une nécrose des hépatocytes), est neutralisé par le glutathion hépatique, un antioxydant naturel. Aux doses thérapeutiques recommandées, la NAPQI est éliminée par l'organisme et ne représente pas un danger.

En revanche, l'hépatotoxicité du paracétamol apparaît lorsqu'il y a un surdosage, provoquant une saturation du processus de détoxicification hépatique, notamment une

déplétion des réserves en glutathion. Le foie subit alors des dommages plus ou moins importants selon la quantité de paracétamol absorbée.

L'intoxication au paracétamol peut entraîner une hépatite avec de graves lésions du foie (cytolyse hépatique), qui peut conduire à une nécrose dans les cas les plus graves. Les dommages causés au foie sont irréversibles. Ainsi, la NAPQI entraîne la création d'adduits fixés aux protéines hépatiques, la dégradation des lipides membranaires et la perturbation de l'homéostasie calcique, provoquant une nécrose et une hépatite cytolytique⁽⁷⁵⁾.

Les personnes ayant pris une dose importante de paracétamol passe par plusieurs phases symptomatologiques. Durant la première phase qui dure environ 24 heures, aucun symptôme n'apparaît. Ensuite des nausées, des vomissements et des douleurs abdominales surviennent puis s'estompent en 48 heures. Les signes cliniques de la défaillance hépatique se manifestent seulement au bout de trois à quatre jours : ictere, foie palpable et une élévation des transaminases qui témoigne d'une hépatite cytolytique qui peut évoluer vers une insuffisance hépatique puis le coma. La mort survient dans 2 à 10 % des cas⁽⁷⁶⁾.

Chez les patients souffrant d'insuffisance hépatique chronique, le paracétamol, pris à doses thérapeutiques, a un temps de demi-vie augmenté mais ne semblerait pas entraîner davantage de dommages hépatiques. Une dose de 1 g trois fois par jour est toutefois recommandée.

Un risque accru de toxicité est provoqué par un manque de glutathion qui peut être dû à la malnutrition des patients, à une anorexie ou éventuellement à des maladies du foie. Le jeûne est également un facteur de risque.

La N-acétylcystéine est l'antidote. Elle agit en réparant les dommages oxydatifs entraînés par le métabolite, soit directement, soit en générant du glutathion au niveau mitochondrial et cytoplasmique. Une transplantation du foie est souvent nécessaire si les dommages sont sévères⁽²⁷⁾.

Malgré l'existence d'un antidote bien connue, un article récent évoque un nombre annuel de 500 décès aux USA dus à l'hépatotoxicité du paracétamol^{(77), (75)}, Il a même été établi par les centres antipoison aux USA que les intoxications liées aux

paracétamol sont plus fréquentes que celles dues à toute autre substance pharmacologique⁽⁷⁵⁾. Il faut noter que des recommandations pour la prise en charge des intoxications par le paracétamol ont été publiées en Australie en 2008⁽⁷⁷⁾, ce qui montre que ce problème de l'hépatotoxicité du paracétamol reste bien actuel et mondial.

7.1.2. La toxicité rénale

De nombreuses études épidémiologiques, expérimentales et cliniques, permettent de témoigner que le paracétamol, dans les conditions normales d'utilisation, ne présente pas de nephrotoxicité spécifique même en usage chronique⁽⁷⁸⁾. Il a été cependant rapporté que le paracétamol, à dose supra-thérapeutiques, pouvait entraîner de sévères nécroses rénales chez l'homme et chez l'animal⁽²⁷⁾. Cette nephrotoxicité pourrait impliquer le NAPQI qui présenterait alors la même action毒 que celle décrite précédemment au niveau hépatique. Un autre mécanisme pourrait faire intervenir le 4-aminophénol issu de la désacétylation du paracétamol. Cette biotransformation a été démontrée au niveau rénal, et le 4-aminophénol est connu depuis longtemps comme un puissant composé néphrologique. Le paracétamol et le 4-aminophénol induisent les lésions rénales identiques et conduisent à une réduction du taux rénal de glutathion⁽⁷⁵⁾.

7.1.3. Le pouvoir cancérogène

Chez la souris, l'administration de doses considérables pendant 18 mois a montré l'apparition de tumeurs hépatiques⁽⁷⁹⁾. Chez le rat, de telles doses ont entraîné la formation de nodules néoplasiques hépatiques et des carcinomes de la vessie⁽⁸⁰⁾, alors que chez le rat F 344, il n'existe pas d'effet cancérogène⁽⁸¹⁾.

Une étude rétrospective chez l'homme réalisée chez 143 574 malades ambulants ayant consommé 53 spécialités différentes de paracétamol pendant 4 ans, n'a pas révélé de risque cancérogène⁽⁸²⁾.

7.1.4. Le pouvoir tératogène

Les études effectuées chez l'animal n'ont pas mis en évidence d'effet tératogène ou fœtotoxique du paracétamol. Ainsi, des travaux réalisés par le Laboratoire BOTTU sur des femelles de rat gestantes ayant reçu du paracétamol par voie orale, du 14^{eme} jour de la gestation au 21^{eme} jour de la lactation, ne montre aucun effet tératogène

sur leurs petits. En plus, il est sans influence sur leur fertilité avant et pendant la période d'accouplement, de gestation et de lactation⁽⁸³⁾.

En effet, le paracétamol passe dans le lait. Toutefois, les quantités excrétées dans le lait sont inférieures à 2 % de la quantité ingérée et le paracétamol n'est pas déconseillé au cours de l'allaitement. Lechat et Kisch ont montré que le foie fœtal métabolise le paracétamol 7 à 10 fois plus lentement que chez l'adulte. La toxicité se révèle alors plus faible⁽⁸⁴⁾.

Aucune étude épidémiologique chez l'homme ne reporte l'augmentation du risque d'apparition de malformation fœtale ou de fœtotoxicité. De ce fait, le paracétamol, dans ses conditions usuelles d'utilisation, peut être prescrit pendant toute la durée de la grossesse. De plus, aucune malformation ni anomalie n'ont été observées chez les enfants de 42 femmes ayant présenté une intoxication au paracétamol au cours de leur grossesse⁽⁸⁵⁾. Aussi, le paracétamol n'augmente pas la durée de gestation, ni les pertes sanguines au cours de l'accouchement que peut provoquer la prise à forte dose d'aspirine durant le troisième trimestre de la grossesse⁽⁸⁶⁾.

7.1.5. Le pouvoir mutagène

Chez les animaux, les résultats sont contradictoires. L'effet génotoxique peut s'exercer par le NAPQI qui peut se lier de façon covalente aux sites nucléophiles de l'ADN⁽⁸⁶⁾. Cela dit, cette liaison semble peu probable car le NAPQI est un électrophile relativement faible, qui réagirait de préférence avec les sites nucléophiles des protéines⁽⁸⁴⁾. Mais il faut souligner que le paracétamol peut se lier par covalence à l'ADN, ce qui augmenterait la synthèse de réparation et pourrait ainsi causer des dommages au code génétique⁽⁸⁷⁾. Toutefois, aucun effet mutagène n'a été observé chez l'homme.

7.1.6. La toxicité oculaire

L'utilisation du paracétamol à des doses fortes pendant une semaine, chez les animaux possédant un système de cytochrome P 450 inducible (souris C 57 BL 6) ou ayant reçu un pré-traitement avec des inducteurs de ce système (lapin), a provoqué des cataractes chez les premiers et des opacités lenticulaires chez les seconds⁽⁸⁸⁾. Cependant, aucun trouble oculaire n'a été signalé chez l'homme.

7.1.7. La pharmacodépendance

Aucune pharmacodépendance n'a été décrite à ce jour.

7.2. Effets indésirables

7.2.1. Allergiques

L'allergie au paracétamol se manifeste par de simples rashes cutanés avec érythèmes et urticaire, ou par un choc anaphylactique reproductible par test de provocation par voie orale. Ainsi, une symptomatologie complexe comportant prurit, urticaire, gène respiratoire, hypotension, associée à des troubles digestifs et l'installation d'un œdème de Quincke apparaissent après ingestion de paracétamol pur. Cette réaction dose dépendante provoque une élévation du taux d'histamine dans le sang. Il s'agit donc d'un mécanisme allergique par histamino-libération nécessitant un traitement par corticoïdes et antihistaminiques⁽⁸⁹⁾.

Il a déjà été reporté dans la littérature quelques rares cas d'éruption cutanée, de type urticaire, qui peuvent apparaître précocement. Cette éruption reste essentiellement localisée au niveau du cou ; sans gravité, et cède dès l'interruption du traitement. Néanmoins, cette réaction allergique a été rarement imputée avec certitude au paracétamol qui était utilisé en association avec d'autres antalgiques ou sédatifs⁽⁴²⁾.

Dussarat et coll. ont signalé un cas de purpura vasculaire au paracétamol, administré par doses itératives, chez un patient prédisposé (antécédents de thrombopénie immuno-allergique). Une amélioration de l'état du patient a été observée dès l'interruption du traitement⁽⁹⁰⁾.

7.2.2. Digestifs

Contrairement à l'aspirine, le paracétamol n'entraîne ni érythème, ni érosion, ni ulcération de la muqueuse gastrique, ni présence occulte de sang dans les selles. Ceci le rend particulièrement indiqué lors d'intolérance ou de contre-indications aux salicylés et aux anti-inflammatoires non stéroïdiens⁽⁸⁴⁾.

7.2.3. Sanguins

Aux doses thérapeutiques, le paracétamol ne semble pas altérer les lignées du sang ; toutefois, il a été signalé trois cas d'agranulocytose réversibles en huit jours

⁽⁴²⁾, Le paracétamol aurait un mécanisme toxique qui bloquerait la lignée granulocytaire au niveau médullaire à un stade variable. Le délai d'apparition de l'agranulocytose est variable et semble être dose-dépendent.

Vu le faible nombre de cas d'agranulocytose reporté depuis l'utilisation du paracétamol, ce risque peut être considéré comme étant minime à dose thérapeutique.

Il n'a aucun effet sur la fonction plaquettaire, ni sur le temps de saignement. Son association aux anticoagulants ne modifie pas les tests de la coagulation, contrairement à l'aspirine et aux anti-inflammatoires non stéroïdiens qui augmentent l'action hypo-prothrombinémiant ; on explique ce fait par la faible liaison du paracétamol aux protéines plasmatiques⁽⁸⁶⁾.

Cependant, le paracétamol ; à dose thérapeutique ; a été incriminé dans quelques cas de thrombopénie. Sa toxicité serait d'ordre immunologique⁽⁹¹⁾. Le faible effet du paracétamol sur les AVK a été démontré par Lechat et coll. en 1978⁽⁴⁾.

L'utilisation du paracétamol est justifiée par la rareté des effets indésirables, qui surviennent principalement sur des patients prédisposés ou fragilisés. Ainsi, il est l'antalgique et l'antipyrétique le mieux toléré par l'organisme. Voici quelques règles de prescription afin d'éviter certains accidents :

- Prescrire une posologie minimale efficace
- Echelonner les prises 3 à 6 fois par jour
- Eviter toute prescription prolongée (plus de 10 jours pour l'effet antalgique, plus de 3 jours pour l'effet antipyrétique)
- N'utiliser le paracétamol qu'en complément du traitement étiologique de l'affection responsable de la douleur et/ou de l'hyperthermie
- Rechercher systématiquement les contre-indications du paracétamol liées au terrain présenté par le malade
- Vérifier régulièrement l'absence d'effets secondaires.

8. Identification, méthodes de dosage et contrôles des formes pharmaceutiques contenant du paracétamol

8.1. Identification

Plusieurs méthodes d'identification du paracétamol sont recensées et recommandées par la « Pharmacopée Européenne », dans le but de démontrer la présence réelle du paracétamol dans les différentes formes pharmaceutiques fabriquées⁽²⁾ :

8.1.1. Point de fusion

Le point de fusion du paracétamol est de 168 °C à 172 °C. La procédure expliquant la conduite à tenir durant cette analyse est expliquée dans le chapitre 2.2.14 de la pharmacopée européenne (Annexe 2).

8.1.2. Spectrophotométrie dans l'ultraviolet et le visible

L'indentification du paracétamol se fait selon les consignes suivantes :

Dissoudre 0,1 g de paracétamol dans du méthanol et compléter à 100,0 ml avec le même solvant. Ensuite, prélever 1,0 ml de solution et ajouter 0,5 ml d'une solution d'acide chlorhydrique à 10,3 g/l et compléter à 100,0 ml avec du méthanol. Enfin, protéger la solution d'une lumière vive et mesurer immédiatement l'absorbance par spectrophotométrie au maximum à 249 nm (Annexe 3). L'absorbance spécifique du paracétamol à ce maximum est de 860 à 980.

8.1.3. Spectrophotométrie infrarouge

La spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge se fait selon les recommandations du chapitre 2.2.24 de la pharmacopée européenne (Annexe 4).

8.1.4. Colorimétrie

Selon la procédure suivante :

Chauffer à ébullition 0,1 g de paracétamol avec 1 ml d'acide chlorhydrique pendant 3 min. Ajouter 1 ml d'eau purifiée et refroidissez dans un bain de glace. Il ne se forme aucun précipité. Ajouter 0,05 ml d'une solution de dichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$. Il se développe une coloration violette qui ne vire pas au rouge en cas de présence de paracétamol.

8.1.5. Identification d'un groupement fonctionnel

Le paracétamol donne la réaction de l'acétyle, selon le chapitre 2.3.1 de la pharmacopée européenne (Annexe 5).

8.2. Contrôles et dosage des impuretés

8.2.1 Dosage des impuretés et des substances apparentées.

Il se fait par Chromatographie liquide Haute Performance (HPLC), en veillant à préparer les solutions immédiatement avant l'emploi à cause de l'instabilité du paracétamol en solution. Voici la procédure à suivre lors de la préparation des solutions :

Solution à examiner : Dissoudre 0,200 g de paracétamol dans 2,5 ml de méthanol contenant 4,6 g/l d'une solution d'hydroxyde de tétrabutylammonium à 400 g/l et compléter à 10,0 ml avec un mélange à volumes égaux d'une solution de phosphate disodique à 17,9 g/l et d'une solution de phosphate monosodique à 7,8 g/l.

Solution témoin (a) : Prélever 1,0 ml de solution à examiner et compléter la à 50,0 ml avec la phase mobile. Ensuite, prélever 5,0 ml de cette solution et compléter à 100,0 ml avec la phase mobile.

Solution témoin (b) : Prélever 1,0 ml de solution témoin (a) et la compléter à 10,0 ml avec la phase mobile.

Solution témoin apparaît : Dissoudre 5,0 mg de 4-aminophénol, 5 mg de paracétamol et 5,0 mg de chloroacétanilide dans du méthanol et compléter à 20,0 ml avec le même solvant. Enfin, prélevez 1,0 ml de solution et la compléter à 250,0 ml avec la phase mobile.

Solution témoin (d) : Dissoudre 20,0 mg de 4-nitrophénol dans du méthanol et compléter à 50,0 ml avec le même solvant. Ensuite, prélevez 1,0 ml de solution et compléter à 20,0 ml avec la phase mobile.

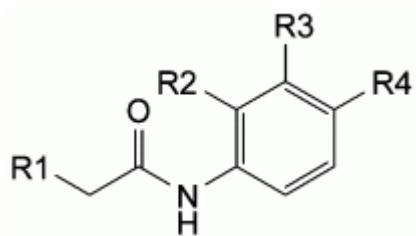
Phase mobile : Mélanger 375 volumes d'une solution de phosphate disodique à 17,9 g/l, 375 volumes d'une solution de phosphate monosodique à 7,8 g/l et 250 volumes de méthanol contenant 4,6 g/l d'une solution d'hydroxyde de tétrabutylammonium à 400 g/l.

Cette méthode de dosage nécessite l'utilisation d'une colonne de 0,25 m de longueur et 4,6 mm de diamètre, constituée d'une phase stationnaire en gel de silice octylsilylé pour chromatographie (5 µm). La mesure se fait à une température de 35 °C avec un débit de la phase mobile de 1,5 ml/min, et une détection au spectrophotomètre à 245 nm.

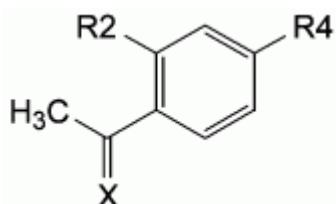
Limites (Figure 5) :

1. *impureté J*: au maximum 0,2 fois la surface du pic correspondant dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin apparaît (10 ppm),
2. *impureté K*: au maximum la surface du pic correspondant dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin apparaît (50 ppm),
3. *impureté F*: au maximum la moitié de la surface du pic correspondant dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (d) (0,05 pour cent),
4. *toute autre impureté*: au maximum la moitié de la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,05 pour cent),

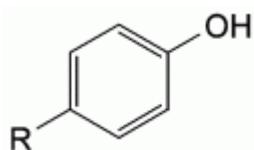
5. *total des autres impuretés*: au maximum la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,1 pour cent),
6. *limite d'exclusion* pour le calcul du total des autres impuretés : la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,01 pour cent).



- A. R1 = R3 = R4 = H, R2 = OH : *N*-(2-hydroxyphényl)acétamide,
- B. R1 = CH₃, R2 = R3 = H, R4 = OH : *N*-(4-hydroxyphényl)propanamide,
- C. R1 = R2 = H, R3 = Cl, R4 = OH : *N*-(3-chloro-4-hydroxyphényl)acétamide,
- D. R1 = R2 = R3 = R4 = H : *N*-phénylacétamide,
- H. R1 = R2 = R3 = H, R4 = O-CO-CH₃ : acétate de 4-(acétylamino)phényle,
- J. R1 = R2 = R3 = H, R4 = Cl : *N*-(4-chlorophényl)acétamide (chloroacétanilide),



- E. X = O, R2 = H, R4 = OH : 1-(4-hydroxyphényl)éthanone,
- G. X = N-OH, R2 = H, R4 = OH : 1-(4-hydroxyphényl)éthanone-oxime,
- I. X = O, R2 = OH, R4 = H : 1-(2-hydroxyphényl)éthanone,



- F. R = NO₂ : 4-nitrophénol,
- K. R = NH₂ : 4-aminophénol.

Figure 5 : Impuretés du paracétamol

8.2.2. Métaux lourds

Les métaux lourds sont tolérés dans les différentes formes pharmaceutiques jusqu'à un maximum de 20 ppm. Leur dosage s'effectue selon les recommandations suivantes :

Dissoudre 1,0 g de paracétamol dans un mélange de 15 volumes d'eau purifiée et de 85 volumes d'acétone, puis compléter à 20 ml avec le même mélange de solvants. 12 ml de la solution satisfont à l'essai limite B. Préparer le témoin avec une solution à 1 ppm de plomb (Pb) obtenue par dilution de la solution à 100 ppm de plomb (Pb) avec un mélange de 15 volumes d'eau purifiée et de 85 volumes d'acétone.

8.2.3. Perte à la dessiccation

Les formes pharmaceutiques contenant du paracétamol doivent avoir une humidité résiduelle inférieure ou égale à 0,5 %, cette humidité résiduelle est déterminée à l'étuve à ►105 °C ◀ sur 1,000 g de paracétamol.

8.2.4. Cendres sulfuriques

Elles ne sont pas tolérées au delà de 0,1 %, les cendres sulfuriques sont déterminées sur 1,0 g de paracétamol. La procédure est décrite au chapitre [2.4.14](#) de la pharmacopée européenne ⁽²⁾.

8.3. Dosage du paracétamol par titrage

Afin doser le paracétamol, il faut dissoudre 0,300 g de paracétamol dans un mélange de 10 ml d'eau purifiée et de 30 ml d'acide sulfurique dilué. Procéder ensuite à un chauffage à reflux pendant 1 h et, après refroidissement, compléter à 100,0 ml avec de l'eau purifiée. A 20,0 ml de solution, ajouter 40 ml d'eau purifiée, 40 g de glace, 15 ml d'acide chlorhydrique dilué et 0,1 ml de ferroïne.

Le résultat est donné par titrage par le sulfate de cérium 0,1 M jusqu'à coloration jaune-vert.

N.B : Avec 1 ml de sulfate de cérium 0,1 M correspond à 7,56 mg de paracétamol.

B- Partie expérimentale

1. La problématique

La problématique qui sera décrite dans ce paragraphe a été rencontrée dans des ateliers de production du paracétamol sous forme de sachet :

Depuis quelques années, il a été constaté l'apparition de façon sporadique, de quelques grains de couleur jaune à brunâtre dans la poudre contenue dans les sachets, normalement blanche. Ce phénomène se produit rarement à l'issue des étapes de fabrication, et plus souvent dans les sachets mis en tests de stabilité (essais de dégradation conduits à des températures et des humidités relatives différentes, afin de vérifier la bonne conservation des sachets).

