

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

UNION – DISCIPLINE – TRAVAIL

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

Année : 2009 – 2010

THESE

N°.....

Présentée en vue de l'obtention du

DIPLOME D'ETAT DE

DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

SOUMAHORO ISAIE BASILE

**MISE AU POINT D'UNE METHODE DE DOSAGE DU  
CHLORHYDRATE DE DOXORUBICINE : APPLICATION  
AU CONTROLE DE QUALITE DE MEDICAMENTS  
GENERIQUES EN COURS D'HOMOLOGATION  
EN COTE D'IVOIRE**

*Soutenu publiquement le 23 Novembre 2010*

Composition du jury

Président : Monsieur ATINDEHOU EUGENE, Professeur Titulaire  
Directeur de thèse : Madame AKE MICHELE, Professeur Titulaire  
Assesseurs : Monsieur ADOUBI INNOCENT, Professeur Agrégé  
: Monsieur DALLY LABA ISMAEL, Assistant

**ADMINISTRATIONS ET PERSONNEL**

**ENSEIGNANT DE L'UFR DES SCIENCES**

**PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES**

---

## **I. HONORARIAT**

Directeurs/Doyens Honoraires :	Professeur RAMBAUD André
	Professeur FOURASTE Isabelle
	Professeur BAMBA Moriféré
	Professeur YAPO Abbé
	Professeur MALAN Kla Anglade

## **II. ADMINISTRATION**

Directeur	Professeur KONE Moussa
Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie	Professeur INWOLEY Kokou André
Sous-Directeur Chargé de la Recherche	Professeur ATINDEHOU Eugène
Secrétaire Principal	Monsieur BLAY Koffi
Secrétaire Principal Adjoint	Madame AKE Kouadio Api Eugénie
Conservateur	Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert
Intendant	Monsieur GAHE Alphonse
Responsable de la Scolarité	Madame DJEDJE Yolande

## **III. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT**

### **I. PROFESSEURS TITULAIRES**

Mme AKE Michèle	Chimie Analytique
MM ATINDEHOU Eugène	Chimie Analytique, Bromatologie
DIAINE Charles	Biophysique
Mme KONE BAMBA Diéneba	Pharmacognosie
MM KONE Moussa	Parasitologie et Mycologie
KOUADIO Kouakou Luc	Hydrologie, Santé Publique
MALAN Kla Anglade	Chimie Analytique., contrôle de qualité
MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie
MONNET Dagui	Biochimie et Biologie Moléculaire

### **2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES**

Mme ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L.	Biochimie et Biologie moléculaire
MM DANO Djédjé Sébastien	Toxicologie (en détachement auprès de la présidence de la république)
INWOLEY Kokou André	Immunologie
KABLAN Brou Jérôme	Pharmacologie
KOUASSI Dinard	Hématologie
LOUKOU Yao Guillaume	Microbiologie
Mme SAWADOGO Duni	Hématologie

### 3.MAITRES DE CONFERENCES (CAMES)

M YOLOU Séri Fernand Chimie Générale

### 4.MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

M DIAFOUKA François Biochimie et Biologie de la Reproduction

### 5.MAITRES ASSISTANTS

M. ABROGOUA Danho Pascal Pharmacologie  
M AHIBOH Hugues Franck T. Biochimie et Biologie moléculaire  
Mme AKE EDJEME N'guessan Angèle Biochimie et Biologie moléculaire  
MM AMARI Antoine Serge G. Législation  
AMIN N'Cho Christophe Chimie minérale, Chimie générale  
Mme BARRO KIKI Pulchérie Parasitologie - Mycologie  
M CLAON Jean Stéphane Santé Publique  
M KOFFI Angely Armand Pharmacie Galénique  
Mme KOUAKOU SIRANSY N. Pharmacologie  
Mme KOUASSIAGBESSI Thérèse Microbiologie  
MM OGA Agbaya Stéphane Santé publique  
OUASSA Timothée Bactériologie  
OUATTARA Mahama Chimie thérapeutique  
Mme SACKOU KOUAKOU Julie Santé Publique  
MM YAPI Ange Désiré Chimie organique, chimie thérapeutique  
YAVO William Parasitologie - Mycologie  
YAYO Sagou Eric Biochimie-Biologie moléculaire  
ZINZENDORF Nanga Yessé Microbiologie

### 6.ASSISTANTS

Mme AFFI-ABOLI Mihessé Roseline Immunologie  
MM ADJOUNGOUA Attoli Léopold Pharmacognosie  
ADJAMBRI Adia Eusebé Hématologie  
Mme AKA-ANY-GRA Armelle Adjoua S. Pharmacie Galénique  
M AMICHIA Attoumou Magloire Pharmacologie  
Mme AYE YAYO Mireille Hématologie  
MM DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Pharmacologie  
MM DJOHAN Vincent Parasitologie -Mycologie  
BONY François Nicaise Chimie Analytique  
MM CABLAN Mian N'Dedey Asher Bactériologie Virologie  
DALLY Laba Galénique  
Mlle DIAKITE Aïssata Toxicologie  
MM. DEMBELE Baniory Immunologie