Ainsi, l'objectif de ce travail est de trouver un moyen d'éviter l'apparition de cette coloration, d'en décrire le mécanisme de formation et de trouver la composition de ces grains colorés. Et cela dans le but de maîtriser le procédé, de pouvoir expliquer et justifier tout phénomène qui se produit en cours de fabrication et de garantir les périodes de conservation du médicament fini. En effet, la rigueur de la réglementation de l'industrie pharmaceutique et l'impact des médicaments sur la santé, obligent tout producteur à identifier, justifier et à tracer toute dérive (aussi négligeable qu'elle puisse paraître) qui apparaît dans le cycle de la production des médicaments.

Cette problématique s'inscrit dans l'esprit des exigences rigoureuses de l'industrie pharmaceutique à savoir, l'amélioration continue des procédés, afin d'optimiser la production des sachets de paracétamol, et de garantir leur conformité pharmaceutique et réglementaire.

2. Description du procédé de fabrication du Doliprane® 500 mg sachets

La production des sachets se fait en onze étapes, comme il est illustré sur la figure 6, avec neuf étapes en fabrication et deux en conditionnement.

Tout au long du procédé de production, des « contrôles in process » (IPC) sont effectués. Les seuls contrôles effectués et qui peuvent donner des informations sur la qualité de la poudre sont : l'analyse visuelle de l'aspect des grains, le passage au détecteur de métaux et enfin l'humidité résiduelle de la poudre (mesurée après l'opération de calibrage). Cette dernière est influencée par trois facteurs :

1. La « température produit cible » lors des étapes de séchage-refroidissement : une « température produit » élevée en fin de séchage entraîne une baisse de l'humidité résiduelle
2. Le débit d'air chaud et d'air froid entrant dans le lit d'air fluidisé (L.A.F) et le temps du séchage-refroidissement
3. L'ouverture des mailles du calibreur et la vitesse de calibration : une grande vitesse de calibration et de petites ouvertures de mailles entraînent la formation de plus de fines dans le produit et par conséquent, une humidité résiduelle plus élevée car il y a libération de l'eau liée située à l'intérieur des grains.

En plus des « contrôles in process », l'équipe du laboratoire de qualité procède au contrôle de la qualité des sachets de paracétamol finis avant la libération des lots et au contrôle de la stabilité des sachets produits jusqu'à la date de péremption, en suivant les paramètres suivants :

- L'aspect des comprimés via un contrôle visuel et olfactif
- La teneur en paracétamol par chromatographie liquide haute performance et identification du dioxyde de titane par une réaction colorée
- La masse moyenne par pesée
- L'uniformité de masse (selon la Pharmacopée Européenne)
- La teneur en eau (selon la Pharmacopée Européenne)
- La teneur en 4-aminophénol par chromatographie liquide haute performance
- La contamination microbienne (selon la Pharmacopée Européenne)

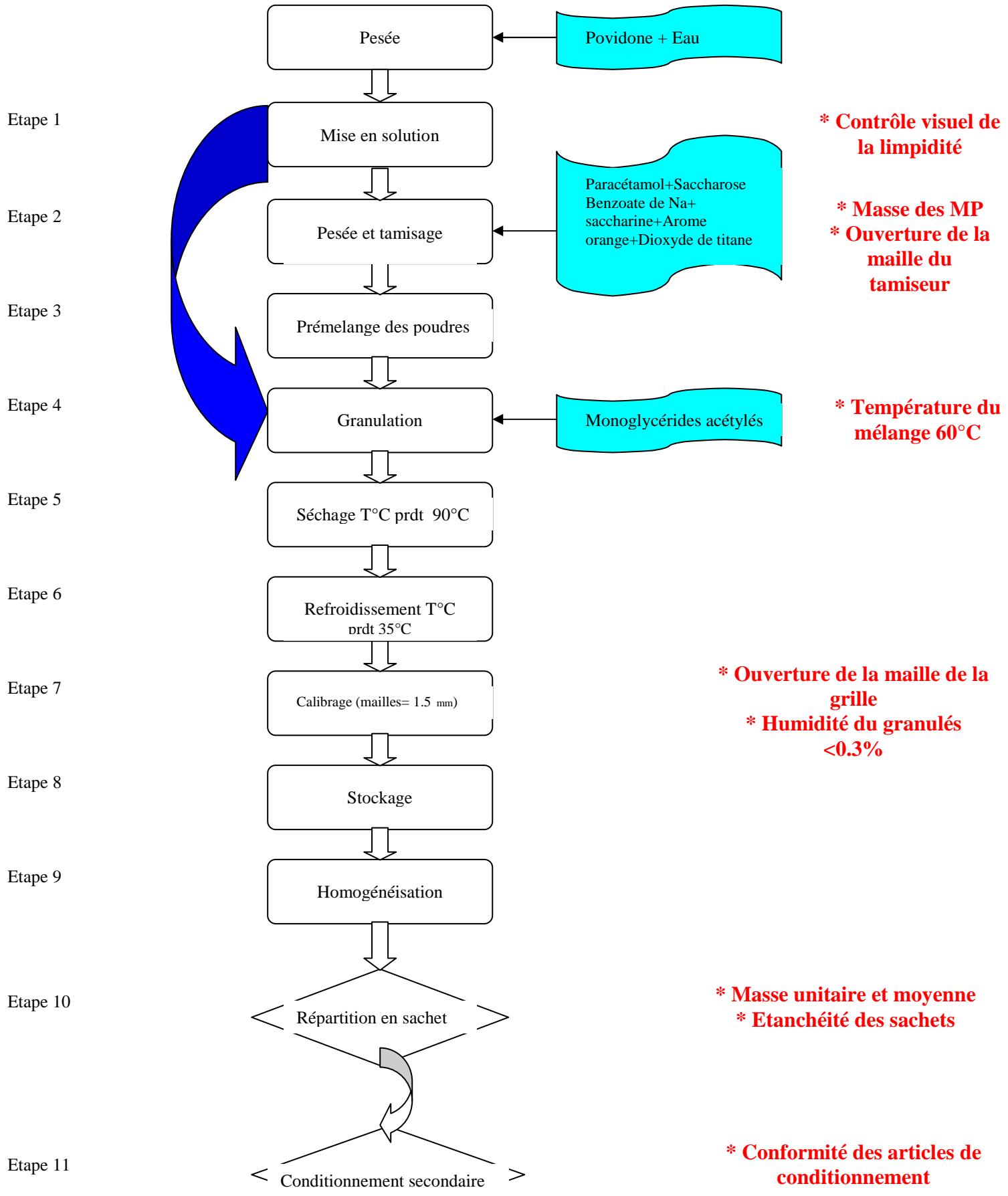
EtapesChronologie des opérationsContrôles en cours

Figure 6: Organigramme des étapes de la production du Doliprane 500 mg sachet

Afin de mieux comprendre les actions correctives qui ont été proposées sur le procédé, la figure 7 illustre plus précisément toutes les étapes qui se déroulent en fabrication



Figure 7: Schéma de fabrication du Doliprane 500 mg sachet

N.B : il faut noter la présence d'un préleveur au niveau de la cuve du lit d'air fluidisé. Ce préleveur permet de réaliser des prélèvements en cours de fabrication (plus précisément pendant le séchage-refroidissement), ce qui a permis de suivre la cinétique de dégradation du produit au fil du temps et du séchage.

3. Matériel et Méthode

3.1. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) phase inverse : (Dosage de la teneur en Para-aminophénol)

Recherche et dosage du 4-aminophénol par chromatographie liquide selon le chapitre 2.2.29 de la pharmacopée européenne ⁽²⁾.

1. Principe

La chromatographie liquide haute performance (Figure 8) est une méthode de séparation des constituants d'un mélange même très complexe. Un fluide appelé phase mobile, parcourt un tube appelé : colonne. Cette colonne peut contenir des granules poreux (colonne remplie) ou être recouverte à l'intérieur d'un film mince (colonne capillaire).

Dans les deux cas, la colonne est appelée phase stationnaire. A l'instant initial, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne à travers la colonne.

Si la phase stationnaire a été bien choisie, les constituants du mélange, appelés généralement les solutés, sont inégalement retenus lors de la traversée de la colonne. De ce phénomène appelé rétention, il résulte que les constituants du mélange injecté se déplacent tous moins vite que la phase mobile et que leurs vitesses de déplacement sont différentes. Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés.

Un détecteur placé à la sortie de la colonne couplé à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme. En effet, il dirige sur un enregistreur un signal constant appelé ligne de base en présence du fluide porteur seul. Au passage de chaque soluté séparé il conduit dans le temps à l'enregistrement d'un pic.

Dans des conditions chromatographiques données, le temps de rétention (temps au bout duquel un composé élué de la colonne est détecté) caractérise qualitativement une substance. L'amplitude des pics, ou encore l'aire limité par ces pics et la prolongation de la ligne de base permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté.

2. Réactifs utilisés

Méthanol anhydre, eau purifiée, acide orthophosphorique, acétonitrile, paracétamol de référence, méthanol, solution de phosphate disodique 0,025 M, acide phosphorique dilué, amino-4-phénol.

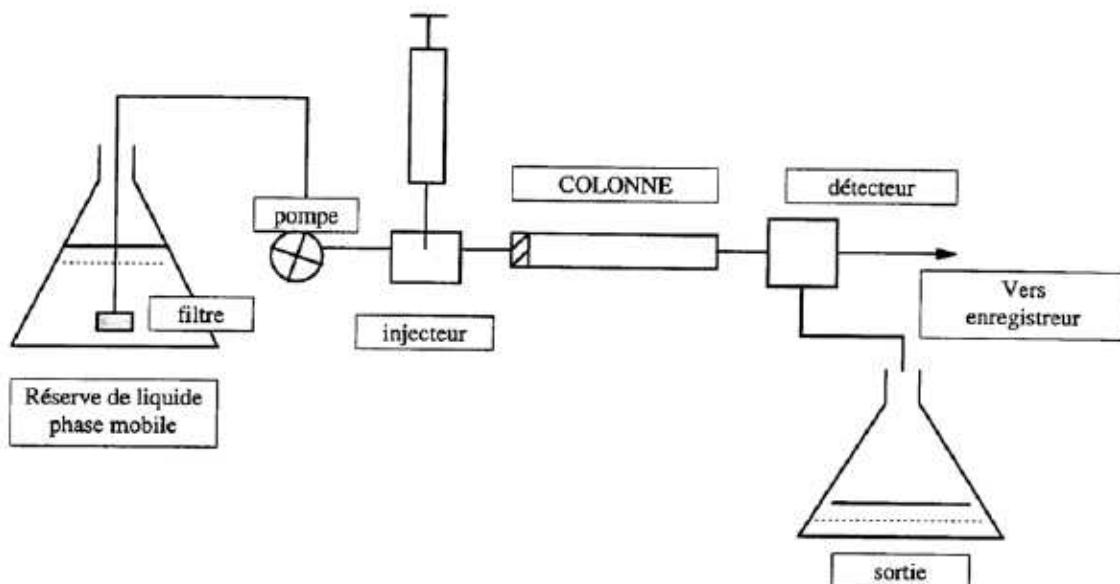


Figure 8 : Principe de fonctionnement de l'HPLC

N.B : La chromatographie utilisée est appelée « à phase inverse » car la phase stationnaire est majoritairement composée de billes de silice greffée par des chaînes linéaires de 8 ou 18 atomes de carbone. Cette phase est apolaire et nécessite donc un éluant polaire (méthanol, eau...). Dans ce cas ce sont les composés polaires qui seront élusés en premier.

Concernant le détecteur, un détecteur UV-visible à lampe de deutérium est utilisé, il mesure l'absorption de la lumière par le produit à la sortie de la colonne. Ainsi, l'analyse se fait à une longueur d'onde constante. Pour que ce type de détecteur soit utilisable, il faut que :

- Le produit à détecter absorbe la lumière à une longueur d'onde accessible à l'appareil, et que son coefficient d'absorption soit suffisamment grand
- La phase mobile n'absorbe pas la lumière à la longueur d'onde choisie

3. Conditions chromatographiques

La colonne utilisée est de marque Superspher 60 RP Sélect B (ou similaire), sa longueur est de 250 mm, son diamètre interne de 4 mm et la taille des particules est de 5 µm.

La phase mobile est constituée de méthanol à une concentration de 10 % v/v et un tampon (pH 6,2) à hauteur de 90 % v/v. Ce dernier est préparé selon la procédure suivante : préparer une solution de phosphate disodique 0,025 M dans l'eau purifiée. Ajuster le pH à 6,2 avec de l'acide phosphorique dilué.

Le débit d'analyse des échantillons est de 1 ml/min à une longueur d'onde de 230 nm.

Les analyses ne peuvent être validées que si l'appareil justifie d'une répétabilité CV ≤ 2,0 % et que le manipulateur démontre une reproductibilité de 98,0 à 102,0 %

4. Préparation des solutions

Les solutions doivent être préparées extemporanément dans de la verrerie ambrée.

A. Préparation des solutions témoins

- **Solution mère**

Dans une fiole jaugée de 200 ml, introduire une prise d'essai témoin (PT) d'amino-4-phénol voisine de 20 mg. Dissoudre et compléter au trait de jauge avec un mélange méthanol-eau 50-50 (V/V)

- **Solution finale**

Faire une dilution au 1/250^{ème} de la solution mère dans le mélange méthanol-eau 50-50 (v/v). Cette solution est analysée en 15 minutes.

B. Solution à analyser

Dans une fiole jaugée de 50 ml, introduire une prise d'essai (PE) de poudre finement pulvérisée voisine de 2,2 g. Compléter au volume avec un mélange méthanol-eau 50-50. Mettre sous agitation magnétique pendant 5 minutes, puis filtrer sur Millex 0,45 µm en éliminant les premières gouttes de filtrat, et injecter cette solution. Cette solution est analysée en 50 minutes.

5. Résultats

La teneur en 4-aminophénol est donnée par la formule suivante :

$$\frac{AE \times PT \times MM}{AT \times PE \times TT} = \frac{AE \times PT}{AT \times PE} \times 5.4$$

Avec :

AE : Aire de l'essai.

AT : Aire du témoin.

PT : Prise d'essai du témoin en mg.

PE : Prise d'essai de l'essai en g.

MM : Masse moyenne théorique du sachet

TT : Teneur théorique du sachet

6. Normes

- Les prélèvements sont validés si sa teneur en PAP est ≤ 50 ppm
- Limite de détection du PAP par cette méthode = 5 ppm, c'est-à-dire qu'au dessous de cette quantité le PAP n'est pas détecté, même s'il peut être présent.
- Limite de quantification du PAP par cette méthode = 14 ppm, c'est à partir de cette teneur que le 4-aminophénol est exactement quantifié.

3.2. Spectrophotométrie Infrarouge à transformée de Fourier

La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (*IRTF*) est une technique d'analyse moléculaire permettant d'obtenir des informations sur les liaisons chimiques et sur la structure moléculaire des échantillons analysés en déterminant leur spectre infrarouge.

Elle est utilisée pour permettre l'identification des liants (*colle, cire, huile..*), vernis, fixatifs et consolidants rencontrés dans les peintures ainsi que pour l'identification de certains pigments. Elle est également utilisée pour déterminer la nature des sels et **produits d'altération**.

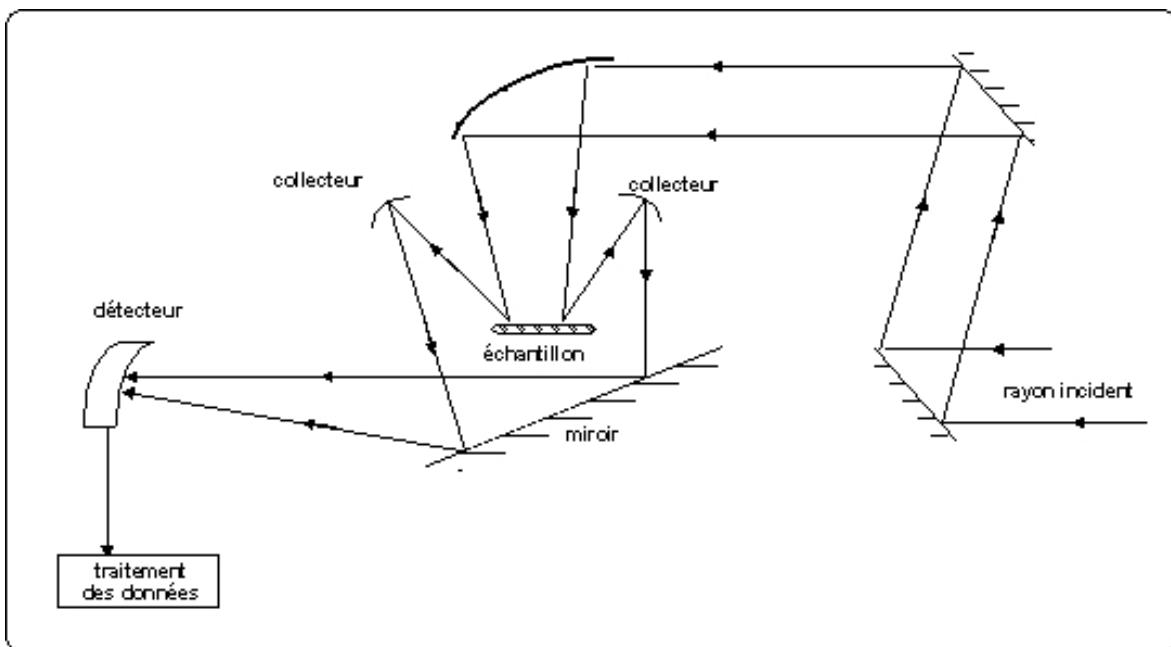


Figure 9 : Schéma de principe d'un spectromètre infrarouge

1. Principe de fonctionnement (Figure 9)

Dans les molécules chimiques, les atomes sont liés entre eux par des énergies de liaison, caractéristiques de chaque type de liaison : C — H, C — OH, C = O, C = C... etc. Ces énergies de liaisons sont sensibles aux radiations électromagnétiques qui vont provoquer des mouvements entre les atomes et entraîner des vibrations dans la molécule : déformation, rotation, étirement... etc., ce qui se traduira par une absorption de l'énergie reçue. Les fréquences des vibrations sont caractéristiques de chaque groupement moléculaire.

Un faisceau infrarouge passe donc à travers l'échantillon et a pour but d'exciter les molécules. Ces molécules vont vibrer en absorbant une partie de l'énergie de rayonnement. Pour une molécule donnée, les énergies de liaisons sont toutes quantifiées, c'est-à-dire que la molécule ne peut présenter que certains états de vibrations, de rotations, ou électroniques. On obtient donc des bandes d'absorption caractéristiques des vibrations, et, en faisant défiler les longueurs d'ondes, on obtient ainsi le spectre complet de toutes les vibrations du produit analysé.

L'interprétation du spectre obtenu permet ainsi de reconstituer la molécule et donc

d'identifier le produit. Pour aider à l'interprétation, les spectres sont traités par comparaison avec une bibliothèque de spectres de références informatisés. Ainsi, cette méthode permet d'accéder directement à l'information moléculaire, à la nature chimique et à l'organisation conformationnelle et structurale des composés à analysés.

L'appareil utilisé dans le laboratoire est un Perkin Elmer Paragon 1000, portant les références suivantes :

- gamme spectrale : 350 – 4400 cm⁻¹
- résolution 1 cm⁻¹, détecteur D.T.G.S.
- logiciel IRTUTOR, Grams Analyst et Spectrom.
- cristal A.T.R.H. cuvette ZnSe

2. Préparation des échantillons à analyser

Les poudres sont mélangées à du bromure de potassium de qualité « analyse en infra rouge ». Le bromure de potassium doit être au préalable desséché pendant au moins 4 heures à l'étuve à 105°C.

3. Résultats

Vérifier que les noms du spectre de l'échantillon à analyser et le spectre de la référence sont identiques.

3.3. Dessiccateur

Le dessiccateur est un appareil utilisé pour la mesure de l'humidité résiduelle d'une matière. Le modèle utilisé pour l'analyse de la poudre de paracétamol est un « Mettler HR37 ».

Le principe de fonctionnement d'un tel appareil est simple, et consiste à chauffer 8 g de poudre (uniformément repartie sur la balance) à 115°C via une lampe allumée, le résultat est donné en pourcentage de masse :

$$\text{Humidité résiduelle (\%)} = (1 - (\text{masse finale}/\text{masse initiale})) \times 100$$

L'appareil s'arrête automatiquement de chauffer lorsque la variation de pesée est <1mg/45sec

3.4. Granulométre

Il est utilisé pour l'estimation de la distribution granulométrique par tamisage. Le modèle utilisé pour effectuer ce travail est la tamiseuse d'analyse « AS 200 Retsch », qui donne sous forme de tableau ou de graphique, la répartition granulométrique des particules composant un produit granulaire sec ou humide.

Le principe consiste à mettre 100 g de la poudre à analyser dans la série de tamis sélectionnée (le diamètre d'ouverture des mailles des tamis sélectionnés sont : 800µm-400µm-250µm-125µm). Ensuite, il faut laisser les 100 g sur les tamis à une intensité d'oscillation de 1.5 mm/g, pendant 10 minutes.

4. Plan d'action-Résultats

Le plan d'action proposé pour résoudre le problème décrit précédemment, ainsi que les résultats obtenus seront exposés dans ce chapitre.