MM	DJOHAN Vincent	Parasitologie - Mycologie
	EZOULIN Miezhan Jean Marc	Toxicologie
Mlle	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Pharmacognosie
M	GBASSI K. Gildas	Chimie Minérale
Mme	IRIE N'GUESSAN Amenan	Pharmacologie
MM	KABRAN Tano Kouadio Mathieu	Immunologie
	KAMENAN Boua Alexis Thierry	Pharmacologie
	KASSI Kondo Fulgence	Parasitologie-Mycologie
Mlle	KONATE Abibatou	Parasitologie-Mycologie
M	KONAN Konan Jean Louis	Biochimie et Biologie moléculaire
Mme	KONE Fatoumata	Biochimie et Biologie moléculaire
MM	KOUAKOU Sylvain Landry	Pharmacologie
	KOUAME Denis Rodrigue	Immunologie
	LATHRO Joseph Serge	Microbiologie
Mme	LEKADOU KORE Sylvie	Santé Publique
MM	MANDA Pierre	Toxicologie
	N'GUESSAN Alain	Galénique
Mmes	N'GUESSAN-BLAO Amino Rebecca J.	Hématologie
	POLNEAU VALLEE Sandrine	Mathématiques biophysique
	SANGARE Mahawa	Biologie Générale
	SANGARE TIGORI Béatrice	Toxicologie
MM	SIMAGA Dédéou	Pharmacognosie
	TRE Eric Serge	Chimie Analytique
Mmes	VANGA ABO Henriette	Parasitologie - Mycologie
	YAO ÂTTIA Akissi Régine	Santé publique
M	YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale

## 7.IN MEMORIUM

Feu COMOE Léopold	Maître de Conférences Agrégé
Feu YAPO Abbé Etienne	Professeur Titulaire
Feu GUEU Kaman	Maître Assistant
Feu TRAORE Moussa	Assistant de Chimie Thérap. Et Organique
Feu ÂLLADOUM Nambelbaye	Assistant de Chimie Thérap. et Organique
Feu COULIBALY Sabali	Assistant de Pharmacie Galénique
Feu YAPO Achou Pascal	Assistant de Pharmacie Galénique

#### **IV. ENSEIGNANTS VACATAIRES DES AUTRES UFR**

##### **1. PROFESSEURS**

MM ASSAMOI Assamoi Paul  
KOFFI Kouamé Michel  
Biophysique  
Santé Publique

##### **2. MAITRES DE CONFERENCES**

Mme TURQUIN née DIAN Louise  
MM OYETOLA Samuel  
YAO N'Dri  
ZOUZOU Michel  
Biologie Végétale  
Chimie Minérale  
Pathologie Médicale  
Cryptogamie

##### **3. MAITRES ASSISTANTS**

MM. OCHOU Abé Delphin  
SAKO Aboubakar  
GBE Didier  
Physiques  
Physiques  
Physiques

## **V. ENSEIGNANTS VACATAIRES NON UNIVERSITAIRES**

MM. AHOUSI Daniel Ferdinand	Secourisme
DEMPAH Anoh Joseph	Parasitologie, Zoologie.
KOUAKOU Tanoh Hilaire	Botanique et Cryptogamie
N'GOZAN Marc	Secourisme
N'GNIMMIEN Kouassi Koffi Lambert	Bibliographie Recherches
N'GUETTA Augustin	Gestion
KONAN Kouacou	Diététique
KONKON N'Dri Gilles	Botanique, Cryptogamie
OKPEKON Aboua Timothée	Chimie Analytique, Chimie Générale.
Mme PAYNE Marie	Santé Publique

**COMPOSITION DES LABORATOIRES  
ET DEPARTEMENTS DE L'UFRDES  
SCIENCES PHARMACEUTIQUES  
ET BIOLOGIQUES**

**I. BACTERIOLOGIE VIROLOGIE**

Professeur	LOUKOU Yao Guillaume	Maître de Conférences Agrégée Chef de département
Docteurs	KOUASSI AGBESSI Thérèse OUASSA Timothée ZINZENDORF Nanga Yessé CABLAN Mian N'Dédey Âsher LATHRO Joseph Serge	Maître Assistante Maître Assistant Maître Assistant Assistant Assistant

**II. BIOCHIMIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE. BIOLOGIE  
DE LA REPRODUCTION ET PATHOLOGIE MEDICALE**

Professeur	MONNET Dagui	Professeur Titulaire
Professeurs	DIAFOUKA François HAUHOUOT ép. ATTOUNGBRE M.L.	Chef de Département Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	AHIBOH Hugues AKE EDJEME N'Guessan Angèle YAYO Sagou Eric KONAN Konan Jean Louis KONE Fatoumata	Maître Assistant Maître Assistante Maître Assistant Assistant Assistante

**III. BIOLOGIE GENERALE. HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE**

Professeur	SAWADOGO Duni	Maître de Conférences Agrégé Chef du Département
Professeurs	KOUASSI Dinard INWOLEY Kokou André	Maître de Conférences Agrégé Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	AFFI-ABOLI Mihessé Roseline ADJAMBRI Adia Eusebé AYE YAYO Mireille DEMBELE Bamory KABRAN Tano K. Mathieu KOUAME Denis Rodrigue N'GUESSAN-BLAO A. Rebecca S SANGARE Mahawa YAPO Assi Vincent De Paul	Assistante Assistant Assistante Assistant Assistant Assistant Assistante Assistant Assistant



**IV. CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE  
MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE  
ALIMENTAIRE**

Professeur	ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	MALAN Kla Anglade AKE Michèle YOLOU Séri Fernand	Professeur Titulaire Professeur Titulaire Maître de Conférences
Docteurs	AMIN N'cho Christophe BONY Nicaise François GBASSI K. Gildas TRE Eric Serge	Maître Assistant Assistant Assistant Assistant