Le problème a été pris sous cinq angles différents, qui ont mené à l'élaboration du plan d'action suivant :

1. Déterminer l'impact du procédé sur l'apparition de cette couleur
2. Déterminer l'impact du nettoyage et ses fréquences sur le développement de la couleur
3. Identifier le mécanisme d'apparition de cette couleur, notamment en faisant subir des essais de dégradation accélérés à des combinaisons d'excipients et de principe actif
4. Comparer les chromatogrammes des sachets colmatés (dégradés) et des sachets d'aspect correct
5. Identifier les conditions de dégradation et les facteurs déterminants cette dégradation
6. Identifier par des moyens analytiques poussés, la composition de notre matière jaune brunâtre

Il faut savoir que le 4-aminophénol (premier produit de dégradation du paracétamol) est le seul indicateur de stabilité des sachets, qui est mesuré par chromatographie liquide haute performance. Ainsi, au début de ces travaux il paraissait clair que le 4-aminophénol avait un lien direct avec la coloration brune, c'est pour cela que des mesures de la teneur en PAP ont été faites dans chacun des échantillons prélevés, en plus des analyses visuelles qualitatives de la coloration.

4.1. Impact du procédé

L'apparition de la couleur brune peut être due aux différentes étapes que subit la poudre en cours de fabrication. Dans le but d'explorer cette piste, le procédé a été subdivisé en plusieurs opérations unitaires, afin d'identifier ses étapes les plus critiques. Ainsi, l'étape qui se déroule dans le lit d'air fluidisé a été identifiée comme étant la plus critique du procédé et a été donc étudiée de plus près. En effet, dans cette partie du process, trois opérations se produisent simultanément : le mélange, la granulation de la poudre et son séchage. On est donc en présence d'un phénomène de transfert de chaleur (le sens du transfert se fait de l'air chaud entrant vers la poudre qui voit sa température augmentée et sèche ensuite progressivement) et d'un phénomène de transfert de matière (granulation et évaporation de l'eau constituant la poudre). Lors de cette étape de séchage-granulation, les fabricants peuvent jouer sur deux paramètres d'entrée, à savoir, la « température produit » de fin de séchage et le débit d'entrée de l'air chaud. Les valeurs références mentionnées sur le dossier de lots sont les suivantes :

- ⇒ Débit d'air chaud = 4000 m³/heure
- ⇒ Température du produit en de fin de séchage= 90°C

Concernant le débit d'air chaud, le degré de liberté était faible. En d'autres termes, une augmentation du débit d'air chaud entrant dans le L.A.F entraîne une instabilité des filtres situés en haut du L.A.F, et la diminution de ce débit, entraîne un rallongement du temps de séchage de la poudre au-delà de 60 min (ce qui est catégoriquement interdit par le dossier de lot, car une durée de séchage aussi élevée favorise la dégradation des grains).

Ainsi, le seul paramètre qui peut être modulé lors de la production est la « température produit » lors du séchage, afin de déterminer une température idéale pour laquelle la qualité du produit sera améliorée, tout en gardant une humidité résiduelle de la poudre à la fin de la calibration égale à 0,3%, comme il est bien précisé sur le dossier de lot.

Il est aussi important de noter que le seul contrôle qui peut être effectué en cours de fabrication (IPC) est la mesure de l'humidité résiduelle de la poudre. Ainsi, les expériences menées à ce stade sont les suivantes :

- Tout d'abord, il a été constaté en comparaison avec les dossiers de lot utilisés sur d'autres sites de production du groupe Sanofi-Aventis[®] (notamment celui de la Tunisie), que la température produit cible en fin de séchage est de 83°C au lieu des 90°C exigées sur les dossiers de lot du produit étudié. Nous avons donc voulu comparer la qualité des produits fabriqués à ces deux températures, en pensant que le fait de travailler à une température de séchage inférieure permet de moins stresser le produit, et donc, peut réduire les risques d'apparition de la couleur brune. Ainsi, il a été fabriqué des sachets à 83°C et à 89°C sur le procédé étudié et à 40°C sur un pilote se trouvant sur le site de développement du groupe Sanofi-Aventis[®] à Compiègne. Ensuite, la stabilité des sachets fabriqués a été suivie, en mesurant la quantité de 4-aminophénol dans les différents sachets placés dans une enceinte climatique (dans les conditions de dégradation accélérées, à savoir, 40°C en température et 75% en humidité relative).

Le suivi c'est fait sur une période de trois mois, avec un dosage mensuel du 4-aminophénol (dans les trois types de sachets fabriqués).

▪ Résultats :

Tableau 2 : Suivi de la dégradation des sachets fabriqués à différentes température de séchage

Température produit (lors du séchage)	PAP (ppm) (jour : 1, 14/06/09)	PAP (ppm) (jour : 45, 28/07/09)	PAP (ppm) (jour : 75, 28/08/09)	PAP (ppm) (jour : 95, 17/06/09)
90°C	5	16 (brunâtre)	30 (brunâtre)	28 (brunâtre)
83°C	3	7 (orange)	7 (orange)	27 (brunâtre)
40°C	0	0	0	0

Le tableau 2 montre que les sachets fabriqués à 40°C sont plus stables que ceux fabriqués à 83°C, qui sont à leur tour plus stables que ceux fabriqués à 90°C. Ainsi, plus la température de fin de séchage est basse, plus le produit final est stable. Toutefois, une température de fin de séchage trop basse ne permet pas d'atteindre l'objectif en humidité résiduelle dans la poudre qui doit être inférieur à 0.3%.

- Dans un deuxième temps, le suivi l'humidité résiduelle a été effectué sur des prélèvements faits en cours de séchage et de refroidissement aux températures suivantes : 70°C, 78°C, 83°C, 89°C et 35°C. Les résultats de ce suivi ont été comparés à la consigne déclarée dans le dossier de lot (humidité résiduelle<0.3%) dans le but de justifier le choix d'une température de fin de séchage de 83°C, par le site de production de la Tunisie et éventuellement de travailler à cette température à l'avenir.

▪ Résultat :

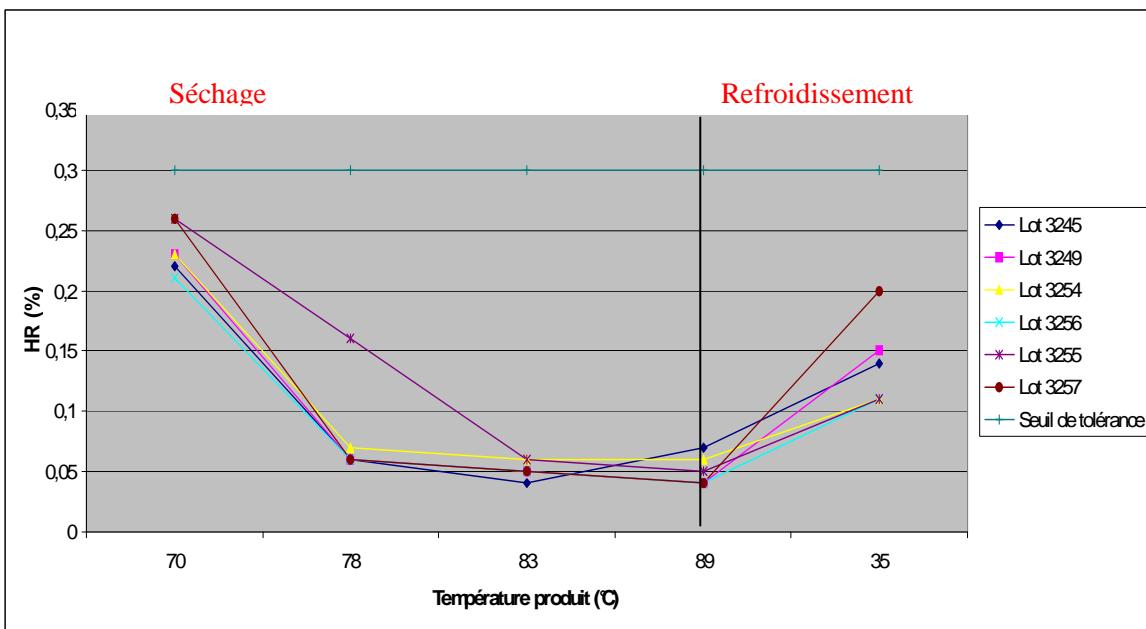


Figure 10 : Suivi de l'humidité résiduelle (HR%) lors du séchage - refroidissement

Les résultats montrent qu'en continuant à sécher de 83°C à 89°C, l'humidité résiduelle ne baisse que de 0.01% en moyenne. Cette valeur est donc négligeable devant la perte de temps et d'énergie que nécessite un séchage prolongé jusqu'à une température du produit égale à 89°C.

La figure 10 montre aussi, que lors du refroidissement l'humidité de la poudre augmente, car l'air froid est lui-même humide (non traité).

- La quantité de 4-aminophénol a été aussi mesurée sur des prélèvements effectués en cours de fabrication pour des températures de fin de séchage de 89°C et de 83°C (sur cinq lots, pour avoir une moyenne), dans le but de voir si ce changement de température minimiserait l'apparition de produit de dégradation lors de la production.

- Résultat :

Tableau 3 : Suivi de la quantité de PAP contenue dans des prélèvements effectués à 83°C et 89°C

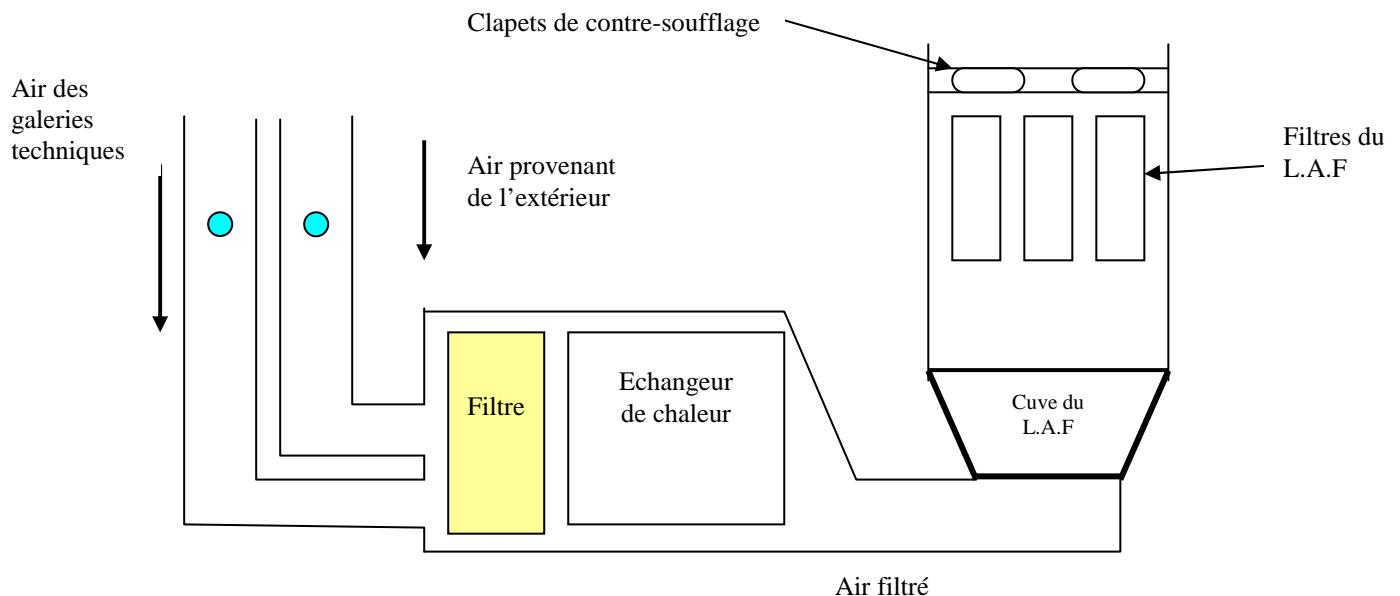
Température de prélèvement	Numéro de lot	Date	Dosage PAP (ppm)	HR% (avant analyse)
83°C	3269	24/04/09	0	0.22
	3271	27/04/09	0	0.19
	3273	27/04/09	0	0.22
	3275	28/04/09	0	0.19
	3278	29/04/09	0	0.15
89°C	3269	24/04/09	2	0.19
	3271	27/04/09	0	0.16
	3273	27/04/09	0	0.13
	3275	28/04/09	0	0.12
	3278	29/04/09	0	0.12

Le tableau 3 montre que la dégradation du paracétamol à T_0 est la même (c'est-à-dire nulle) pour les deux températures de fin de séchage. Ainsi, la température de fin de séchage intervient plus dans la stabilité des sachets à long terme que dans la dégradation immédiate du paracétamol.

La valeur 2 ppm en 4-aminophénol pour le Lot 3269 est très négligeable car elle est inférieure au seuil de détection qui est égale à 5 ppm, de la méthode *HPLC* utilisée.

4.2. Impact du nettoyage et ces fréquences

Le procédé de fabrication des sachets étant un process discontinu, il est normal de constater que lors des nettoyages réalisés tout les 15 jours, une certaine quantité de matière s'accumule dans le fond de la cuve du lit d'air fluidisé et au-dessus des clapets de contre-soufflage (quatre clapets qui s'ouvrent en alternance, situés au-dessus des filtres dont le rôle est de souffler de l'air à l'intérieur des filtres dans le but de les décolmater) (Figure 11).



- Points de mesure des débits

Figure 11 : Schéma représentant le L.A.F et les canalisations d'arrivée de l'air

Cette matière accumulée subit plusieurs cycles de fabrication. Ainsi, les 4.5 kg de matière accumulée en fond de cuve et les 800 g de matière accumulée au-dessus de clapets de contre soufflage sont plus stressés et plus sujets à une éventuelle dégradation et apparition de couleur. Afin d'évaluer les impacts de cette accumulation de matière, de l'efficacité des nettoyages et de leur fréquence sur l'apparition de la couleur, les expériences suivantes ont été réalisées :

- Faire des dosages de 4-aminophénol sur la matière accumulée en fond de cuve à chaque fin de lot (durant cinq lots), et ceci entre deux nettoyages successifs. Le but de cette expérience est de démontrer que la fréquence des nettoyages est bonne et que le nettoyage se fait d'une manière correcte. Aussi, de démontrer que la matière accumulée en fond de cuve ne se dégrade pas au fil des séchages et qu'il n'est donc pas nécessaire de l'enlever après chaque lot. Dans ces conditions, la périodicité actuelle de 15 jours serait suffisante.

o Résultat :

Tableau 4 : Analyse des fonds de cuve et mesure du PAP

Prélèvements FC	Numero du lot	Date	Dosage PAP (ppm)	HR% (avant analyse)
Dernier lot avant le nettoyage :	3280	30/04/2009	6	0.73
	3274	28/04/2009	4	0.87
	3272	27/04/2009	3	0.76
	3268	24/04/2009	0	0.91
	3256	15/04/2009	0	0.47
Premier lot après le nettoyage :				

Les résultats résumés dans le tableau 4 montrent une augmentation de la quantité de 4-aminophénol en fond de cuve et cela de 0 (après le premier nettoyage) à 6 ppm (avant le deuxième nettoyage). Effectivement, la matière accumulée subit une dégradation plus prononcée (plusieurs cycles de granulation-séchage-refroidissement) que la matière non accumulée, mais cette valeur reste négligeable par rapport à la limite réglementaires tolérée pour le 4-aminophénol dans les sachets de paracétamol, à savoir moins de 50 ppm. Ainsi, cette expérience a démontré que la fréquence des nettoyages est bonne.

- Mesurer la quantité de 4-aminophénol présente dans des prélèvements effectués au-dessus des clapets de contre soufflage, afin de voir l'état de dégradation de la poudre accumulée au dessus de ces clapets. En effet, il faut savoir que cette partie du L.A.F n'est jamais nettoyée et que la poudre qui s'y accumule n'est ni évacuée ni intégrée au produit fini (sauf en cas de problème de perçage des filtres).

o Résultat :

Tableau 5 : Mesure du PAP dans la matière accumulée lors du nettoyage

Prélèvements FC	Numero du lot	Date	Dosage PAP (ppm)	HR% (avant analyse)
1. Au dessus des filtres Nettoyage	3363	26/06/2009	16	0.84
	3280	30/04/2009	6	0.73
2. En fond de cuve				

Le tableau 5 montre que la matière accumulée au-dessus des filtres contient 16 ppm de 4-aminophénol, valeur supérieure à la limite de quantification du PAP (= 14 ppm).

Cette quantité de PAP en haut du L.A.F pourrait être inquiétante si un des filtres était perforé ou se décrochait de son armature. Par mesure préventive, il faudrait penser à nettoyer cette partie du L.A.F pour éviter tout risque de contaminer la poudre par cette matière accumulée contenant un taux élevé de PAP.

- Doser le 4-aminophénol sur des échantillons prélevés à 83°C et 89°C, sur plusieurs lots et entre deux nettoyages successifs afin de suivre l'évolution de la qualité de la poudre après un premier nettoyage et avant le second nettoyage. En d'autres termes, il s'agit de vérifier la bonne fréquence des nettoyages et d'évaluer l'effet de l'encrassement du L.A.F sur l'apparition de la couleur.

- Résultat : (Cf. Tableau 3)

Le tableau 3 montre que la quantité de PAP dans les lots préparés à 89°C ou à 83°C reste égale 0 ppm même quand nous nous éloignons du nettoyage. Ainsi, la fréquence des nettoyages est bonne et l'encrassement du L.A.F n'a pas d'impact sur la dégradation de la poudre et l'apparition de la couleur brune.

4.3. Identification du mécanisme d'apparition de la couleur par des combinaisons des matières premières

Dans cette partie de l'investigation il est intéressant de voir si, indépendamment du procédé, la couleur brunâtre est due à la dégradation d'un excipient seul ou si une réaction chimique pourrait se produire entre les excipients et le principe actif (paracétamol). Afin de vérifier cette hypothèse, les essais suivants ont été proposés :

- Tout d'abord, soumettre à une étude de dégradation accélérée les excipients seuls et le principe actif. Les composés en question sont les suivants :

- Arome orange
- Benzoate de sodium
- Saccharine
- Saccharose
- Paracétamol

Les échantillons de ces substances sont laissés dans une enceinte à une température de 60°C pendant la première semaine, ensuite à 90°C pendant la deuxième semaine. Durant ces essais il faut procéder au dosage du PAP dans les

échantillons ainsi qu'a une analyse visuelle à la fin de la première semaine, ensuite à la fin de la deuxième semaine.

N.B : En plus de ces expériences, l'échantillon constitué de saccharose seul, est soumis à des conditions de dégradation supplémentaires (60°C/30m, 90°C/30mn et 90°C/1 semaine) car il est très sensible à la réaction de Maillard (réaction de caramélisation ou brunissement non enzymatique du sucre entre 95-150°C température).

- Ensuite, afin de vérifier l'existence d'éventuelles réactions chimiques entre les composés présents dans la cuve du L.A.F, il faut préparer toutes les combinaisons des excipients et du principe actif afin de les soumettre à la même étude de dégradation accélérée que l'expérience précédente (à savoir 60°C/1 semaine, ensuite 90°C/1 semaine). Les combinaisons sont les suivantes :

a. Tests binaires :

1. arôme orange+benzoate de sodium
2. arôme orange + saccharine
3. arôme orange + saccharose
4. arôme orange + paracétamol
5. benzoate de sodium + saccharine
6. benzoate de sodium + saccharose
7. benzoate de sodium + paracétamol
8. saccharine + saccharose
9. saccharine + paracétamol
10. saccharose + paracétamol

b. Tests ternaires :

1. arôme orange-benzoate de sodium-saccharine
2. arôme orange-benzoate de sodium-saccharose
3. arôme orange- benzoate de sodium –paracétamol
4. arôme orange-saccharine- saccharose
5. arôme orange-saccharine-paracétamol
6. arôme orange- saccharose –paracétamol
7. benzoate de sodium –saccharine- saccharose
8. benzoate de sodium –saccharine-paracétamol
9. benzoate de sodium – saccharose –paracétamol
10. saccharine- saccharose –paracétamol

c. Tests quaternaires :

1. arôme orange- benzoate de sodium –saccharine-saccharose

2. arôme orange- benzoate de sodium –saccharine-paracétamol
3. benzoate de sodium –saccharine-saccharose-paracétamol
4. arôme orange- benzoate de sodium –paracétamol-saccharose
5. arôme orange-paracétamol-saccharine-saccharose

d. Tests complet :

1. arôme orange-benzoate de sodium-saccharine-saccharose-paracétamol

Lors de la préparation de ces échantillons, il faut respecter les mêmes proportions de principe actif et d'excipients que celles des sachets et cela dans le but d'être reproductible et de se rapprocher le plus des conditions naturelles de préparation des sachets de paracétamol (Annexe 6).

A la fin de l'expérience, une analyse visuelle et un dosage de la quantité de PAP présente dans chaque échantillon sont effectuées.

o Résultat:

Tableau 6 : Résultats des essais de dégradation forcée

Type de prélèvement	Date	HR% (avant l'étuve)	HR% (après broyage)	PAP (8J/60°C) (ppm)	PAP (8J/90°C) (ppm)
1. Sucre 90°C/1 semaine 60°C/30mn 90°C/30mn	01/07/2009			0	0
	01/07/2009			0	0
2. Arome orange	26/05/2009	3,5	4,65	0	0
3. Benzoate de Na	26/05/2009	0,44	0,09	0	0
4. Saccharine	26/05/2009	0,02	0,04	0	0
5. Paracétamol	26/05/2009	0,02	0,07	0	0
Tests binaires				19/05/2009	28/07/2009
6. Arome orange-benzoate de Na	11/04/2009	3,1	5,1	0	0
7. Arome orange-saccharine	11/04/2009	2,74	4,82	0	0
8. Arome orange-sucre	11/04/2009	0,17	0,25	0	0
9. Arome orange-paracétamol	11/04/2009	0,52	0,68	0	0
10. Benzoate de Na-saccharine	11/04/2009	0,14	>5,56	0	0
11. Benzoate de Na-sucre	11/04/2009	0,03	0,07	0	0
12. Benzoate de Na-paracétamol	11/04/2009	0,04	0,05	0	0
13. Saccharine-sucre	11/04/2009	0,04	0,05	0	0
14. Saccharine-paracétamol	11/04/2009	0,04	0,06	0	40
15. Sucre-paracétamol	11/04/2009	0,02	0,05	0	0
Tests ternaires				29/05/2009	02/09/2009
16. Arome orange-benzoate de Na-saccharine	18/05/2009	3,22	>5,07	0	0
17. Arome orange-benzoate de Na-sucre	18/05/2009	0,66	0,67	0	0
18. Arome orange-benzoate de Na-paracétamol	18/05/2009	0,65	0,72	0	0
19. Arome orange-saccharine-sucre	18/05/2009	0,16	0,26	0	0
20. Arome orange-saccharine-paracétamol	18/05/2009	0,6	0,45	32	85
22. Arome orange-sucre-paracétamol	18/05/2009	0,19	0,18	0	0
23. Benzoate de Na-saccharine-sucre	18/05/2009	0,04	0,07	0	0
24. Benzoate de Na-saccharine-paracétamol	18/05/2009	0,04	0,09	17	63
25. Benzoate de Na-sucre-paracétamol	18/05/2009	0,04	0,05	0	0
26. Saccharine-sucre-paracétamol	18/05/2009	0,05	0,05	31	29,52
Tests quaternaires				04/06/2009	10/09/2009
27. Arome orange-benzoate de Na-saccharine-sucre	26/05/2009	0,14	0,54	0	0
28. Arome orange-benzoate de Na-saccharine-paracetamol	26/05/2009	0,94	1,35	7	0
29. Benzoate de Na-saccharine-sucre-paracétamol	26/05/2009	0,04	0,08	0	3
30. Arome orange-benzoate de Na-paracetamol-sucre	26/05/2009	0,2	0,16	0	0
31. Arome orange-paracetamol-saccharine-sucre	26/05/2009	0,11	0,11	114	108
Test complet					
32. Arome orange-benzoate de Na-saccha-sucre-paracetamol	26/05/2009	0,21	0,2	28	29

Remarque : aucun des essais n'a donné la couleur brune que nous cherchions à développer

Le tableau 6 montre que tous les échantillons dégradés (où le paracétamol s'est transformé en PAP) ont un facteur commun : « L'association Paracétamol-Saccharine ».

Le test binaire 14, montre que la dégradation du paracétamol en PAP en présence de la saccharine dépend des conditions de dégradation, à savoir, la température puisque il y a eu dégradation que pour l'essai conservé à 90°C/8 jours.

Les tests ternaires (20, 24, 26) révèlent que le benzoate de Na, l'Arome orange et le saccharose (sucre) accélèrent la dégradation du Paracétamol en PAP.

Des tests quaternaires (28, 29), nous pouvons déduire que le benzoate de sodium a un effet antagoniste avec celui de l'arôme orange et du sucre. En effet, ces essais montrent que le benzoate de sodium inhibe complètement l'effet « accélérateur de la dégradation » de l'arôme orange et du saccharose.

De ces résultats on peut dire que l'effet du benzoate est complexe. Il est d'une part, accélérateur de dégradation du paracétamol en PAP quand il est associé à la saccharine-paracétamol. D'autre part, il devient protecteur contre cette dégradation quand il est associé avec l'Arome orange-paracétamol-saccharine ou saccharose-saccharine-paracétamol.

N.B :

1. *Concernant l'essai 28 dans les conditions de dégradation de 90°C/8 jours, le chromatogramme révèle la présence d'un minuscule pic de PAP qui n'a pas été intégré, donc en réalité nous avons quelques ppm de PAP dans ces conditions.*
2. *L'essai 28 (dans les conditions de 60°C/8jours) est de couleur jaunâtre ce qui n'est pas le cas pour l'essai 31 dans les même conditions de dégradation avec une teneur en PAP de 114 ppm. Cette observation montre que l'intensité de la couleur n'est pas proportionnelle à la quantité PAP présente dans le mélange.*

Le teste 31 montre aussi que l'association « arôme orange-saccharose » favorise encore plus la dégradation de paracétamol que si ils étaient seuls.

Enfin, concernant le teste 32, nous nous retrouvons dans la même configuration que l'essai 26. Comme si la présence de benzoate de sodium annulait tout l'effet de l'arôme orange. Cela revient à dire que dans les sachets, le benzoate de sodium annulerait l'effet « accélérateur de dégradation de l'arôme orange » et que le saccharose serait le seul composé qui provoquerait l'accélération de la dégradation du mélange Saccharine-Paracétamol.

4.4. Conditions de dégradation et ses facteurs critiques

Dans le but d'identifier les paramètres critiques de conservation et l'effet des conditions externes sur la dégradation des sachets de paracétamol étudiés, des prélèvements ont été effectués en cours de production à une température de fin de séchage égale à 89°C et à 83°C. Ces prélèvements ont été laissés dans des cristallisoirs ouverts pendant un mois dans des enceintes climatiques ayant des conditions de dégradation différentes (Figure 12) :

- Humidité relative=65%, température= 30°C (essai 1)
- Humidité relative=75%, température= 30°C (essai 2)
- Humidité relative=75%, température= 40°C (essai 3)



Figure 12 : Conditions de dégradation critiques

Ces trois essais vont permettre de comparer l'effet de la température et de l'humidité relative sur la stabilité du contenu des sachets et de voir s'il y a des conditions pour lesquelles la coloration brune apparaît. Ces tests ont été réalisés sur une période d'un mois (28/07/09-28/08/09).

- Résultat :

Tableau 7 : Résultats des essais de stabilité dans des conditions de conservation différentes

Température de prélèvement	Conditions de dégradation		
	Humidité relative= 65%, T°C= 30 (essai 1)	Humidité relative= 75%, T°C= 30 (essai 2)	Humidité relative= 75%, T°C= 40 (essai 3)
83°C	39	81	441
89°C	34	81	459
PAP (ppm)			

La comparaison des résultats des essais 1 et 2, montre qu'une augmentation de l'humidité relative de 10 % augmente la dégradation du paracétamol d'environ 50 ppm de PAP. La comparaison des résultats des essais 2 et 3, montre qu'une augmentation de température de 10 °C favorise la dégradatation du paracétamol d'environ 350 ppm de PAP. Ainsi, l'humidité relative et surtout la température jouent un rôle primordial dans la dégradation du paracétamol et l'apparition de la couleur brune. En effet, la couleur brune apparaît lorsque les conditions de conservation des sachets sont de 40°C et 75% en humidité résiduelle.

4.5. Comparaison des chromatogrammes des sachets colmatés (dégradés) et des sachets d'aspect correct

Dans cette partie, une comparaison des chromatogrammes de quatre types de sachets a été effectuée, afin de mettre en relief les pics qui évoluent avec l'intensité de la couleur brune (Figure 13) :

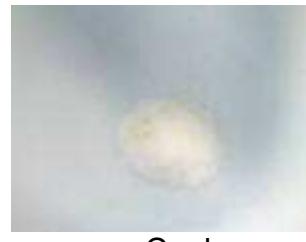
- Un sachet de Doliprane 500 mg référence, d'aspect correct
- Un sachet de Doliprane 500 mg conservé à 75%HR/40°C pendant 6 mois, ce sachet possède une couleur brune très prononcée (Couleur+++)
- Un sachet de Doliprane 500 mg conservé à 75%HR/40°C pendant 6 mois, ce sachet possède une couleur brune moins prononcée que le précédent (Couleur+)
- Un sachet de Doliprane 500 mg conservé à 60%HR/25°C pendant 2 ans, ce sachet possède la couleur brune moins prononcée que les deux précédents (couleur+-).



Couleur +++



Couleur +



Couleur +-

Figure 13 : Photos des sachets mis dans différentes conditions de dégradation

La comparaison des trois derniers chromatogrammes mettra en évidence les différents pics qui varient en fonction de l'intensité de la coloration. Une fois les pics repérés, il faudra les identifier et doser les dits composés.

La comparaison des chromatogrammes du sachet référence et des autres sachets, donne des informations sur les pics qui apparaissent avec l'apparition de la couleur. Ce qui permettra donc de mieux cibler les investigations pour identifier la matière brune.

N.B : toutes les mesures de PAP en HPLC se sont faites à une longueur d'onde d'absorption de 230 nm. Ainsi, les pics des chromatogrammes ne représentent que les composés qui absorbent à cette longueur d'onde. En effet, il se peut que d'autres composés, responsables de l'apparition de la couleur, ne soient pas détectés à 230 nm. Il aurait fallut travailler avec une HPLC à barrette de diode pour détecter tous les pics présents dans les échantillons.

- Résultat (Annexe 7):

Tableau 8 : Dose de PAP dans les échantillons

Echantillons	PAP (ppm)
Sachet de référence	0
Sachet en dégradation forcée : 75% HR/40°C/6 mois Couleur+++	195
Sachet en dégradation forcée : 75% HR/40°C/6 mois Couleur+	53
Sachet en dégradation forcée : 60% HR/25°C/2 ans Couleur+-	21

Tableau 9 : Récapitulatif des chromatogrammes des échantillons passés en HPLC

Temps de rétention	3.41	5.21	6.11	7.32	8.51	9.23	10.9	12.76	12.86	13.06	13.15	13.22	13.30	18.23	24.36	29.83	43
Référence	0	0	+	0	+	+++	0	++++	+++	+	++++	+++	+++	0	++++	0	0
Couleur (+++)	0	+++	++	++	++++	+	0	+	0	++++	0	0	0	++	+++	++	++
Couleur (+)	0	++	++++	0	+++	++	++	0	0	++	0	0	0	0	+	0	0
Couleur (-)	++	+	+++	0	++	++++	+	0	0	+++	0	0	0	+++	++	0	0

Le tableau 9 résume tous les chromatogrammes, cinq colonnes attirent particulièrement l'attention car il existe une proportionnalité entre l'intensité de la couleur et la concentration du composé en question :

1. à un temps de rétention (TR) de 5.21, caractéristique du 4-aminophénol, il a même été démontré lors des expériences précédentes qu'il n'existe pas de proportionnalité entre l'intensité de la couleur et la dose en 4-aminophénol.
2. à un temps de rétention = 8.51, c'est le temps de rétention d'un produit de dégradation lié à l'arôme orange, ce pic est proportionnel à l'intensité de la coloration. La surface de ce pic est d'environ 300.000 pour l'échantillon le plus coloré, ce qui est supérieur à la limite de report (limite de report= 230000, c'est la surface au-delà de laquelle il est impératif d'identifier une impureté) fixée par le laboratoire de qualité. Une méthode analytique doit être développée afin d'identifier la structure exacte de ce produit.
3. aux temps de rétention = 29.83 et 43, correspondant à des composés présents uniquement dans l'échantillon le plus coloré. Par expérience, l'équipe du laboratoire pense que ce sont des produits de dégradation secondaire du paracétamol.

4. à un temps de rétention = 7.32, correspond à un composé non identifié et inconnu et uniquement présent dans l'échantillon le plus coloré, il est possible que ce produit soit à l'origine de la coloration.

Comme il a été décrit dans la première partie de ce travail, un des produits de dégradation secondaire du paracétamol est un dérivé des quinones, ces produits sont connus pour leur propriété hautement chromogène (une petite quantité de ces produits peut entraîner une coloration très forte des échantillons). Cette piste reste à explorer.

4.6. Identification du composé brun

Lors des nettoyages mensuels du L.A.F, il a été remarqué qu'il y avait une accumulation de matière au niveau des clapets de contre soufflage ; cette matière est de couleur brune foncée (Figure 14). Cette dernière a été soupçonnée d'être une forme concentrée du composé jaune brunâtre qu'il faut éliminer. Aussi, cette matière a été prélevée dans le but d'identifier sa nature et la structure chimique du composé la constituant. Pour ce faire, les analyses suivantes ont été effectuées :

1. Analyser l'échantillon en microspectrophotométrie Infrarouge. En effet, cette méthode analytique donne des informations sur la formule structurale d'un composé **pur** sans devoir recourir à l'analyse chimique.
2. Faire une analyse physico-chimique par microspectrophotométrie Infrarouge (IRTF) afin de déterminer la nature du composé suspecté. Malheureusement par manque de matériel, nous nous sommes retrouvés dans l'obligation de sous-traiter cette partie de notre investigation. C'est ainsi que notre collaboration avec l'entreprise CETIM-Nantes (Centre Technique des Industries Mécaniques, Pôle d'activité « Ingénierie des Polymères et Composites») a commencé.

En comparaison avec les expériences proposées dans les chapitres précédents, ces deux dernières analyses sont les seules qui puissent donner des informations sur la structure exacte du composé brunâtre.



Figure 14 : Photos du prélèvement effectué au niveau des clapets de contre-soufflage (Gauche) et du contenu d'un sachet colmaté (Droite)

- Résultat :

1. Le résultat de la spectroscopie proche infrarouge fait au laboratoire de contrôle qualité du site de Lisieux est résumé en Annexe 8:

En comparant le spectre Infrarouge de l'échantillon prélevé sur les clapets de contre-soufflage aux références disponibles au niveau de la base de données du laboratoire de contrôle qualité, il n'a pas été possible d'identifier le composé marron. En effet, dans la banque de données il n'y avait que des produits utilisés par le site, à savoir, matière première et principe actifs utilisés en production. Donc cette analyse a démontré que l'échantillon à identifier n'était pas un produit pur utilisé sur le site, une réaction chimique a dû se produire lors de la fabrication de la poudre.

2. Un échantillon prélevé sur la matière accumulée au niveau des clapets de contre-soufflage, ainsi qu'un sachet colmaté ont été analysés au CETIM. Les résultats sont les suivants :

Les absorptions du spectre de l'échantillon prélevé sur les clapets de contre-soufflage sont compatibles avec les absorptions retrouvées dans le spectre de l'arôme orange. Les différences observées sont de trop faible intensité pour pouvoir être rapprochées d'un des autres composés analysés. Les spectres IR sont donnés en Annexe 9.

Les absorptions du spectre des sachets colmatés, sont en partie similaires avec les absorptions retrouvées dans le spectre du saccharose. Toutefois d'autres absorptions de forte intensité montrent la présence d'un autre composé dans le résidu. Les absorptions de ce composé ne sont pas compatibles avec les absorptions des autres produits analysés (excipients constituant un sachet). Ces différences se situent essentiellement vers 1750 cm^{-1} (liaison C=O) et entre 1600

cm^{-1} et 1440 cm^{-1} , zone d'absorption des composés aromatiques et ou diéniques. Le CETIM ne possèdant pas de spectre de référence des quinones (qui sont des composés avec plusieurs cycles aromatiques et des liaisons C=O), une comparaison avec le spectre IR des quinones pourrait nous aider à nous prononcer sur la nature du composé brun retrouvé dans les sachets colmatés.

5. Discussion-Conclusion

Ces travaux ont permis de mieux comprendre le phénomène qui se produit dans les sachets de paracétamol, et ont fourni de nouvelles pistes de recherche afin d'identifier la structure chimique exacte du composé brun et surtout de faire des propositions d'amélioration sur le procédé de fabrication des sachets.

Tout d'abord, il a été identifié le temps de rétention de quelque composés suspects, notamment à des TR= 8.51 (impureté liée à l'arôme orange), TR= 29.83 et 43 qui sont des produits de dégradation secondaire du paracétamol et un dernier TR= 7.32 (inconnu). Il serait intéressant de pousser l'analyse jusqu'à l'identification de ces produits et plus particulièrement celui du produit de dégradation lié à l'arôme orange qui a montré un pic largement supérieur à la limite de report dans le sachet couleur+++ ainsi que dans les prélèvements effectués sur les clapets de contre soufflage (d'après le CETIM).

Ensuite, il a été démontré que l'humidité relative et surtout la température de conservation des sachets sont des paramètres critiques dans la dégradation du paracétamol et dans l'apparition de la couleur brune. C'est ainsi que des tests à une température de fabrication de 83°C ont été effectués. Les investigations concernant cette température de fin de séchage, ont montré que des sachets fabriqués à 83°C sont plus stables que ceux fabriqué à 90°C, et permettent par la même occasion de moins stresser la poudre contenue dans le L.A.F. Ainsi, travailler à une température inférieure de fin de séchage représente plusieurs avantages :

- Gain en qualité : Production de sachets plus stables, avec moins de risque d'apparition de la couleur brune, qui est surtout influencée par l'augmentation de la température.
- Gain en temps : actuellement dans l'atelier il est produit deux lots/jour de paracétamol en sachet, et il manque 75 minutes/jour pour pouvoir faire un troisième lot/jour. Or, en travaillant à une température de fin de séchage de 83°C, les opérateurs feront un gain de temps quantifié à 25 min sur les 45 min de séchage et 5 min sur les 35 min de refroidissement. Ce qui fait un gain total

en temps de 30 min par lot et 60 min par jour, il ne reste plus qu'à trouver un moyen de gagner 7 min par lot pour pouvoir faire aisément un troisième lot/jour.

- Gain en énergie : travailler à 83°C permet aussi de faire des économies lors du séchage-refroidissement :

- Gain au niveau de l'échangeur de chaleur :

Lors du séchage, l'air ambiant rentre de l'extérieur des locaux dans l'échangeur et voit sa température augmenter de 20°C à 100°C. Cette étape se fait par un phénomène de transfert de chaleur dans l'échangeur. En effet, travailler à 83°C permet d'arrêter le travail de l'échangeur de chaleur 25 minutes plus tôt, ce qui représente un gain en énergie quantifié par la formule :

$$E \text{ (KJ)} = Q_{\text{air}} \times \zeta_{\text{air}} \times C_{\text{p,air}} \times (T_{\text{sortie}} - T_{\text{entrée}}) \times T_{\text{ps séchage économisé}}$$

Avec :

Q_{air} : Débit volumique de l'air entrant dans l'échangeur de chaleur ($\text{m}^3 \cdot \text{heur}^{-1}$) = 4000

ζ_{air} : Masse volumique de l'air ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$) = 1,2

C_{p,air} : Capacité calorifique de l'air, c'est la quantité d'énergie à apporter par échange thermique pour éléver d'un degré la température de l'unité de masse de l'air (Joule. $\text{K}^{-1} \cdot \text{Kg}^{-1}$) = 1,007

T_{entrée} : température d'entrée de l'air dans l'échangeur (°C) = 20

T_{sortie} : Température de sortie de l'air de l'échangeur (°C) = 100

Temps de séchage économisé = 25 minutes

AN /

$$\text{Le gain en énergie (KJ)} = (4000/3600) \times 1.2 \times 1.007 \times (100-20) \times (25 \times 60) = 160000 \text{ KJ/lot.}$$

- Gain au niveau du ventilateur :

Travailler à 83°C permet aussi d'arrêter le ventilateur 25 mn pendant le séchage et 5 mn pendant le refroidissement, donc l'arrêt du ventilateur pendant 30 mn/lot. La puissance du ventilateur étant de 15 KW, soit :

$$\text{Le gain en énergie (KJ)} = 15 \times 30 \times 60 = 27000 \text{ KJ/lot}$$

Soit un gain total (entre l'arrêt du ventilateur et de l'échangeur de chaleur) quantifié à **187000 kJ/lot**.

Un tel changement ($90^{\circ}\text{C} \Rightarrow 83^{\circ}\text{C}$) est appelé « changement mineur d'un produit fini »⁽⁹²⁾, et entraîne toute une procédure réglementaire vu que cette température de 83°C n'est pas dans l'intervalle fixé par le dossier de lot et le dossier d'autorisation de mise sur le marché (AMM) qui est de 85 à 90°C , il sera nécessaire de faire :

- Un « change control » afin d'évaluer l'impact réglementaire d'un tel changement
- Une validation du procédé
- Des essais de stabilité sur 3 mois.

Et de procéder au dépôt d'une modification pharmaceutique sur dossier auprès de l'AFFSAPS.