**V. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE**

Professeur	KONE Moussa	Professeur Titulaire Chef de Département par intérim
Docteurs	OUATTARA Mahama YAPI Ange Désiré	Maître Assistant Maître Assistant

**VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE. BIOLOGIE  
ANIMALE ET ZOOLOGIE**

Professeur	KONE Moussa	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeur	MENAN Eby Ignace H.	Professeur Titulaire
Docteurs	BARRO KIKI Pulchérie YAVO William KASSI Kondo Fulgence KONATE Abibatou DJOHAN Vincent VANGA ABO Henriette	Maître Assistante Maître Assistant Assistant Assistante Assistant Assistante

**VII. PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE, COSMETOLOGIE,  
GESTION ET LEGISLATION PHARMACEUTIQUE**

Professeur	KABLAN Brou Jérôme	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département par intérim
Docteurs	KOFFI Armand A. AKA-ANY Grah Armelle A.S. AMARI Antoine Serge G. DALLY Laba Ismaël N'GUESSAN Alain	Maître Assistant Assistante Assistant Assistant Assistant

**VIII. PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE. BIOLOGIE  
VEGETALE. CRYPTO GAMIE**

Professeur	KONE BAMBA Diénéba	Professeur Titulaire Chef de Département
Docteurs	ADJOU GOUA Attoli Léopold FOFIE N'Guessan Bra Yvette SIMAGA Dédéou	Assistant Assistante Assistant

**IX. PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET  
THERAPEUTIQUE. ANATOMIE, EMBRYOLOGIE ET  
PHYSIOLOGIE HUMAINES**

Professeur	KABLAN Brou Jérôme	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
Docteurs	ABROGOUA Danho Pascal KOUAKOU SIRANSY N'doua G. AMICHIA Attoumou M DJADJI Ayoman Thierry Lenoir HUE N'GUESSAN Amenan G. KAMENAN Boua Alexis KOUAKOU Sylvain Landry	Maître Assistant Maître Assistante Assistant Assistant Assistante Assistant Assistant

**X. PHYSIQUE. BIOPHYSIQUE. MATHEMATIQUES.  
STATISTIQUES ET INFORMATIQUE**

Professeur	DI AINE Charles	Professeur Titulaire Chef de Département
Docteur	POLNEAU VALLEE Sandrine	Assistante

**XI. SANTE PUBLIQUE. HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE**

Professeur	KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire Chef de département
Professeur	DANO Djédjé Sébastien	Maître de Conférences Agrégé (en détachement auprès de la Présidence de la République)
Docteurs	CLAON Jean Stéphane OGA Agbaya Stéphane SACKOU KOUAKOU J. DIAKITE Aissata EZOULIN Miézan Jean Marc LEKADOU KORE Sylvie MANDA Pierre SANGARE TIGORI B. YAO ATTIA Akissi Régine	Maître Assistant Maître Assistant Maître Assistante Assistante Assistant Assistante Assistant Assistante Assistante

## DEDICACES

*Je dédie cette thèse*

## *A l'Eternel, mon DIEU*

*Père tu m'a toujours soutenue comme tu l'avais promis et j'ai ainsi pu accomplir tout ce que j'ai accompli en ton nom.*

*Merci pour cette grâce que tu m'as accordée d'achever ces longues études et encore merci pour tout ce que tu réalises dans ma vie.*

*Que toute la gloire te revienne.*

*Merci Seigneur !*

*A mon* Père : SOUMAHORO ANTOINE SEMI

*Pour tes conseils et ton soutien sans faille dans le déroulement de mes études, je suis reconnaissant envers toi.*

*Merci pour tous les sacrifices à mon endroit.*

*Puisse Dieu te combler de toute sa grâce.*

*Reçois ce travail en témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*A mes* grandes sœurs,

**SATI et SITA SOUMAHORO**

*Merci pour votre soutien et votre contribution à mon éducation.*

*A mes* grands frères

**DESIRE et EDOUARD SOUMAHORO**

*En tant qu'aîné vous avez pu m'encourager à certains moments de ma vie.*

*Que Dieu vous bénisse et vous apporte ses grâces !*

*A mon* oncle ISAIE BITON COULIBALY

*Je n'ai pas oublié les moments de mes études où tu as su m'apporter ton aide et ton expérience.*

*Merci à toi !*

*A ma* tante AMILIA FACOUNDE

*Tu as toujours été présente à chaque fois que j'avais besoin de toi.*

*Reçois à travers ce travail toute ma gratitude !*

*A mes* Oncles et Tantes

*Vous avez été pour moi une grande source de conseils tant dans ma vie personnelle que dans le travail.*

*Merci pour tout !*

*A mes Cousins et cousines*

*Merci de m'avoir soutenu tout le temps.*

*A mes compagnons de route*

**KRA KOUAKOU DONATIEN, SECONGO KIBEYA, ALLOU  
COUHOULE SERGE, FALCON ANGUI, THOMAS YENOR,**

*Plus que des amis nous sommes devenus des frères et avons su nous soutenir mutuellement quand cela s'avérait nécessaire.*

*Pour toutes ces années passées recevez cette thèse en guise de reconnaissance pour votre fraternité. Que Dieu nous unisse le plus longtemps possible.*