Ces travaux ont permis aussi d'identifier les associations d'excipients qui favorisent l'apparition des produits de dégradation et de la couleur dans les sachets. C'est ainsi, que la propriété « accélératrice de dégradation » de l'« arôme orange », « saccharine » et « saccharose », et les propriétés « inhibitrices de dégradation » du benzoate de sodium ont été découvertes. Ces informations peuvent être utiles pour l'usine et notamment sur le nouveau projet de développement de paracétamol « moins de sucre ou sans sucre » ou la recherche d'une nouvelle formule dans laquelle la saccharine serait substituée par un autre édulcorant.

Enfin, concernant le nettoyage du procédé, il a été démontré lors des investigations que les nettoyages se font selon une fréquence satisfaisante. Cela étant, il faudrait penser lors des nettoyages à aspirer la poudre se trouvant au-dessus des filtres et à gratter la matière accumulée sur les clapets de contre soufflage pour éliminer les impuretés liées à l'arôme orange.

Il reste une dernière piste à explorer, à savoir, la réaction de caramélation du sucre (ou de Maillard) qui est favorisée par une température élevée supérieure à 95°C et inférieure à 150°C . Plus la température et le temps de séchage sont élevés, plus la

réaction va être importante (fort brunissement). Or, il est connu que dans les L.A.F, il existe « des points chauds » (endroit du L.A.F où la température augmente plus qu'ailleurs). Sous réserve que la température produit dépasse 95°C, la caramélisaison deviendrait possible. Il serait intéressant de faire des essais de dégradation du sucre à une température $> 95^\circ\text{C}$ et de comparer la couleur obtenue à la couleur des sachets colmatés.

Annexe 1

LES PALIERS DE L'OMS

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a établi une échelle d'emploi des analgésiques selon l'intensité de la douleur évaluée.

L'International Association for the Study of Pain (IASP) préconise la prescription d'opioïdes, d'emblée, pour toute douleur par excès de nociception supérieure à 6 sur l'Échelle Visuelle Analogique (EVA).

Les analgésiques du palier I, parfois appelés « analgésiques périphériques » ou « non morphiniques », ont la puissance antalgique la plus faible

Les analgésiques du palier II sont dits « centraux » ou « morphiniques faibles », car ils sont actifs sur la perception de la douleur au niveau cérébral.

Ils sont utilisés seuls (par exemple le tramadol), ou en association avec les analgésiques de palier I (par exemple codéine-paracétamol).

Les analgésiques du palier III regroupent des agonistes morphiniques forts et des agonistes antagonistes. On distingue le niveau 3a quand les agonistes morphiniques forts sont administrés par voie orale et le niveau 3b quand ils le sont par voie parentérale ou centrale.

Annexe 2

1. POINT DE FUSION – METHODE AU TUBE CAPILLAIRE

Le point de fusion déterminé par la méthode au tube capillaire correspond à la température à laquelle la dernière particule solide de substance introduite dans un tube en colonne compacte passe à l'état liquide.

Si la monographie le prescrit, le même appareil et la même méthode seront utilisés dans la détermination d'autres facteurs tels que la formation du ménisque ou l'intervalle de fusion, qui caractérisent le comportement de fusion d'une substance.

L'appareillage est constitué par :

- * un vase en verre approprié renfermant le liquide du bain (par exemple : eau, paraffine liquide ou huile de silicone) et un dispositif de chauffage approprié,
- * un dispositif d'agitation mécanique convenable assurant une uniformité de la température du bain,
- * un thermomètre adéquat gradué à intervalles ne dépassant pas 0,5 °C muni d'une marque d'immersion. La gamme de températures visible du thermomètre n'est pas supérieure à 100 °C,
- * des tubes capillaires en verre à haute résistance thermique et exempt d'alcali, d'un diamètre intérieur de 0,9 mm à 1,1 mm, à paroi d'une épaisseur de 0,10 mm à 0,15 mm, scellés à une extrémité.

Mode opératoire. Sauf indication contraire, desséchez sous vide et sur gel de silice anhydre R pendant 24 h, la substance finement pulvérisée. Dans un tube capillaire, introduisez-en une quantité suffisante pour former une colonne compacte d'une hauteur de 4 mm à 6 mm. Chauffez jusqu'à obtention d'une température d'environ 10 °C inférieure au point de fusion présumé et réglez ensuite la vitesse de chauffage

à environ 1 °C/min. Dès qu'une température de 5 °C inférieure au point de fusion présumé est atteinte, introduisez correctement le tube capillaire dans l'appareil. Dans le cas du dispositif décrit ci-dessus, placez le tube capillaire de façon que son extrémité scellée se trouve à mi-hauteur du réservoir à mercure et que le repère d'immersion du thermomètre soit au niveau de la surface du liquide. Notez la température à laquelle la dernière particule passe à l'état liquide.

Etalonnage de l'appareil. L'appareil peut être étalonné en utilisant des substances de référence pour point de fusion telles que celles de l'Organisation Mondiale de la Santé ou d'autres substances appropriées.

Annexe 3

2.2.25. SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION DANS L'ULTRAVIOLET ET LE VISIBLE

Détermination de l'absorbance. L'absorbance (A) d'une solution est le logarithme décimal de l'inverse de la transmittance (T) pour un rayonnement monochromatique. Elle s'exprime par l'équation :

$$A = \log_{10}\left(\frac{1}{T}\right) = \log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

$T = I/I_0$,

I_0 = intensité du rayonnement monochromatique incident,

I = intensité du rayonnement monochromatique transmis.

En l'absence d'autres facteurs physico-chimiques, l'absorbance (A) est proportionnelle à l'épaisseur (b) de la couche traversée et à la concentration (c) de la substance dissoute, en accord avec l'équation :

$$A = \epsilon cb$$

ϵ = absorbance molaire, si b est exprimé en centimètres et c en moles par litre.

L'expression $A_{1\text{ cm}}^{\text{pour cent}}$ représentant l'absorbance spécifique d'une substance dissoute, se rapporte à l'absorbance d'une solution à 10 g/l sous une épaisseur de 1 cm à une longueur d'onde déterminée d'où :

$$A_{1\text{ cm}}^{\text{pour cent}} = \frac{10\epsilon}{M_r}$$

Sauf indication contraire, mesurez l'absorbance à la longueur d'onde prescrite sous une épaisseur de 1 cm. Sauf indication contraire, effectuez les mesures par rapport au même solvant ou au même mélange de solvants. L'absorbance du solvant, mesurée par rapport à l'air et à la longueur d'onde prescrite, ne doit en aucun cas dépasser 0,4 et doit être de préférence inférieure à 0,2. Tracez le spectre d'absorption en portant en ordonnée les valeurs d'absorbance ou toute fonction de celle-ci et en abscisse la longueur d'onde ou toute fonction de celle-ci.

Lorsque la monographie donne une seule valeur pour la position d'un maximum d'absorption, il est admis que la valeur obtenue peut s'en écarter de 2 nm.

Appareil. Les spectrophotomètres utilisés pour l'étude des régions ultraviolette et visible du spectre sont constitués par un système optique, susceptible de fournir un rayonnement monochromatique dans la région 200-800 nm, et par un dispositif approprié à la mesure de l'absorbance.

Contrôle des longueurs d'onde. Vérifiez l'échelle des longueurs d'onde en utilisant les maximums d'absorption de la *solution de perchlorate d'holmium R*, la raie de la lampe à hydrogène ou au deutérium ou les raies de l'arc à vapeur de mercure indiqués dans le tableau 2.2.25.-1. La tolérance admise est de ± 1 nm pour la région de l'ultraviolet et de ± 3 nm pour la région du visible. Des matériaux de référence certifiés appropriés peuvent également être utilisés.

Tableau 2.2.25.-1. – Maximums d'absorption pour le contrôle de l'échelle des longueurs d'onde

241,15 nm (Ho)	404,66 nm (Hg)
253,7 nm (Hg)	435,83 nm (Hg)
287,15 nm (Ho)	486,0 nm (Dβ)
302,25 nm (Hg)	486,1 nm (Hβ)
313,16 nm (Hg)	536,3 nm (Ho)
334,15 nm (Hg)	546,07 nm (Hg)
361,5 nm (Ho)	576,96 nm (Hg)
365,48 nm (Hg)	579,07 nm (Hg)

Contrôle de l'absorbance. Contrôlez l'absorbance au moyen de filtres appropriés ou de solution de *dichromate de potassium R* aux longueurs d'onde indiquées dans le tableau 2.2.25.-2. Pour chaque longueur d'onde, la valeur précise et les valeurs limites de l'absorbance spécifique y figurent. Le tableau est basé sur une tolérance admise pour l'absorbance de $\pm 0,01$.

Pour le contrôle de l'absorbance, utilisez des solutions de *dichromate de potassium R* préalablement desséché à 130 °C jusqu'à masse constante. Pour le contrôle de l'absorbance à 235 nm, 257 nm, 313 nm et 350 nm, dissdez une prise d'essai de 57,0-63,0 mg de *dichromate de potassium R* dans de l'*acide sulfurique 0,005 M* et complétez à 1000,0 ml avec le même acide. Pour le contrôle de l'absorbance à 430 nm, dissdez une prise d'essai de 57,0-63,0 mg de substance desséchée dans de l'*acide sulfurique 0,005 M* et complétez à 100,0 ml avec le même acide. Des matériaux de référence certifiés appropriés peuvent également être utilisés.

Limite de lumière parasite. La lumière parasite peut être décelée à une longueur d'onde donnée à l'aide de filtres ou de solutions appropriés ; par exemple, l'absorbance d'une solution de *chlorure de potassium R* à 12 g/l mesurée sous une épaisseur de 1 cm augmente de façon abrupte entre 220 nm et 200 nm et est supérieure à 2,0 à 198 nm, lorsqu'elle est comparée à l'eau comme liquide de compensation. Des matériaux de référence certifiés appropriés peuvent également être utilisés.

Tableau 2.2.25.-2

Longueur d'onde (nm)	Absorbance spécifique $A_{1\text{ cm}}^1$ pour cent	Tolérance maximale
235	124,5	122,9 à 126,2
257	144,5	142,8 à 146,2
313	48,6	47,0 à 50,3
350	107,3	105,6 à 109,0
430	15,9	15,7 à 16,1

Pouvoir de résolution (analyse qualitative). Lorsque la monographie l'exige, effectuez comme suit la mesure du pouvoir de résolution de l'appareil : enregistrez le spectre d'une solution de *toluène R* à 0,02 pour cent V/V dans l'*hexane R*. Le rapport minimal entre l'absorbance au maximum à 269 nm et l'absorbance au minimum à 266 nm est indiqué dans la monographie. Des matériaux de référence certifiés appropriés peuvent également être utilisés.

LARGEUR DE LA FENTE SPECTRALE (analyse quantitative). Pour éviter des lectures erronées dues à la largeur de la fente spectrale, lors de l'utilisation d'un instrument à largeur de fente variable à la longueur d'onde choisie, la largeur de la fente doit être faible par rapport à la demi-largeur de la bande d'absorption mais, en même temps, elle doit être aussi large que possible pour obtenir une valeur élevée de I_0 . Toutefois, la largeur de fente est choisie de telle façon que toute nouvelle diminution de largeur ne modifie pas la lecture de l'absorbance.

Cuves. La tolérance d'épaisseur des cuves utilisées est de $\pm 0,005$ cm. Remplies du même solvant, les cuves destinées à contenir la solution à examiner et le liquide de compensation doivent présenter la même transmittance. Si tel n'est pas le cas, une correction appropriée doit être apportée.

Veuillez soigneusement à l'entretien et au nettoyage des cuves.

SPECTROPHOTOMÉTRIE DÉRIVÉE

La spectrophotométrie dérivée consiste en la transformation d'un spectre d'absorption (ordre zéro) en spectres de dérivée première, de dérivée seconde ou de dérivée d'ordres supérieurs.

Un *spectre de dérivée première* représente le tracé du gradient de la courbe d'absorption (c'est à dire du taux du changement de l'absorbance $dA/d\lambda$) en fonction de la longueur d'onde.

Un *spectre de dérivée seconde* représente la courbe du spectre d'absorption en fonction de la longueur d'onde ($d^2A/d\lambda^2$). La dérivée seconde à la longueur d'onde λ est liée à la concentration selon l'équation suivante :

$$\frac{d^2A}{d\lambda^2} = \frac{d^2A_{1\text{ cm}}^{\text{pour cent}}}{d\lambda^2} \times \frac{c'b}{10} = \frac{d^2A_e}{d\lambda^2} \times \frac{cb}{10}$$

c' = concentration de la substance absorbante, en grammes par litre.

Appareillage. Utilisez un spectrophotomètre satisfaisant aux exigences ci-dessus et équipé d'un module analogique de différenciation à capacitance-résistance ou d'un module numérique ou de tout autre dispositif permettant de produire des spectres dérivés. Certains dispositifs permettant d'obtenir un spectre de dérivée seconde produisent un décalage des longueurs d'onde par rapport au spectre d'ordre zéro, dont il convient de tenir compte si nécessaire.

Pouvoir de résolution. Lorsque la monographie le prescrit, enregistrez la dérivée seconde du spectre d'une solution de *toluène R* à 0,02 pour cent V/V dans le *méthanol R*, en utilisant du *méthanol R* comme liquide de compensation. Le spectre présente un petit extremum négatif situé entre 2 extrema négatifs plus importants, respectivement, à 261 nm et 268 nm, comme le montre la figure 2.2.25.-1. Sauf indication contraire dans la monographie, le rapport A/B (voir figure 2.2.25.-1) n'est pas inférieur à 0,2.

Procédé. Préparez la solution de la substance à examiner, réglez l'appareil conformément aux instructions du fabricant et calculez la teneur de la substance à déterminer selon les instructions de la monographie.

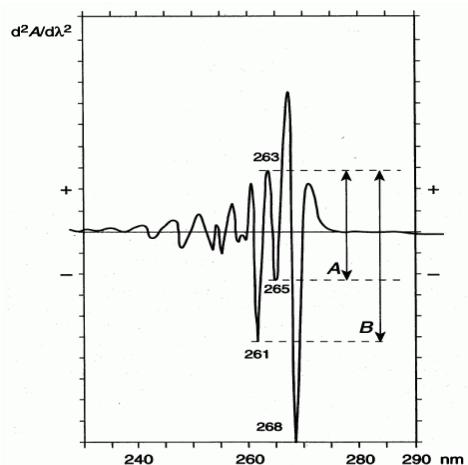


Figure 2.2.25.-1

Annexe 4

2.2.24. SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION DANS L'INFRAROUGE

Les spectrophotomètres infrarouges sont adaptés aux mesures de spectres dans la région de 4000-650 cm⁻¹ (2,5-15,4 µm) ou éventuellement jusqu'à 200 cm⁻¹ (50 µm).

APPAREILLAGE

Les spectrophotomètres utilisés pour l'enregistrement de spectres comprennent une source de lumière appropriée, un monochromateur ou un interféromètre, et un détecteur.

Les spectrophotomètres à transformée de Fourier utilisent un rayonnement polychromatique. Ils effectuent le calcul du spectre dans le domaine de fréquence, à partir des données obtenues, par transformée de Fourier. Des spectrophotomètres munis d'un système optique susceptible de fournir un rayonnement monochromatique dans la région de mesure peuvent également être utilisés. Le spectre est généralement présenté en fonction de la transmittance, c'est-à-dire le rapport de l'intensité du rayonnement transmis à celle du rayonnement incident. Il peut également être présenté en fonction de l'absorbance.

L'absorbance (*A*) est définie comme le logarithme décimal de l'inverse de la transmittance (*T*) :

$$A = \log_{10} \left(\frac{1}{T} \right) = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

$$T = \frac{I}{I_0},$$

I₀ = intensité du rayonnement incident,

I = intensité du rayonnement transmis.

PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

MESURE PAR TRANSMISSION OU ABSORPTION

Préparez la substance en utilisant l'une des méthodes suivantes.

Liquides. Examinez un liquide sous forme d'une pellicule maintenue entre 2 plaques (fenêtres) transparentes aux rayons infrarouges ou dans une cuve d'une longueur de parcours appropriée, également transparente aux rayons infrarouges.

Liquides ou solides préparés sous forme de solution. Préparez une solution dans un solvant approprié ; choisissez une concentration et une longueur de parcours de cuve qui donnent un spectre satisfaisant. Généralement, de bons résultats sont obtenus avec des concentrations de 10-100 g/l pour une longueur de parcours de 0,5-0,1 mm. L'absorption due au solvant doit être compensée par l'introduction dans le faisceau de référence d'une cuve semblable, contenant le solvant utilisé. Dans le cas d'instruments à transformée de Fourier, cette compensation est réalisée par enregistrement successif des spectres du solvant et de l'échantillon. L'absorbance du solvant, corrigée d'un facteur de compensation, est soustraite de celle de l'échantillon à l'aide d'un logiciel de calcul.

Solides. Examinez un solide dispersé soit dans un liquide convenable (pâte), soit dans un solide (pastille d'halogénure). Lorsque la monographie l'indique, utilisez une pellicule de substance fondu entre 2 plaques transparentes aux rayons infrarouges.

A. Pâte

Trituez une petite quantité de substance à examiner avec un minimum de *paraffine liquide R* ou d'un autre liquide approprié ; 5-10 mg de substance à examiner suffisent généralement pour préparer une pâte adéquate avec une goutte de *paraffine liquide R*. Comprimez la pâte entre 2 plaques transparentes aux rayons infrarouges.

B. Pastille

Triturez 1-2 mg de substance à examiner avec 300-400 mg, sauf indication contraire, de *bromure de potassium R* ou de *chlorure de potassium R* finement pulvérisé et desséché. Ces quantités suffisent généralement pour préparer une pastille d'un diamètre de 10-15 mm et obtenir un spectre d'intensité satisfaisante. Si la substance est un chlorhydrate, il est recommandé d'utiliser du *chlorure de potassium R*. Broyez soigneusement le mélange, étendez-le uniformément dans une matrice spéciale et soumettez-le à une pression d'environ 800 MPa ($8 \text{ t} \cdot \text{cm}^{-2}$). Dans le cas des substances instables dans les conditions atmosphériques normales, ou hygroscopiques, la pastille est comprimée sous vide. Plusieurs facteurs, par exemple un broyage insuffisant ou excessif, l'humidité ou d'autres impuretés dans le milieu de dispersion ou une pulvérisation insuffisante, peuvent provoquer la formation de pastilles imparfaites. Une pastille est rejetée lorsqu'un examen visuel révèle un manque d'uniformité dans la transparence ou lorsque la transmittance à environ 2000 cm^{-1} (5 µm), en l'absence d'une bande d'absorption spécifique, est inférieure à 60 pour cent sans compensation, sauf indication contraire.

Gaz. Utilisez une cellule transparente aux rayons infrarouges permettant l'examen de l'échantillon gazeux sur une longueur de parcours optique d'environ 100 mm. Après avoir éliminé l'air de la cellule, reliez celle-ci à l'aide d'un tube adducteur approprié au récipient contenant le gaz à examiner. Ajustez le contenu de la cellule à une pression appropriée, au moyen d'un robinet à biseau ou d'une vanne à aiguille.

Si nécessaire, ajustez le contenu de la cellule à la pression atmosphérique en faisant appel à un gaz transparent aux rayons infrarouges (par exemple l'azote *R* et l'argon *R*). En vue de pallier les interférences d'absorption dues à l'eau, au dioxyde de carbone ou à d'autres gaz atmosphériques, effectuez si possible la mesure par référence à une cellule identique soit vide de tout gaz, soit remplie d'un gaz transparent aux rayons infrarouges.

MESURE PAR RÉFLEXION DIFFUSE

Solides. Triturez un mélange de substance à examiner et de *bromure de potassium R* ou de *chlorure de potassium R* finement pulvérisé et desséché. Utilisez un mélange contenant environ 5 pour cent de la substance, sauf indication contraire. Broyez le mélange, placez-le dans une cupule et examinez le spectre de réflectance. Pour obtenir le spectre d'absorbance de l'échantillon, traitez mathématiquement le spectre obtenu par la fonction de Kubelka-Munk.

MESURE PAR RÉFLEXION TOTALE ATTÉNUÉE

La réflexion totale atténuee (qui comprend la réflexion multiple) repose sur la réflexion interne de la lumière par un milieu transmetteur, généralement avec un certain nombre de réflexions. Il existe cependant des dispositifs dans lesquels ne se produit qu'une seule réflexion.

Préparez la substance comme suit. Placez la substance à examiner en contact étroit avec un élément de réflexion interne (ERI) de type diamant, germanium, sélénite de zinc, bromoiodure de thallium (KRS-5) ou tout autre matériau approprié possédant un indice de réfraction élevé. Veillez à assurer un contact intime et uniforme entre la substance et toute la surface du cristal de l'ERI, soit en appliquant une pression, soit en dissolvant la substance dans un solvant approprié, puis en recouvrant l'ERI avec la solution obtenue et en évaporant à siccité. Examinez le spectre de réflexion totale atténuee.

IDENTIFICATION AU MOYEN DE SUBSTANCES DE RÉFÉRENCE

Préparez la substance à examiner et la substance de référence de la même façon et enregistrez les spectres entre $4000\text{-}650 \text{ cm}^{-1}$ (2,5-15,4 µm) dans les mêmes conditions opératoires. Les minimums de transmission (maximums d'absorption) du

spectre obtenu avec la substance à examiner correspondent en position et en dimensions relatives à ceux du spectre obtenu avec la substance de référence (SCR).

Lorsque l'examen à l'état solide révèle des écarts dans la position des minimums de transmission (maximums d'absorption), traitez la substance à examiner et la substance de référence dans les mêmes conditions de façon qu'elles cristallisent ou se présentent sous la même forme ou opérez comme prescrit dans la monographie, puis enregistrez les spectres.

IDENTIFICATION AU MOYEN DE SPECTRES DE RÉFÉRENCE

Contrôle du pouvoir de résolution. Dans le cas des instruments comportant un monochromateur, enregistrez le spectre d'un film de polystyrène d'une épaisseur d'environ 35 µm. La différence x (voir figure 2.2.24.-1) entre le pourcentage de transmittance au maximum de transmission A à 2870 cm^{-1} (3,48 µm) et celui au minimum de transmission B à $2849,5\text{ cm}^{-1}$ (3,51 µm) doit être supérieure à 18. La différence y entre le pourcentage de transmittance au maximum de transmission C à 1589 cm^{-1} (6,29 µm) et celui au minimum de transmission D à 1583 cm^{-1} (6,32 µm) doit être supérieure à 10.

Dans le cas des instruments à transformée de Fourier, utilisez une résolution convenable avec l'apodisation appropriée indiquée par le fabricant. Vérifiez la résolution par un moyen adéquat, par exemple l'enregistrement du spectre d'un film de polystyrène d'une épaisseur d'environ 35 µm. La différence d'absorbance entre le minimum d'absorption à 2870 cm^{-1} et le maximum d'absorption à $2849,5\text{ cm}^{-1}$ est supérieure à 0,33. La différence d'absorbance entre le minimum d'absorption à 1589 cm^{-1} et le maximum d'absorption à 1583 cm^{-1} est supérieure à 0,08.

Vérification de l'échelle des nombres d'onde. La vérification de l'échelle des nombres d'onde peut être effectuée à l'aide d'un film de polystyrène qui présente des minimums de transmission (maximums d'absorption) aux nombres d'onde (en cm^{-1}) indiqués dans le tableau 2.2.24.-1.

Mode opératoire. Préparez la substance à examiner conformément aux directives accompagnant le spectre ou la substance de référence. Enregistrez le spectre de la substance à examiner dans les mêmes conditions opératoires que celles utilisées pour obtenir le spectre de référence, qui sont habituellement les conditions dans lesquelles le contrôle du pouvoir de résolution a été effectué. Les positions et les dimensions relatives des bandes du spectre de la substance à examiner et du spectre de référence doivent être concordantes.

Compensation pour la vapeur d'eau et le dioxyde de carbone. Dans le cas des instruments à transformée de Fourier, une compensation d'interférence spectrale due à la vapeur d'eau et au dioxyde de carbone atmosphérique est effectuée à l'aide d'algorithmes appropriés, suivant les instructions du fabricant. L'acquisition des spectres peut également être réalisée avec des instruments convenablement purgés ou en veillant à enregistrer dans des conditions exactement identiques les spectres monofaisceau de l'échantillon et du fond.

IMPURETÉS DANS LES GAZ

La recherche des impuretés par cette méthode nécessite l'utilisation d'une cellule transparente au rayonnement infrarouge permettant l'examen du gaz sur une longueur de parcours optique appropriée (par exemple 1-20 m). Remplissez la cellule suivant le procédé indiqué sous Gaz. Procédez à la détection et à la détermination quantitative des impuretés en suivant les instructions données dans la monographie spécifique.

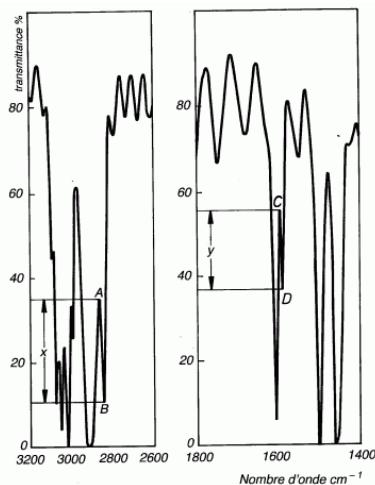


Figure 2.2.24.-1. — Exemple d'un spectre de polystyrène utilisé pour contrôler le pouvoir de résolution

Tableau 2.2.24.-1. — Minimums de transmission et tolérances admises pour un film de polystyrène

Minimums de transmission (cm^{-1})	Tolérances admises (cm^{-1})	
	Instruments monochromateur	à Instruments à transformée de Fourier
3060,0	$\pm 1,5$	$\pm 1,0$
2849,5	$\pm 2,0$	$\pm 1,0$
1942,9	$\pm 1,5$	$\pm 1,0$
1601,2	$\pm 1,0$	$\pm 1,0$
1583,0	$\pm 1,0$	$\pm 1,0$
1154,5	$\pm 1,0$	$\pm 1,0$
1028,3	$\pm 1,0$	$\pm 1,0$

Annexe 5

2.3.1. REACTIONS D'IDENTITE DES IONS ET DES GROUPES FONCTIONNELS

ACÉTYLE

Dans un tube à essai de 18 mm environ de diamètre extérieur et de 180 mm environ de longueur, introduisez 15 mg environ de la substance à examiner ou la quantité prescrite et 0,15 ml d'*acide phosphorique R*. Fermez le tube à essai avec un bouchon portant à l'intérieur un petit tube à essai de 100 mm environ de longueur et de 10 mm de diamètre extérieur. Ce petit tube, rempli d'*eau R*, sert de réfrigérant. Sa paroi extérieure retient une goutte de *solution de nitrate de lanthane R*. Sauf dans le cas de substances difficilement hydrolysables, placez l'appareil dans un bain-marie pendant 5 min, puis retirez le petit tube à essai, prélevez la goutte retenue et mélangez-la sur une plaque à touche avec 0,05 ml d'*iode 0,01 M*. Ajoutez sur le bord de la goutte 0,05 ml d'*ammoniaque diluée R2*. Après 1 min à 2 min, il se développe à la zone limite une coloration bleue devenant peu à peu plus foncée et persistant un certain temps.

Dans le cas de *substances difficilement hydrolysables*, chauffez lentement le mélange sur une flamme nue jusqu'à ébullition, puis continuez d'après les indications données ci-dessus.

Annexe 6

1). Quantités de matière première et proportion contenues dans un sachet :

	Quantités dans un lot (Kg)	Proportions (%)
Paracétamol Cristallisé	75	0,185185185
providone K30	4,8	0,011851852
Sodium Benzoate	1,2	0,002962963
Titane Dioxyde	0,75	0,001851852
Saccharine	3	0,007407407
Arome Orange	15	0,037037037
Monoglycerides Acetyles	4,8	0,011851852
Saccharose Calibre Surfin	300,45	0,741851852
Total	405	1

2). Quantité de matière première utilisée pour constituer le test complet

produits	proportion	quantité (g)
Arome orange	0,038008362	1,140250855
benzoate de Na	0,003040669	0,091220068
saccharine	0,007601672	0,228050171
sucré	0,761307488	22,83922463
paracétamol	0,190041809	5,701254276

3). Quantités de matière première utilisée pour constituer les tests binaires

Produits	Proportion en Arome orange	Quantité d'Arome orange (g)	Quantité de benzoate de Na (g)
Arome orange-benzoate de Na	0,925925926	27,77777778	2,222222222
		Quantité d'Arome orange (g)	
Arome orange-saccharine	0,833333333	25	5
		Quantité d'Arome orange (g)	
Arome orange-sucre	0,047551117	1,426533524	28,57346648
		Quantité d'Arome orange (g)	
Arome orange-paracétamol	0,166666667	5	25
	Proportion en Benzo de Na	Quantité de Benzoate de Na(g)	Quantité de Saccharine (g)
Benzoate de Na-saccharine	0,285714286	8,571428571	21,42857143
		Quantité de Benzoate de Na(g)	
Benzoate de Na-sucre	0,00397812	0,11934361	29,88065639
		Quantité de Benzoate de Na(g)	
Benzoate de Na-paracétamol	0,015748031	0,472440945	29,52755906
	Proportion en Saccharine	Quantité de Saccharine (g)	Quantité de Sucre(g)
Saccharine-sucre	0,009886307	0,296589224	29,70341078
		Quantité de Saccharine (g)	
Saccharine-paracétamol	0,038461538	1,153846154	28,84615385
	Proportion en Sucre	Quantité de Sucre(g)	Quantité de Paracetamol(g)
Sucre-paracétamol	0,800239712	24,00719137	5,99280863

4). Quantités de matière première pour constituer les tests ternaires

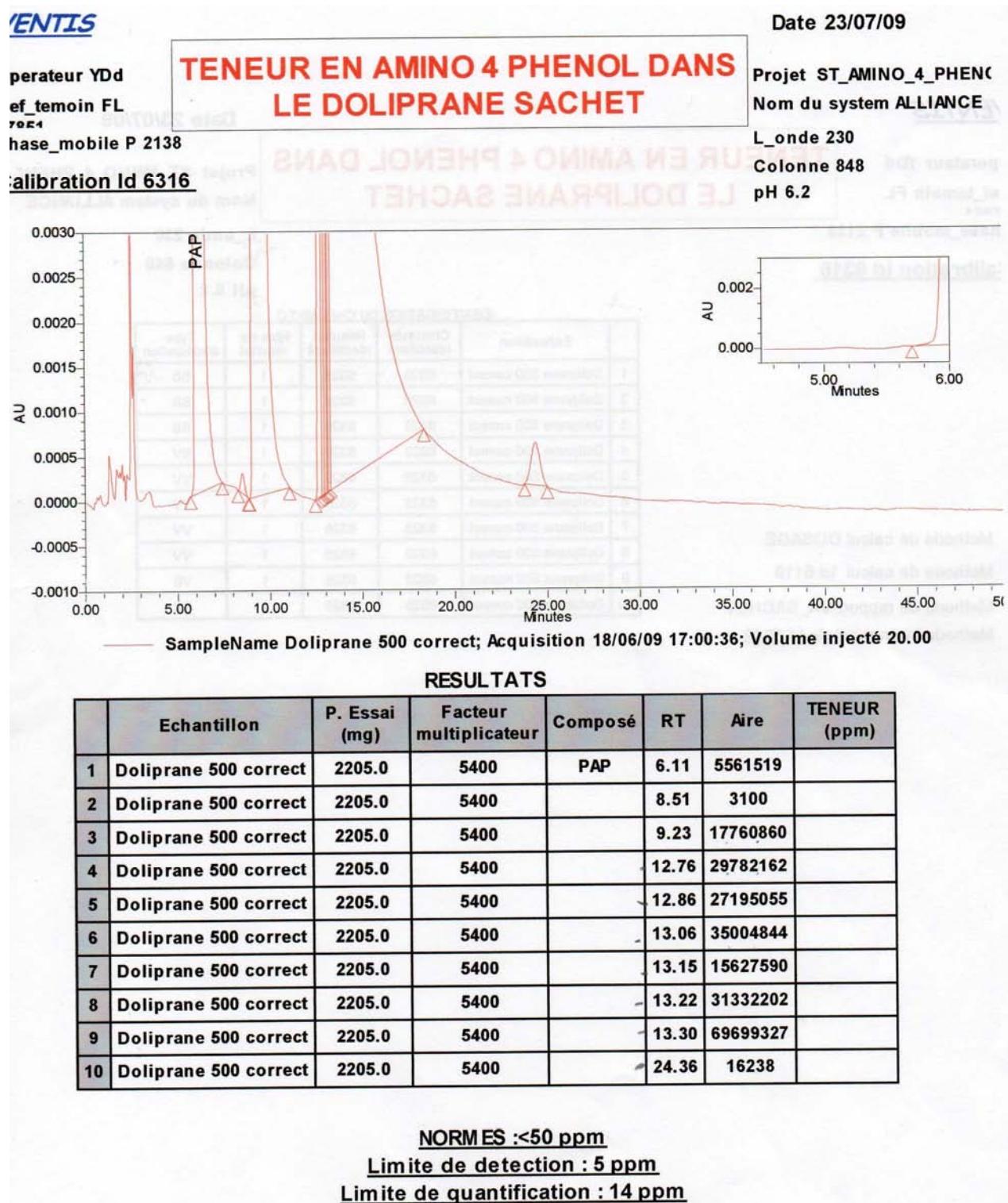
Produits	Proportion en Arome orange	Proportion en Benzo de Na	Quantité d'Arome orange (g)	Quantité de benzoate de Na (g)	Quantité de Saccharine (g)
Arome orange-benzo-saccharine	0,78125	0,0625	23,4375	1,875	4,6875
			Quantité d'Arome orange (g)	Quantité de benzoate de Na (g)	Quantité de Sucre(g)
Arome orange-benzo-sucre	0,047370914	0,003789673	4,934210526	0,113690194	24,95209928
			Quantité d'Arome orange (g)	Quantité de benzoate de Na (g)	Quantité de Paracétamol(g)
Arome orange-benzo-paracetamol	0,164473684	0,013157895	4,934210526	0,394736842	24,67105263
		Proportion en Saccharine	Quantité d'Arome orange (g)	Quantité de Saccharine (g)	Quantité de Sucre(g)
Arome orange-saccharine-sucre	0,047103156	0,009420631	1,413094677	0,282618935	28,30428639
			Quantité d'Arome orange (g)	Quantité de Saccharine (g)	Quantité de Paracétamol(g)
Arome orange-saccharine-paracétamol	0,161290323	0,032258065	4,838709677	0,967741935	24,19354839
		Proportion en Sucre	Quantité d'Arome orange (g)	Quantité de Sucre(g)	Quantité de Paracétamol(g)
Arome orange-sucre-paracétamol	0,038417211	0,769496735	1,152516327	23,08490204	5,762581637
	Proportion en Benzo de Na	Proportion en Saccharine	Quantité de Benzoate de Na(g)	Quantité de Saccharine (g)	Quantité de Sucre(g)
Benzo-saccharine-sucre	0,003938946	0,009847366	0,11816839	0,295420975	29,58641064
			Quantité de Benzoate de Na(g)	Quantité de Saccharine (g)	Quantité de Paracétamol(g)
Benzo-saccharine-paracétamol	0,015151515	0,037878788	0,454545455	1,136363636	28,40909091
		Proportion en paracétamol	Quantité de Benzoate de Na(g)	Quantité de Paracétamol(g)	Quantité de Sucre(g)
Benzo-sucre-paracétamol	0,003185982	0,199123855	0,09557945	5,973715651	23,9307049
	Proportion en Saccharine		Quantité de Saccharine (g)	Quantité de Paracétamol(g)	Quantité de Sucre(g)
Saccharine-sucre-paracétamol	0,007927071	0,198176774	0,237812128	5,94530321	23,81688466

5). Quantité de matière première pour constituer les tests quaternaires

Produits	Proportion en Arome orange	Proportion en Benzo de Na	Proportion en saccharine	Quantité d'Arome orange (g)	Quantité de benzoate de Na (g)	Quantité de Saccharine (g)	Quantité de sucre (g)
Arome orange-benzo-saccharine-sucre	0,046926326	0,003754106	0,009385265	1,40778977	0,112623182	0,281557954	28,19802909
				Quantité d'Arome orange (g)	Quantité de benzoate de Na (g)	Quantité de saccharine(g)	Quantité de paracétamol (g)
Arome orange-benzo-saccharine-paracetamol	0,159235669	0,012738854	0,031847134	4,777070064	0,382165605	0,955414013	23,88535032
	Proportion en benzoate de NA	Proportion en Saccharine	proportion en sucre	Quantité de benzoate de Na(g)	Quantité de saccharine (g)	Quantité de sucre(g)	Quantité de paracétamol(g)
Benzo-saccharine-sucre-paracétamol	0,003160806	0,007902015	0,791386804	0,09482418	0,23706045	23,74160411	5,92651126
	Proportion en Arome orange	Proportion en benzoate	Proportion en paracetamol	Quantité d'Arome orange (g)	Quantité de benzoate de Na (g)	Quantité de paracétamol(g)	Quantité de Sucre (g)
Arome orange-benzo-paracetamol-sucre	0,038299502	0,00306396	0,191497511	1,148985063	0,091918805	5,744925316	23,01417082
		proportion en paracetamol	proportion en saccharine	Quantité d'Arome orange (g)	Quantité de paracétamol (g)	Quantité de saccharine(g)	Quantité de Sucre (g)
Arome orange-paracetamol-saccharine-sucre	0,038124285	0,190621426	0,007624857	1,143728555	5,718642775	0,228745711	22,90888296

Annexe 7

1). Chromatogrammes des sachets d'aspect correct



2). Chromatogramme des sachets (couleur +)

ENTIS

opérateur YDd

ef_témoin

1470E4

base_mobile P2138

alibration Id 6316

TENEUR EN AMINO 4 PHENOL DANS LE DOLIPRANE SACHET

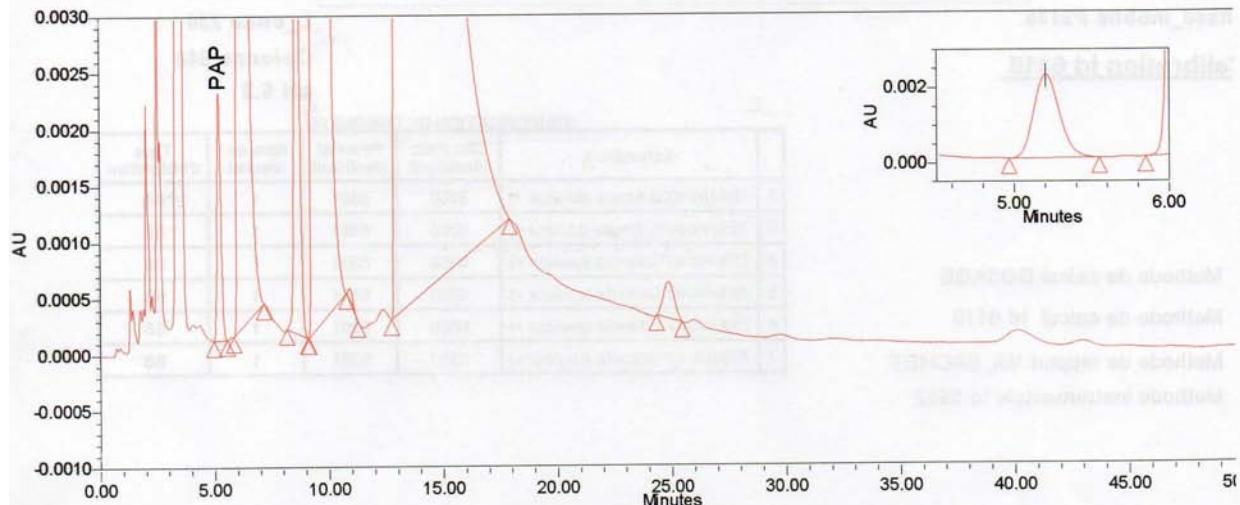
Date 23/07/09

Projet ST_AMINO_4_PHENC
Nom du system ALLIANCE

L onde 230

Colonne 848

pH 6.2



SampleName 75%HR/40°C/6mois (couleur +); Acquisition 18/06/09 21:25:59; Volume injecté 20.00

RESULTATS

	Echantillon	P. Essai (mg)	Facteur multiplicateur	Composé	RT	Aire	TENEUR (ppm)
1	75%HR/40°C/6mois (couleur +)	442.6	5400	PAP	5.21	25416	
2	75%HR/40°C/6mois (couleur +)	442.6	5400		6.17	4512913	
3	75%HR/40°C/6mois (couleur +)	442.6	5400		8.63	75824 ←	
4	75%HR/40°C/6mois (couleur +)	442.6	5400		9.43	16824650	
5	75%HR/40°C/6mois (couleur +)	442.6	5400		10.97	1715	
6	75%HR/40°C/6mois (couleur +)	442.6	5400		13.05	216656154	
7	75%HR/40°C/6mois (couleur +)	442.6	5400		24.85	10640	