*A tous ceux que j'ai involontairement omis.*

*Je suis fier d'avoir fait partie des personnes qui comptent pour vous et recevez ainsi mon infinie gratitude !*

*A La 28<sup>ème</sup> PROMOTION*

*Recevez cette thèse, elle est aussi la vôtre puisque votre solidarité est restée sans faille en toutes circonstances.*

*A tous les étudiants de l'UFR SPB*

*Nous avons partagé des moments forts ensemble et su cohabiter sur notre faculté.*

*Je vous dédie ce travail pour qu'il puisse profiter à tous, ceux qui ont déjà soutenue ou les autres que j'encourage fortement.*

*Vous y arriverez, merci pour tout !*

## *IN* MEMORIUM

*A Ma* Mère : COULIBALY ADELE

*Tu as veillé sur chaque étape de ma vie et de ma formation. Tu as efficacement participé à mon éducation et su m'inculquer ta sagesse, ton sens de l'observation et ta facilité de communication qui m'ont été d'une grande aide tout au long de mon parcours.*

*J'aurais vraiment aimé que tu sois là pour voir le bout de ma route en pharmacie, car sans toi tout ce cheminement n'aurait pas été possible. Je sais cependant que je dois continuer de te rendre fier de moi et mériter encore une fois tout l'amour et la patience dont tu as fait preuve pour moi et tous tes enfants.*

*Encore merci.*

*Puisse Dieu te garder auprès de lui et te combler de toute sa grâce.*

*A MA GRANDE MERE MARIE AUGUSTINE DIARA  
A MON GRAND PERE SYLVAIN COULIBALY*

*J'aurais vraiment aimé que vous soyez là avec nous ce jour ; mais le Seigneur en a décidé autrement.*

*Vous pouvez être fiers de vous ; cette thèse vous revient, je vous rends hommage en ce jour solennel.*

*Merci pour tout et reposez en paix.*

## REMERCIEMENTS



*Au Prof AKE MICHELE*

*Vous continuez d'être pour moi un modèle par votre charisme et votre efficacité et je vous remercie grandement de la manière dont vous avez su diriger ce travail.*

*Que Dieu vous bénisse*

*Au Prof INWHOLEY ANDRE*

*Votre rigueur et votre sens de la discipline et de l'ordre m'ont beaucoup aidé dans mon parcours sur la faculté.*

*Merci pour tout !*

*Au Dr YAPI ANGE DESIRE*

*Vous avez accepté de suivre mon évolution tout au long de mon parcours sur la faculté de pharmacie et vos conseils m'ont guidé dans la conception de ce travail. Je vous remercie de toute l'aide que vous continuez de m'apporter quant à l'éclaircissement de mes objectifs de carrière.*

*Que Dieu vous accorde tout le soutien nécessaire dans votre vie professionnelle.*

*Au Dr DALLY LABA ISMAEL*

*Merci pour votre disponibilité et votre participation à la réalisation de cette thèse. Vous avez su m'apprendre les principes de votre art et avez eu confiance en moi à plusieurs moments de mon parcours.*

*Au Dr DIAWARA*

*Merci de m'avoir ouvert les portes de votre entreprise et permis d'effectuer mes travaux dans votre laboratoire d'analyse et de contrôle qualité. Sans votre aide ce travail n'aurait pu aboutir.*

*Merci à vous !*

*Au Dr COULIBALY Hassane*

*Vous avez facilité mon intégration au laboratoire d'analyse de CIPHARM et ainsi permis d'achever mon travail avec beaucoup plus d'aisance. Je vous remercie pour toute l'aide apportée !*

*Au Dr OUATTARA Siaka*

*Merci de m'avoir apporté votre aide dans l'élaboration de ce travail et pour tout ce que vous avez fait pour moi à CIPHARM depuis mon stage optionnel jusqu'à la réalisation de cette thèse.*

*Pour toute votre disponibilité et votre ouverture je vous suis reconnaissant.*

*A Mr BONOUMA JOEL*

*Pour ta présence indéfectible et ton ouverture sans restrictions tu m'a aidé dans l'accomplissement de ce travail sur le plan technique et à de très nombreuses occasions permis de résoudre des problèmes.*

*Merci pour l'expérience que tu as bien voulu me faire partager.*

*A Mr N'DRI N'GUESSAN*

*A travers ce travail, je voudrais vous remercier pour le soutien que vous m'avez apporté. Puisse Dieu agréer vos souhaits.*

*A Mme MANIZAN*

*Votre bonne humeur et votre prévenance envers moi m'ont soutenu tout au long de ce travail à CIPHARM.*

*Merci !*

*A tout le personnel de CIPHARM*

*Merci pour votre disponibilité sans restriction et votre participation à la réalisation de cette thèse.*

*A tous les Volontaires*

*Par amitié et solidarité vous avez contribué à cette étude. Je vous suis infiniment reconnaissant. Recevez cette thèse elle est aussi la votre.*

*A tous ceux qui ont participé à la réalisation de cette œuvre, recevez ici le témoignage de ma profonde gratitude*

---

**A NOS MAITRES ET JUGES**

**A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY**  
**MONSIEUR LE PROFESSEUR ATINDEHOU EUGENE**

- Professeur Titulaire de Chimie Analytique, Bromatologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan - Côte d'Ivoire
- Vice doyen chargé de la recherche et de l'équipement à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan – Côte d'Ivoire
- Chef du département de Chimie Analytique, Bromatologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan - Côte d'Ivoire
- Membre de la société des experts chimistes de France
- Chevalier dans l'ordre des palmes académiques de France
- Officier dans l'ordre de l'éducation de Côte d'Ivoire

**Cher Maître,**

Nous avons été impressionné par vos qualités humaines et votre abnégation au travail. Votre disponibilité et l'intérêt que vous portez à vos étudiants font de vous une source de sagesse à laquelle tout étudiant doit s'abreuver. Vous nous avez fait ainsi l'honneur d'accepter de présider notre jury de thèse et cela, en dépit de vos occupations.

C'est un honneur pour nous de vous avoir dans notre jury.

Que Dieu vous bénisse

**A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE**  
**MADAME LE PROFESSEUR AKE MICHELE**

- Professeur Titulaire de Chimie analytique, Bromatologie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ;
- Directeur de la Direction de la Pharmacie et du Médicament
- Pharmacien chef de la Pharmacie et du laboratoire de Nutrition à l'Institut National de Santé Publique d'Adjamé.
- Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie
- Membre de la société des experts chimistes de France
- Membre de l'Association of Official Seed Analysts
- DESS option Sciences des Aliments de l'Université de Montpellier
- Docteur de l'université de Montpellier option Science des Aliments

**Cher Maître,**

Nous vous remercions très sincèrement de votre attention , de votre rigueur, de votre disponibilité, du travail bien fait et de vos qualités intellectuelles que nous avons contemplés tout au long de notre travail.

Nous nous engageons à mériter, dans notre vie future , la confiance que vous avez placée en nous et à vous faire honneur partout où nous serons.

Que le Seigneur vous comble de grâces !

**A NOTRE MAITRE ET JUGE**  
**MONSIEUR LE PROFESSEUR ADOUBI**

- Maître de conférences Agrégé de cancérologie option oncologie médicale;
- Membre de National of health (NIH BETHSEDA);
- Membre de la Société Francophone de cancérologie digestive;
- Membre de la Société Ivoirienne des Cytokines ;
- Président de l'Association Ivoirienne de Lutte contre le Cancer (AILC) ;
- Directeur coordonnateur du Programme National de Lutte contre le Cancer ;
- Diplômé en prévention du cancer du NCI (BETHSEDA).

**Cher Maître,**

Nous tenons à vous manifester notre infinie gratitude pour votre promptitude à siéger dans ce jury.

Sans vraiment vous connaître nous sommes persuadés de votre disponibilité à améliorer le travail de vos disciples que nous sommes.

Que Dieu vous bénisse



**A NOTRE MAITRE ET JUGE**  
**MONSIEUR LE DOCTEUR DALLY LABA ISMAEL**

- Docteur en pharmacie
- Assistant chargé de cours et de travaux pratiques à l'UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques de l'université de Cocody,
- Pharmacien des hôpitaux
- Titulaire d'un DEA de conception, réalisation et évaluation de médicaments issus de la pharmacopée traditionnelle, option pharmacotechnie
- Titulaire d'un DESS de toxicologie et d'hygiène agro-industrielle
- Titulaire d'un DESS de contrôle de qualité des médicaments, aliments et produits cosmétiques
- Pharmacien au Laboratoire de Contrôle des Médicaments du Laboratoire National de la Santé Publique.

**Cher Maître,**

Vous avez accepté, en dépit de votre emploi du temps chargé, de juger ce travail. Nous vous sommes très reconnaissant.

Veillez trouver ici l'expression de notre profond respect.

Que Dieu vous bénisse

## TABLE DES MATIERES

ADMINISTRATIONS ET PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES.....	I
DEDICACES.....	X
REMERCIEMENTS .....	XV
A NOS MAITRES ET JUGES.....	XX
TABLE DES MATIERES .....	XXV
LISTE DES ABREVIATIONS .....	XXX
LISTE DES TABLEAUX.....	XXXI
LISTE DES FIGURES.....	XXXII
INTRODUCTION.....	1
PARTIE I : GENERALITES .....	5
CHAPITRE I : LE CANCER ET LES VOIES THERAPEUTIQUES ACTUELLES .....	6
I-    DEFINITION DU CANCER .....	7
II-   TYPOLOGIE DES CANCERS .....	7
III-  MECANISME D'APPARITION DES CANCERS.....	10
IV-   CHRONOLOGIE DE LA TRANSFORMATION CANCEREUSE .....	11
IV-1- La carcinogenèse .....	11
IV-2- La cancérogenèse .....	11
IV-3- La Tumorigenèse .....	16
V-    PROLIFERATION CELLULAIRE .....	16
V-2- Régulateurs du cycle cellulaire .....	18
VI-   EPIDEMIOLOGIE DU CANCER.....	19
VI-1- Situation dans le monde .....	19
VI-2- Situation en Côte d'Ivoire .....	21
VII-  DIFFERENTES VOIES THERAPEUTIQUES .....	21
VII-1- La chirurgie .....	21
VII-2- La radiothérapie .....	21
VII-3- La chimiothérapie .....	22