NORMES :<50 ppm

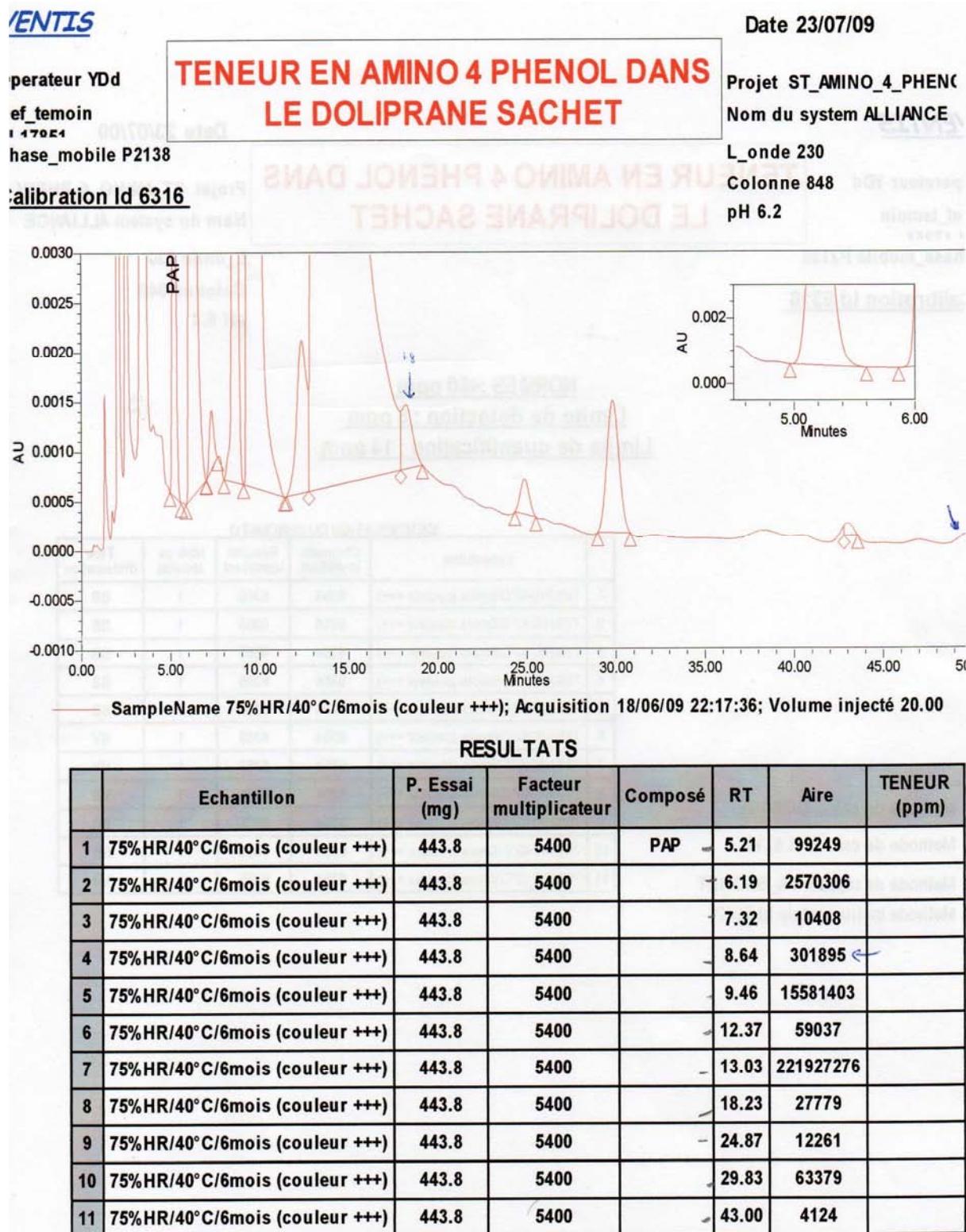
Limite de détection : 5 ppm

Limite de quantification : 14 ppm

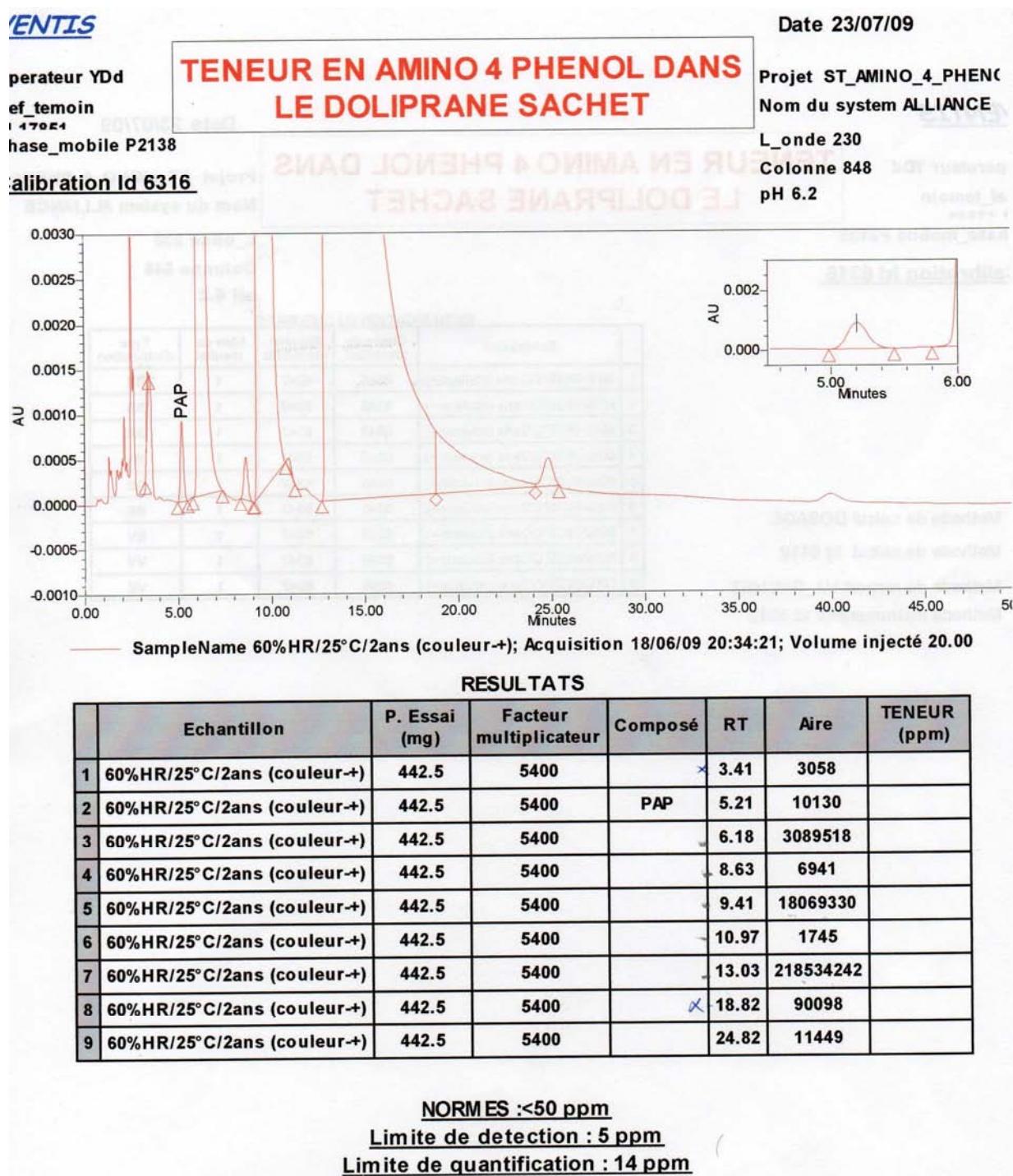
IDENTIFICATION DU CHROMATO

	Echantillon	Chromato identifiant	Résultat identifiant	Nbre de résultat	Type d'intégration
1	75%HR/40°C/6mois (couleur +)	6350	6351	1	BB

3). Chromatogramme des sachets (couleur +++)



4). Chromatogramme des sachets (couleur +-)



Annexe 8

Spectre IR de l'échantillon prélevé en haut du L.A.F

CONTROLE DE QUALITE IR/FT

Le meilleur coefficient de correlation est 0.9806

Ce coeff. est superieur au seuil d'acceptation qui est 0.9000

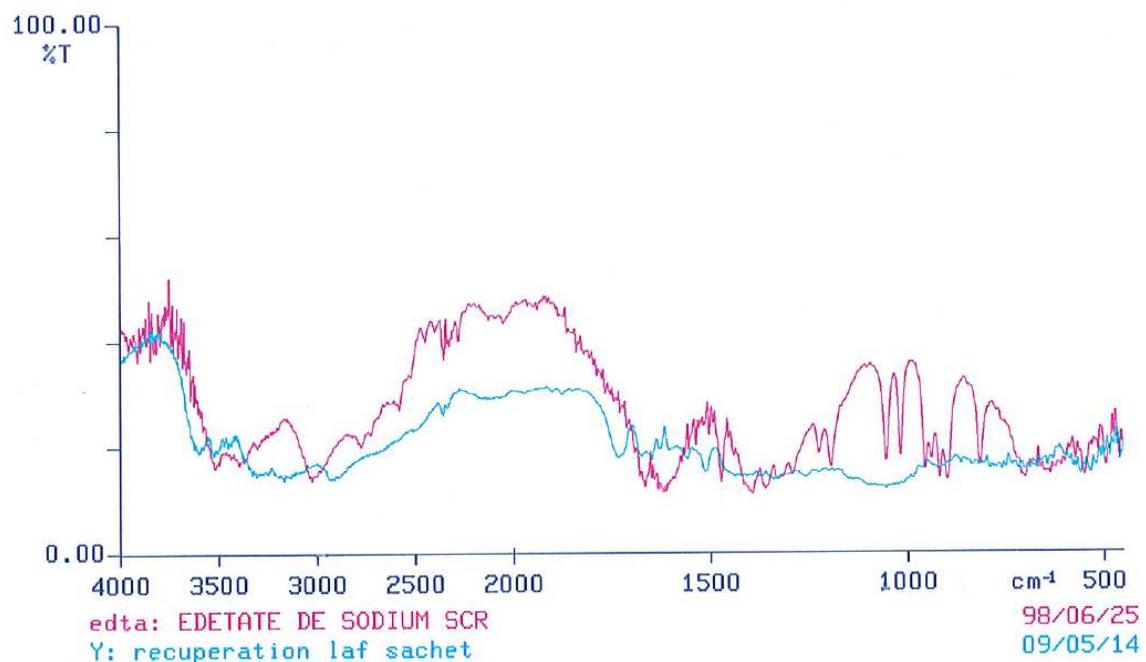
Vous pouvez accepter le produit.

| ECHANTILLON IDENTIFIE |

NOM DE L'OPERATEUR :

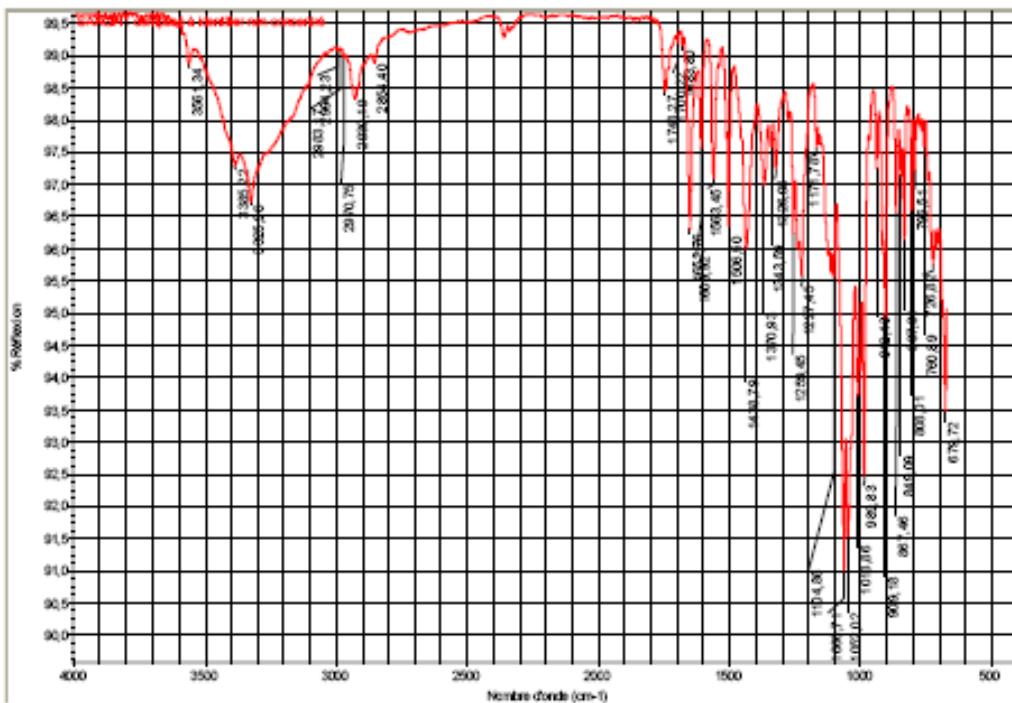
09/05/14 16:48:34

PERKIN ELMER

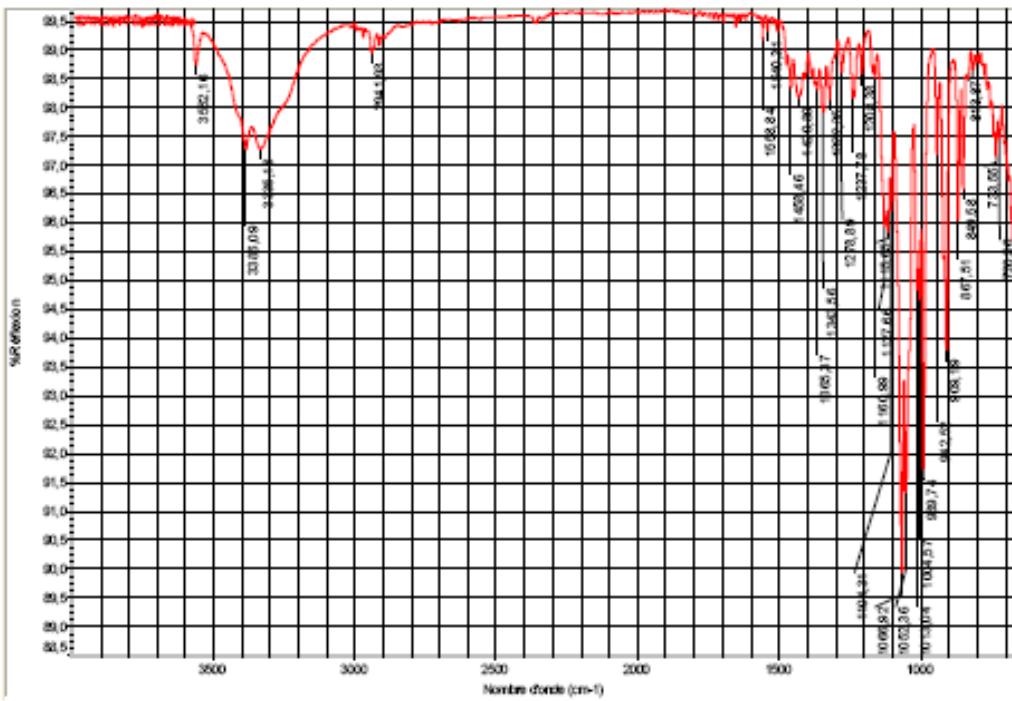


Annexe 9

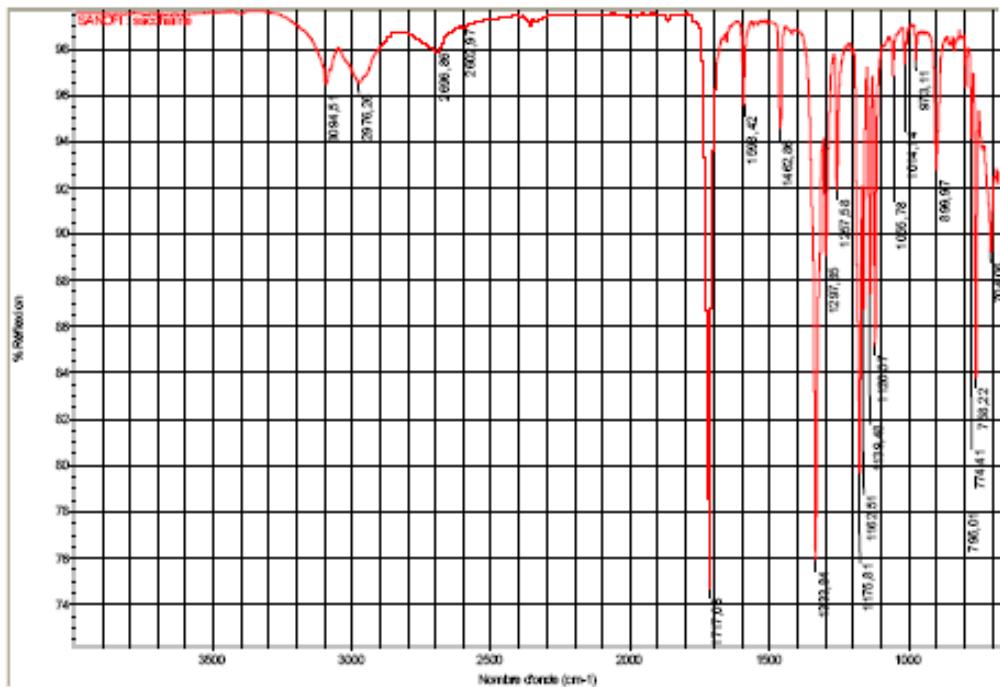
1). Spectre Infrarouge du sachet colmaté



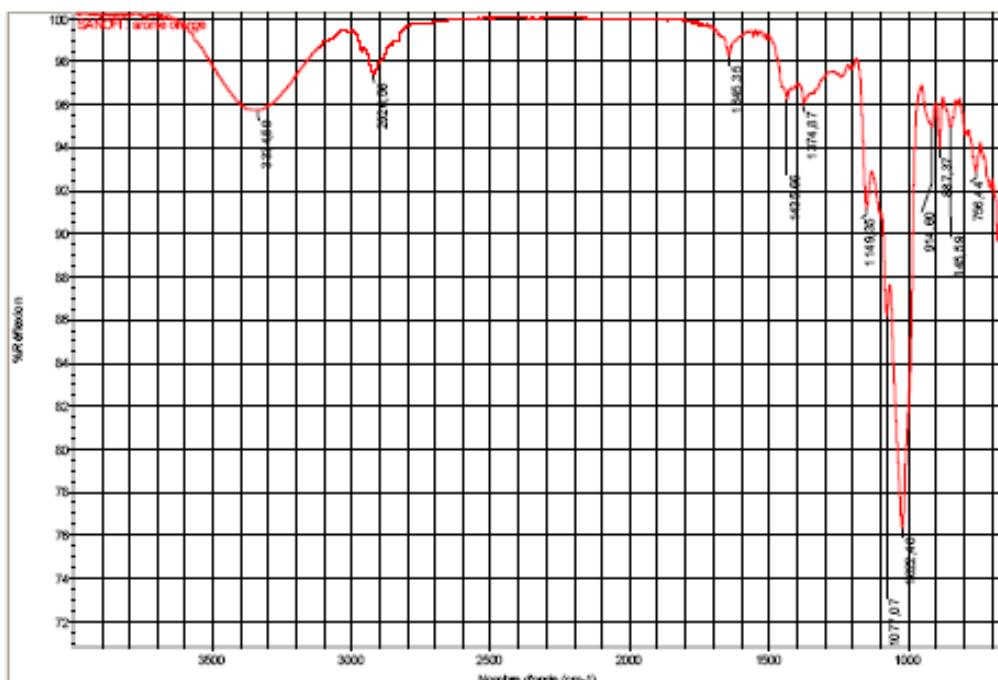
2). Spectre infrarouge du saccharose



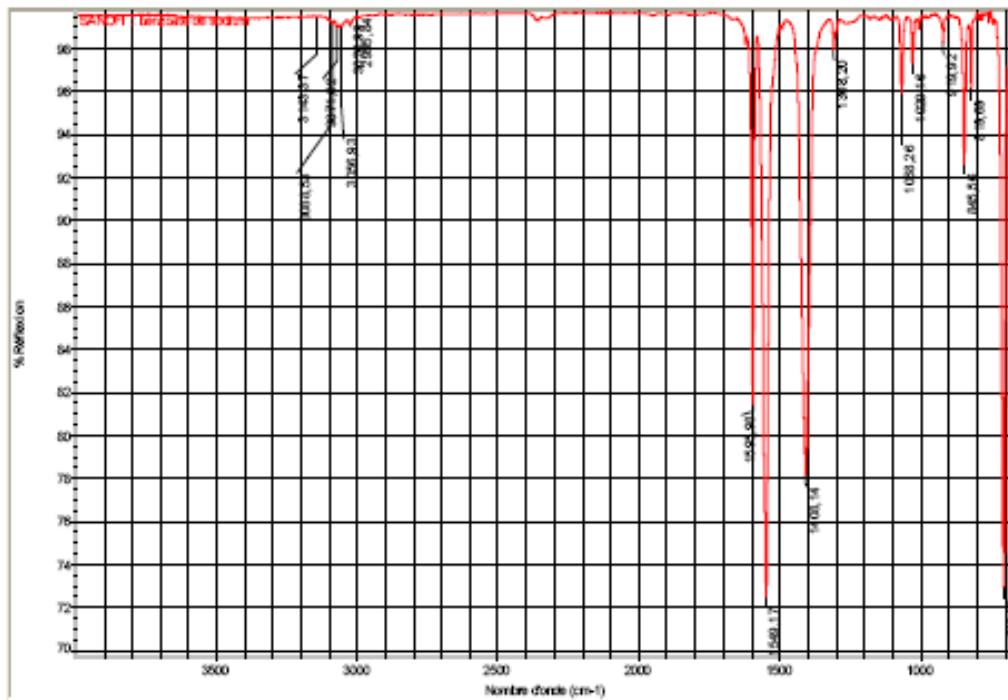
3). Spectre infrarouge de la saccharine



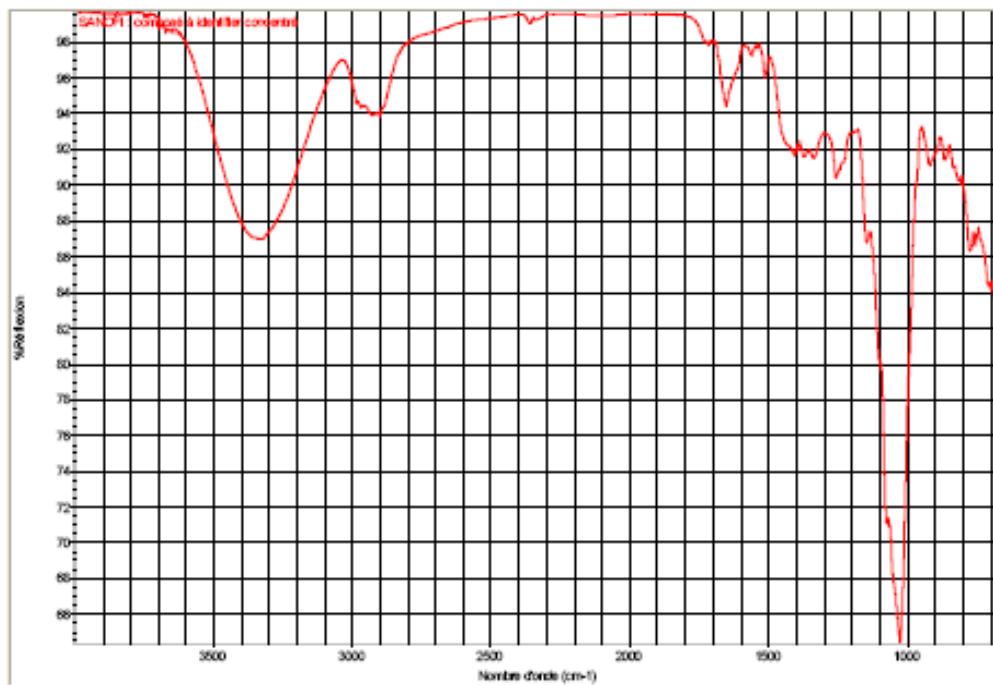
4). Spectre infrarouge de l'arome orange