VII-4- L'hormonothérapie.....	23
VII-5- L'immunothérapie.....	23
VII-6- La nano-thérapie .....	24
VIII- LA CHIMIOThERAPIE ANTICANCEREUSE .....	24
VIII-1- CLASSIFICATION SELON LE MODE D'ACTION ET L'IMPACT SUR LE CYCLE CELLULAIRE .....	25
VIII-2- CLASSIFICATION PHARMACO-CHIMIQUE .....	26
CHAPITRE II : LA DOXORUBICINE .....	39
I- HISTORIQUE.....	40
II- PRESENTATION CHIMIQUE .....	40
II-1- Nomenclature du produit .....	40
II-2- Structure chimique .....	40
III- PROPRIETES PHARMACOLOGIQUE.....	41
IV- CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES .....	41
V- PHARMACOLOGIE .....	41
V-1- Mécanisme d'action pharmacologique .....	41
IV-2- Pharmacocinétique .....	42
VI- ASPECTS THERAPEUTIQUES.....	44
V-1- Indications.....	44
V-2- Effets secondaires .....	46
V-3- Contre-indications.....	49
V-4- Posologies utilisées dans les protocoles appliqués en Côte d'Ivoire.....	50
VII- DIFFERENTES METHODES DE RECHERCHE ET DE DOSAGE DE LA DOXORUBICINE .....	50
VII-1- Méthodes d'identification de la doxorubicine.....	50
VI-2- Méthodes de dosage de la doxorubicine.....	51

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.....	55
CHAPITRE I : CADRE DE L'ETUDE .....	56
I-  MATERIEL.....	59
I-1- Echantillonnage.....	59
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	58
I-2- Appareillage .....	59
I-3- Verrerie.....	60
I-4- Produits de références et réactifs.....	61
II-  METHODES .....	61
II-1- Mode de préparation du solvant de travail et des solutions.....	61
II-2- Mise au point de la méthode .....	63
II-3- Paramètres de conformité .....	64
II-4- Validation de la méthode .....	65
II-5- Evaluation de la teneur en chlorhydrate de doxorubicine dans les génériques analysés .....	68
CHAPITRE III : RESULTATS.....	69
I- Mise au point de la méthode de dosage du chlorhydrate de doxorubicine.....	70
I-1- Analyse spectrale.....	70
I-2- Choix de la phase mobile .....	71
I-3- Conditions analytiques retenues.....	74
II- Paramètres de conformité du système chromatographique.....	75
III- Validation de la méthode de dosage .....	76
III-1- Linéarité de la méthode .....	76
III-2- Précision de la méthode.....	77
II-3- Exactitude de la méthode .....	80
II-4- Sensibilité de la méthode .....	81
IV- Dosage quantitatif des échantillons .....	82

CHAPITRE IV : DISCUSSION .....	85
I- Méthode d'analyse .....	86
I-1- Analyse spectrale.....	86
I-2- Choix de la phase mobile .....	86
I-3- Conditions d'analyse .....	87
II- Paramètres de conformité.....	87
II-1- Facteurs de rétention .....	87
II-2- Facteurs de séparation.....	88
III- Validation de la méthode de dosage.....	88
III-1- Linéarité de la méthode .....	88
III-3- Exactitude de la méthode.....	89
III-4- Sensibilité de la méthode .....	89
IV- Application de la méthode à l'analyse de génériques à base de chlorhydrate de doxorubicine.....	90
IV-1- Analyse qualitative .....	90
IV-2- Analyse quantitative .....	90
CONCLUSION .....	91
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	91
ANNEXES .....	91

## LISTE DES ABREVIATIONS

- ADN : Acide DésoxyriboNucléique
- ARC: Association pour la recherche sur le cancer
- ARN : Acide RiboNucléique
- CCM: Chromatographie sur Couche Mince
- CDK: Cytokine Dependante Kinase
- CHU: Centre Hospitalier et Universitaire
- CIPHARM: Cote d'Ivoire Pharmacie
- CLHP: Chromatographie Liquide Haute Performance
- CNOP: Conseil National de l'Ordre des Pharmaciens
- CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse
- CV : Coefficient de variation
- DPM : Direction de la Pharmacie et du Médicament
- FL : Flacon
- G : Gramme
- I<sup>131</sup>: Iode 131
- ICH : International Conference of Harmonisation
- K' : Capacité
- L : Litre
- Min : Minutes
- N : Nombre de plateaux théoriques
- NCI : National Cancer Institute
- Nm : Nanomètre
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé
- P<sup>32</sup> : Phosphore 32
- Perf : Perfusion
- pH : Potentiel d'hydrogène
- PM : Poids moléculaire
- PNLCAA : Programme National de Lutte contre le Cancer
- ReMeD : Réseau Médicament et Développement
- Sr<sup>189</sup> : Strontium 189
- Tr : Temps de rétention
- Vr : Volume de rétention.

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Exemple d'agents intercalants à effets anti topoisomérase .....	31
Tableau II : Tableau récapitulatif de présentation des échantillons analysés .....	59
Tableau III: Etalonnage de la méthode de dosage .....	76
Tableau IV: Répétabilité des solutions de référence.....	77
Tableau V: Répétabilité de l'analyse chromatographique .....	78
Tableau VI: Répétabilité de l'ensemble de la procédure de dosage .....	79
Tableau VII: Exactitude de la méthode.....	80
Tableau VIII: Limite de quantification du chlorhydrate de doxorubicine .....	81
Tableau IX: Limite de détection du chlorhydrate de doxorubicine .....	81
Tableau X: Teneur en chlorhydrate de doxorubicine dans le lot 93 du médicament A : .....	82
Tableau XI : Teneur en chlorhydrate de doxorubicine dans le lot 99 du médicament A.....	83
Tableau XII : Teneur en chlorhydrate de doxorubicine dans le médicament B.	84



## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Etapes de la cancérogenèse .....	15
Figure 2 : Représentation schématique du cycle cellulaire.....	18
Figure 3 : Cible des anticancéreux au niveau du cycle cellulaire .....	25
Figure 4 : Structure chimique des moutardes à l'azote .....	27
Figure 5 : Structure de la Carmustine.....	27
Figure 6 : Structure du cisplatine .....	28
Figure 7 : Structure chimique des intercalants anthracycliques.....	29
Figure 8 : Structure chimique de la Bléomycine.....	29
Figure 9 : Structure de la camptothécine et de ses dérivés .....	32
Figure 10 : Structure chimique des indolocarbazoles .....	32
Figure 11 : Structure chimiques de l'Actinomycine D et de l'Intoplicine.....	33
Figure 12 : Structure chimique de différents.....	34
inhibiteurs de topoisomérases II.....	34
Figure 13 : Structure chimique de l'Aminoptérine et du Méthotrexate.....	35
Figure 14 : Structure chimique de quelques antipurines.....	35
Figure 15 : Structure chimique de quelques antiprimidines .....	36
Figure 16 : Structure chimique des antimétopiques .....	37
Figure 17 : Structure chimique de l'Asparaginase.....	37
Figure 18 : Structure chimique d'agents hormonaux anticancéreux .....	38
Figure 19 : Structure chimique de la doxorubicine.....	40
Figure 20 : Métabolisme de la doxorubicine.....	43
Figure 21: Analyse spectrale du chlorhydrate de doxorubicine.....	70

Figure 22 : Chromatogramme d'une solution à 10mg/l de doxorubicine + 1mg/l de méthyl paraben obtenu en utilisant la phase mobile (1).....	71
Figure 23 : Chromatogramme d'une solution témoin à 10mg/l de chlorhydrate de doxorubicine + 1mg/l de méthyl paraben obtenu avec la phase mobile (2) ..	72
Figure 24 : Chromatogramme d'une solution à 10mg/l de chlorhydrate de doxorubicine + 1 mg/l de méthyl paraben obtenu avec la phase mobile (3) .....	73
Figure 25 : Chromatogramme d'un échantillon du générique A .....	74
Figure 26 : Droite d'étalonnage des surfaces des pics en fonction de la concentration des solutions étalons .....	76

### *Liste des photographies*

---

Photographie 1 : Tumeur inflammatoire du sein droit .....	8
Photographie 2 : Volumineuse tumeur du sein droit.....	9
Photographie 3 : Tumeur ulcéro-bourgeonnante de la cavité buccale.....	9
Photographie 4 : Système CLHP utilisé.....	60

## **INTRODUCTION**

Selon l’OMS le cancer constitue la première cause de mortalité dans le monde avec des prévisions de 12 millions de décès dans le monde d’ici 2030. <sup>[42]</sup> En effet, cette affection gagne de plus en plus de terrain, particulièrement en Afrique.

En Côte d’Ivoire l’OMS estime entre 15000 et 20000 le nombre de cas de cancer enregistré par an. Il s’agit donc d’un véritable problème de santé publique. De plus les coûts des diagnostics et traitements de longue durée rebutent certains patients, si bien que la pathologie s’installe et passe à un stade critique avant le dépistage. En Afrique plus de 70% des cas sont dépistés quand il est trop tard. <sup>[40]</sup>

C’est ainsi que, les pays les plus financièrement défavorisés adoptent des stratégies leur permettant de proposer aux patients des traitements et diagnostics efficaces à moindre coûts.

C’est dans le cadre de cette stratégie que s’inscrit la création du Programme National de Lutte Contre le Cancer (**PNLCa**) en Juin 2007 par le Ministère de la Santé et de l’hygiène publique <sup>[7]</sup>.

Cette structure a mis l’accent sur la lutte contre le cancer chez la femme qui représente 80% des cancers enregistrés dans le pays notamment celui du sein.

C’est dans le but de fournir une thérapeutique conforme à la situation socio-économique des patients que le programme s’intéresse tout particulièrement aux médicaments génériques qui sont censés offrir une efficacité thérapeutique identique aux spécialités et à des coûts réduits.

Cependant l’essor du marché des génériques comme il en serait pour tout autre secteur en développement, entraîne des écarts surtout dans notre continent où les mesures de sécurité tardent souvent à se mettre en place. L’OMS estime pour sa part qu’un quart des médicaments utilisés dans les pays en voie de

développement sont faux ou encore de qualité inférieure aux produits princeps. [30].

Aussi, une étude réalisée au Tchad de 1995 à 1996 sur la qualité des médicaments génériques antituberculeux utilisés dans le programme de lutte contre la tuberculose, a révélé dans un même lot, la présence d'échantillons conformes et non conformes, traduisant probablement des processus de fabrication mal maîtrisés [8].

Face à de telles observations, il apparaissait donc nécessaire de contrôler la qualité des génériques commercialisés sur le marché ivoirien et de s'assurer d'une bonne base méthodologique en ce qui concerne l'analyse qualitative et quantitative des principes actifs contenus dans ces médicaments.

Le département de Chimie Analytique et Bromatologie de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques en collaboration avec la Direction de la Pharmacie et du Médicament (DPM) et le laboratoire d'analyse de CIPHARM a donc entrepris de procéder au développement d'une méthode d'analyse de molécules anticancéreuses.