5). Spectre infrarouge du benzoate de sodium



6). Spectre infrarouge du prélèvement marron (sur les clapets de contre-soufflage)



Bibliographie

1. Antoine T. Suivi de lancement d'un nouvel antalgique de palier 2 : association fixe de Paracétamol-Tramadol. Th : Docteur en pharmacie, Faculté de medecine et de pharmacie Besançon ; 2005 ; n°25-05-17, 158 p.
2. Paracetamol. Pharmacopée Européenne. 5^{ème} ed. 2004.
3. Pharmacopée Française 10éme édition. Monographie : Paracetamol.
4. Lechat P., Lagier G. and Boiteau J. Le paracétamol. Thérapie, 1978, 33 (5), pp. 551-585.
5. Fairbrother J.E. Acetaminophen. Analytical Profiles of Drug Substances. 1974, 3, pp. 1-109.
6. Koshy K.T. and Lach J.L. Stability of aqueous solutions of N-acetyl-p-aminophenol. J. Pharm. Sci., 1961, 50 (2), pp. 113-118.
7. Fogg Q.G and Summan A.M. Stabilisation by éthylènediamine tétraacetic acid of amid and other groups in drug compound. J. Clin. Pharm. Ther., 1992, 17, pp. 107-109.
8. Dahlin D and Nelson S.D. Synthesis, decomposition kinetics, and preliminary toxicological studies of pure N-acetyl-p-benzoquinone imine, a proposed toxic metabolite of acetaminophen. J. Med. Chem., 1982, 25, pp. 885-886.
9. Informations du laboratoire Rhône-Poulenc Rorer GmbH cologne Doliprane® 500 Quicktabs. Data for industrialization. 1997. pp 12.

10. Heading R.C., Nimmo J., Prescott L.F. and Tothill P. The dependence of paracetamol absorption on the rate of gastring emptying. Br. J. Pharmacol., 1973, 47, pp. 415-421.
11. Bengall W.E., Kelleher J., Walker B.E. and Losowsky M.S. The gastrointestinal absorption of paracetamol in the rat. J. Pharm. Pharmacol., 1979, 31, pp. 157-160.
12. Hammond P.M., Scawen M.D. and Paice C.P. Enzyme based paracetamol estimation. Lancet, 1981, 8216, pp. 391-392.
13. Glynn J.P. and Kendal S.E. Paracetamol measurement. Lancet, 1975, 1, pp. 1147-1148.
14. Chiou W.L. Estimation of hepatic first-passeffect of acetaminophen in humans after oral administration. J. Pharm. Sci., 1975, 64 (10). pp. 1734-1735.
15. Nimmo W.S., Heading R.C., Wilson J., Tothill P. and Prescott L.F. Inhibition of gastric emptying and drug absorption by narcotic analgesics. Br. J. Clin. Pharmacol., 1975, 2, pp. 509-513.
16. Lavarenne A. Paracetamol et phénacétine: pharmacologie Clinique. Théorie et pratique thérapeutiques, 1981, 6, pp. 63-71.
17. Mac Gilveray I.J. and Mattok G.L. Some factors affecting the absorption of paracetamol. J. Pharm. Pharmacol., 1972, 24, pp. 615-619.
18. Nimmo W.S. and Prescott L.F. The influence of posture on paracetamol absorption. Br. J. Clin. Pharmacol., 1978, 5, pp. 348-354.
19. Marcia D., Greenblatt D.J. and Rabernethy A.D. Effect of food on acetaminophen absorption in young and elderly subjects. J. Clin. Pharmacol., 1982, 22, pp. 571-576.

20. Bajorek P., Widdop B. and Volans G. Lack of inhibition of paracetamol absorption by codeine. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1978, 5, pp. 346-347.
21. Bannwarth B. and Pehourcq F. Bases pharmacologiques de l'emploi du paracetamol : aspects pharmacocinétiques et pharmacodynamiques. *Drugs*, 2003, 63 (2), pp. 5-13.
22. Rawlins M.D., Henderson D.B. and Hijab A.R. Pharmacokinetics of acetaminophen after intravenous and oral administration. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 1977, 11, pp. 283-286.
23. Cardot J.M., Aiache J.M., Renoux R. and Kantelip J.P. Correlation entre les taux salivaires et les taux plasmatiques de paracetamol ; intérêt pour les études de biodisponibilité. *S.T.P. Pharm.*, 1985, 1 (2), pp. 114-120.
24. Gazzard B.G., Ford-Hutchinson A.W., Smith M.J.H. and William S.R. The binding of paracetamol to plasma proteins of man pig. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1973, 25, pp. 964-967.
25. Moreau X., Le Quay L., Granny J.-C., Boishardy N. and Delhumeau A. Pharmacocinétique du paracétamol dans le liquide céphalorachidien de sujets âgés. *Thérapie*, 1993, 48, pp. 393-396.
26. Prescott L.F. Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin. *Br. J. Clin. Pharmac.*, 1980, 10, pp. 291-298.
27. Aronoff D.M., Oates J.A. and Boutaud O. New insights into the mechanism of action of acetaminophen: Its clinical pharmacologic characteristics reflect its inhibition of the two prostaglandin H₂ synthases. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2006, 79 (1), pp. 9-19.

28. Miller R.P., Roberts R.J., and Fischer L.J. Acetaminophen elimination kinetics in neonates, children and adults. *Clin. Pharmac. Therap.*, 1976, 19, pp. 284-294.
29. Graham G.G. and Scott K.F. "Mechanism of action of paracetamol". *American journal of therapeutics*, 2005, 12 (1), pp. 46–55.
30. Keck G. Toxicité et effets indésirables des antiinflammatoires non stéroïdiens. Etude des cas rapportés au CNITV. *Rec. Med. Vét. Spéciale antiinflammatoires*, 1992, 168 (57), pp. 615-620.
31. Poletti V. Les intoxications medicamenteuses aigues chez les carnivores domestiques : présentation des données épidémiologiques du CNITV d'Alfort et analyse des intoxications les plus fréquentes.. Th : Vet : ENVA : 1996 ; 045. 129 p.
32. Knight T.R., Fariss M.W., Farhood A. and Jaeschke H. Role of lipid peroxidation as a mechanism of liver injury after acetaminophen overdose in mice. *Toxicol Sci.*, 2003, 76(1), pp. 229-236.
33. Brandt K. Le paracétamol dans le traitement des douleurs arthrosiques. *Drugs*, 2003, 63 (2), pp. 23-41.
34. Buckley N. A., whyte I. M., O'Connell D. L. and Dawson A. H. Oral or intravenous N-acetylcysteine : which is the treatment of choice for acetaminophen (paracetamol) poisoning . *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, 1999, 37 (6), pp. 759-767.
35. Dong H., Haining R.L., Thummel K.E., Rettie A.E. and Nelson S.D. Involvement of human cytochrome P450 2D6 in the bioactivation of acetaminophen. *Drug Metab. Dispos.*, 2000, 28 (12), pp. 1397–400.

36. Clements J.A., Critchley J.A.J.H. and Prescott L.F. The effect of dose on the pharmacokinetics and absolute bioavailability of oral paracetamol. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1983, 35, pp. 11.
37. Informations thérapeutiques Upsa : Le paracetamol
38. Montgomery C.J., Mc Cormack J. P., Reichert C.C. and Marsland C. P. Plasma concentrations after high-dose (45 mg.kg⁻¹) rectal acetaminophen in children. *Can. J. Anaesth.*, 1995. 42 (11), pp. 982-986.
39. Prescott L.F. Nouvelles perspectives avec le paracétamol. *Drugs*, 2003, 63 (2), pp. 51-56
40. Moris M.E. and Levy G. Renal clearance and serum protein binding of acetaminophen and its major conjugates in humans. *J. Pharm. Sci.*, 1984, 73 (8), pp. 1038-1041.
41. Ellis F. Paracetamol: a curriculum resource. Cambridge: Royal Society of Chemistry. 2002.
42. Cummings A.J., King M.L. and Martin B.K. A kinetic study of drug elimination : the excretion of paracetamol and its metabolites in man. *Br. J. Pharm. Chem.*, 1967, 29, pp. 150-157.
43. Bonnefont J., Courade J.P., Allaoui A. and Eschalier A. Mécanismes de l'action antinociceptive du paracétamol. *Drugs*, 2003, 63 (2), pp. 1-4.
44. Brodie B.B. and Axelrod J. The fate of acetanilide in man. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1948, 94 (1), pp. 29–38.
45. Flinn F.B. and Brodie B.B. The effect on the pain threshold of *N*-acetyl *p*-aminophenol, a product derived in the body from acetanilide. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1948, 94 (1), pp. 76–77.

46. Schwab J.M., Schluesener H.J., Meyermann R. and Serhan C.N. COX-3 the enzyme and the concept: steps towards highly specialized pathways and precision therapeutics? Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. Lancet, 2003, 69, pp. 339–343.
47. Flower R.J. and Vane J.R. Inhibition of prostaglandin synthetase in brain explains the anti-pyretic activity of paracetamol (4-acetaminophenol). Nature, 1972, 240, pp. 410-411.
48. Roberts L.J. and Marrow J.D. Analgesic-antipyretic and Antiinflammatory Agents and Drugs Employed in the Treatment of Gout". Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 2001, 10, pp. 687-731.
49. Chandrasekharan N.V., Dai H., Turepu Ross L.K., Evanson N.K., Tomsik J., Elton T.S. and Simmons D.L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic /antipyretic drugs : Cloning, structure, end expression. Proc Natl Acad Sci (USA), 2002, 99, pp. 13926-13931.
50. Kis B., Snipes J.A. and Busija D.W. Acetaminophen and the cyclooxygenase-3 puzzle: sorting out facts, fictions, and uncertainties. J. Pharmacol. Exp. Ther., 2005, 315 (1), pp. 1–7.
51. Henney K. and Dudley B. (1939). Handbook of Photography . Whittlesey House. pp. 324
52. Ing K.R. Y a-t-il un rationnel à combiner le paracétamol et un AINS. Diplôme d'études supérieures spécialisées en pharmacie hospitalière, Genève, 2007, 135 p.
53. Warner T.D. and Mitchell J.A. Cyclooxygenases : new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. J. Faseb, 2004, 18, pp. 780-804.

54. Remy C., Marret E. and Bonnet F. Évaluation et traitement de la douleur. Elsevier, 2006, pp. 639-648.
55. Mitchell J. A., Akarasereenont P., Thiemeermann C., Flower R. J. and Vane J. R. Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, 90 (24), pp. 11693-11697.
56. Roca-Vinardell A., Ortega-Alvaro A., Gibert-Rahola J. and Micó J. The role of 5-HT1A/B autoreceptors in the antinociceptive effect of systemic administration of acetaminophen. *Anesthesiology*, 2003, 98(3), pp. 741-747.
57. Bonnefont J., Alloui A. and Chapuy E. Orally administered paracetamol does not act locally in the rat formalin test: evidence for a supraspinal, serotonin-dependent antinociceptive mechanism. *Anesthesiology*, 2003, 99, pp. 976-978.
58. Tjolsen A., Lund A. and Hole K. Antinociceptive effect of paracetamol in rats is partly dependent of spinal serotonergic systems. *Eur. J. Pharmacol.*, 1991, 193, pp. 193-201.
59. Ottani A., Leone S., Sandrini M., Ferrari A. and Bertolini A. The analgesic activity of paracetamol is prevented by the blockade of cannabinoid CB1 receptors. *Eur J Pharmacol.* 2006, 531 (1-3), pp. 280-281.
60. Graham G.G. and Scott K.F. Mechanism of action of paracetamol". *Amer. J. of ther.*, 2005, 12 (1), pp. 46-55.
61. Harvison P.J., Egan R.W., Gale P.H. and Nelson S.D. Acetaminophen as a cosubstrate and inhibitor of prostaglandin H synthase". *Adv. Exp. Exp. Med. Med. Biol.*, 1986, 197, pp. 739-747.

62. Ohki S., Ogino N., Yamamoto S. and Hayaishi O. Prostaglandin hydroperoxidase, an integral part of prostaglandin endoperoxide synthetase from bovine vesicular gland microsomes". J. Biol. Biol. Chem., 1979, 254 (3), pp. 829-836.
63. Travis A.S. Manufacture and uses of the anilines: A vast array of processes and products. Zvi Rappoport. *The chemistry of Anilines* Wiley. 2007, 1, pp. 764.
64. Prescott L.F. Nouvelles perspectives avec le paracétamol. Drugs, 2003, 63 (2), pp. 51-56.
65. Merrill G.F. Acetaminophen and low flow myocardial ischemia: efficacy and antioxydant mechanisms. Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol., 2002, 282, pp. 1341-1349.
66. Prescott L.F. Paracetamol: past, present, and future. Am. J. Ther., 2000, 7, pp. 143-147.
67. Schück S. and Allain H. La douleur : moyens et stratégies thérapeutiques. La Revue du Praticien, 1997, 47, pp. 555-569.
68. Skelbred P., Album B. and Lokken P. Acetylsalicylic acid vs paracetamol : effects on post-operative cours. Europ. j. clin. Pharmacol., 1977, 12, pp. 257-264.
69. Raybaud H. Fièvre de l'enfant et du nourrisson, www.esculape.com.
70. Schneider F., Hasselmann M. and Kummerlen C. Le paracétamol : produit analgésique, antipyrrétique sans action anti-inflammatoire. La revue du praticien- Médecine générale, 1989, 54, pp. 9-13.
71. Vidal 1994. Paris : Ed. du Vidal, 1994, 1900 p.

72. Paracétamol Sandoz 500 mg, gélule. Résumé des caractéristiques du produit, 2006.
73. Prescott L.F. Paracetamol, alcohol and the liver. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2000b, 49, pp. 291-301.
74. Dart R.C. and Bailey E. Does therapeutic use of acetaminophen cause acute liver failure. *Pharmacotherapy*, 2007, 27, pp. 1219-1230.
75. Lawrence J. Paracetamol as a risk factor for allergic disorders. *The Lancet*, 2009, 373, pp.119–121.
76. Moling O., Cairon E., Rimenti G., Rizza F., Pristerá R. and Mian P. Severe hepatotoxicity after therapeutic doses of acetaminophen. *Clin. Ther.*, 2006, 28 (5), pp. 755-760.
77. Daly F.F., Fountain J.S., Murray L., Graudins A. and Buckley N.A. Guidelines for the management of paracetamol poisoning in Australia and New Zealand- explanation and elaboration. A consensus statement from clinical toxicologists consulting to the Australasian poisons information centres. *Med. J. Aust.*, 2008, 188, pp. 296-301.
78. Geaham G.G., Graham R.I. and Day R.O. Comparative analgesia, cardiovascular and renal effects of celecoxib. Rofecoxib and acetaminophen (paracetamol). *Curr. Pharm. Des.*, 2002, 8, pp. 1063-1075.
79. Flaks A and Flaks B. Induction of liver cell tumors in 1 F mice by paracetamol. *Carcinogenesis*, 1983, 4, pp. 363-368.
80. Flaks A., Flaks B. and Shaw A.P.W. Induction by paracetamol of bladder and liver tumors in the rat. *Acta. Pathol. Microbio. Immunol. Scand. Section A*, 1985, 93, pp. 376-377.
81. Hasegawa R., Furukawa F. and Toyoda K. Studie for tumor initiating effect of acetaminophen in two stage liver carcinogenesis of male F 344 rats. *Carcinogenesis*, 1988, 9, pp. 755-759.

82. Freidman G.D. and Ury G.K. Initial sceening for carcinogenicity of commonly used drugs. J. natl. cancer instit., 1980, 65, pp. 723-733.
83. Bottu Laboratoire. Doliprane : tératogénése, fonctions de reproduction mutagénése. Nanterre : Division synthemedica, 1982.
84. Lechat P. and Kisch R. Le paracetamol : actualisation des données en 1989. Therapie, 1989, 44, pp. 337-354.
85. Bronstein A.C. and Rumack B.H. Acute acetaminophen overdose during pregnancy : review of fifty nine cases. annual scientific meeting. San Diego, 1984.
86. Dybing E., Holme J.A., Gordon W.P., Soderlund E.J., Dahlin D.C. and Nelson S.D. Genotoxicity studies with paracetamol. Mutat. Res., 1984, 138, pp. 21-32.
87. Shen W., Kamendulis L.M., Ray S.D. and Corcoran G.B. Acetaminophen induced cytotoxicity in cultured mouse hepatocytes : correlation of nuclear Ca⁺² accumulation and early fragmentation with cell death. Toxicol. Appl. Pharmacol., 1992, 111, pp. 242-254.
88. Lubek B.H., Avaria M., Basu P. and Wells P.G. Pharmacological studies on the in vitro cataractogenocity of acetaminophen in mice and rabbits. Fundam. appl. toxicol., 1988, 10, pp. 596-606.
89. Le van D., Marciniak R., Wach P. and Grillat J.P. Choc anaphylactoide au paracetamol, Anales médicales de Nancy et de l'Est, 1989, 28, pp. 221-222.
90. Dussarat G.V., Dalger J., Mafart B and Chagnon A. Prupura vasculaire au paracetamol : une observation, La presse médicale, 1988, pp. 1587-1592.
91. Lemoigne F. Toxicité et effets indésirables du paracetamol à doses thérapeutiques et sub-thérapeutiques. Th : Doctorat en pharmacie, U.E.R. des sciences médicales et pharmaceutiques, Université d'Angers, 1992, 163 p.

92. Journal officiel de la république française. Décrets, arrêtés, circulaires, textes généraux, ministère des solidarités, de la santé et de la famille, Arrêté du 7 mars 2005 portant application de l'article R. 5121-41-2 du code de la santé publique et relatif aux modifications des autorisations de mises sur le marché, 2005, 19 p.

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 7 Décembre 2009

**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIE**

présenté par DRIAD Yacine

Sujet : Stabilité du paracétamol : Application à un sachet produit en industrie pharmaceutiqueJury :

Président :

Professeur Ph. Maincent

Juges :

Docteur C. Zinutti, Maître de conférences
Madame C. Paulus, Pharmacien-Inspecteur régional

Vu,

Nancy, le 29 Octobre 2009

Le Président du Jury

Le Directeur de Thèse

Professeur Ph. Maincent

Vu et approuvé,

Nancy, le 6 novembre 2009

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,

Vu,

Nancy, le 12.11.2009

Le Président de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,

Pour le Président
et par Délégation,
La Vice-Présidente du Conseil
des Etudes et de la Vie Universitaire,

Jean-Pierre FINANCE
C CAPDEVILLE ATKINSON

N° d'enregistrement : 3145