Dans l'arsenal thérapeutique anticancéreux disponible, le chlorhydrate de doxorubicine est employé pour le traitement de manifestations néoplasiques de différentes sortes seules ou en polychimiothérapie dans certains protocoles en vigueur en Côte d'Ivoire.

De ce fait un certain nombre de produits génériques à base de doxorubicine sont en cours d'enregistrement en Côte d'Ivoire.

L'objectif général de ce travail était donc de contribuer au contrôle de qualité de médicaments génériques à base de chlorhydrate de doxorubicine en cours d'homologation en Côte d'Ivoire.

Les objectifs spécifiques étaient de:

- Mettre au point une méthode de dosage de la doxorubicine dans des poudres pour préparation injectables ;
- Valider la méthode proposée ;
- Appliquer cette méthode à certains médicaments génériques en cours d'enregistrement à la Direction de la Pharmacie et du Médicament (DPM).

Cette étude comporte trois parties :

- des rappels bibliographiques qui porteront sur le cancer et les voies thérapeutiques disponibles ainsi que sur les données relatives à la doxorubicine et son dosage dans des formes pharmaceutiques ;
- la partie expérimentale comprenant la méthodologie suivie des résultats obtenus et la discussion qui en découle ;
- des recommandations et une conclusion.

## **PARTIE I : GENERALITES**



**CHAPITRE I : LE CANCER ET LES VOIES  
THERAPEUTIQUES ACTUELLES**

## I- DEFINITION DU CANCER

Le **cancer** du grec *karkino* est une affection caractérisée par une prolifération cellulaire anarchique et incontrôlée au sein d'un tissu normal de l'organisme. Ces cellules dérivent toutes d'un même clone, cellule initiatrice du cancer qui a acquis certaines caractéristiques lui permettant de se diviser indéfiniment. Le phénomène affecte la plupart des tissus de l'organisme.

Il existe de nombreux facteurs favorisant la carcinogénèse, pouvant être d'origine :

- interne : prédispositions héréditaires, hormonales,
- externe : Induction par un agent extérieur, tels que les radiations ou les produits chimiques qualifiés de carcinogènes, les virus, les bactéries de type *Helicobacter pylori* et l'alimentation...

Plusieurs types de cancers semblent en augmentation, pour des raisons environnementales ou de modes de vie, ainsi que pour une partie des cas seulement - en raison du vieillissement de la population. Les taux de cancers détectés augmentent dans chaque tranche d'âge, l'apparition de nouveaux modes de détection plus efficaces ayant aussi un rôle dans cette augmentation [49].

## II- TYPOLOGIE DES CANCERS

Les cancers se distinguent cliniquement en :

- Carcinomes : cancer d'un épithélium, c'est-à-dire une surface composée uniquement de cellules
- Sarcomes : cancers proliférant dans des tissus « de support » comme les os.
- Cancers hématopoïétiques : cancer des cellules sanguines.
- Cancers du tissu neuro-épidermique
- Cancers du tissu embryonnaire

Les cancers peuvent être classés par organes touchés :

- Le cancer du sein
- Le cancer du côlon et des annexes
- Le cancer du pancréas
- Le myélome multiple : cancer de la moelle osseuse
- Les leucémies
- Le sarcome de Kaposi : cancer des vaisseaux sanguins
- Les lymphomes : cancer des organes contenant du tissu lymphoïde (rate, moelle osseuse).
- Le cancer des testicules
- Le cancer de l'œil
- Le cancer du col de l'utérus
- Les cancers de la peau
- Le cancer du rein [49].



**Photographie 1 : Tumeur inflammatoire du sein droit [39]**



**Photographie 2 : Volumineuse tumeur du sein droit [39]**



**Photographie 3 : Tumeur ulcéro-bourgeonnante de la cavité buccale [39]**

Il existe presque autant de sources de cancer que de tissus dans l'organisme. Certains cancers sont toutefois plus fréquents que d'autres et les nouvelles habitudes socioculturelles ont favorisées l'apparition des cancers tels que :

- Le cancer du poumon
- Le cancer de l'œil

### III- MECANISME D'APPARITION DES CANCERS

Les cancers sont des pathologies génétiques c'est-à-dire qu'ils ont pour origine une modification quantitative et/ou qualitative des gènes. Comme il s'agit d'altérations génétiques somatiques qui ne sont présentes que dans le tissu malade, la plupart des cancers ne sont donc pas eux-mêmes héréditaires, seul un terrain plus ou moins favorable pouvant l'être [2].

Les cancers familiaux (10% des cancers humains) sont associés à une altération constitutionnelle (ou germinale) d'un gène. Cette altération est donc présente dans toutes les cellules de notre organisme, gamètes incluses. Elle peut être transmise à la descendance.

Il y a trois grandes catégories de gènes associés aux pathologies cancéreuses : les oncogènes, les gènes suppresseurs de tumeurs et les gènes de réparation de l'ADN [2].

- **Les oncogènes** (appelés également proto-oncogènes ou c-onc) sont les régulateurs positifs de la prolifération cellulaire. Ils **deviennent hyperactifs** et leur modification est dominante car il suffit qu'une des deux copies du gène soit modifiée. Sont actuellement identifiés plus de 100 oncogènes. Les plus connus sont les gènes Ha-ras, myc, ou abl.
- La seconde catégorie comprend **les gènes suppresseurs de tumeurs** qui sont des régulateurs négatifs de la prolifération cellulaire (les freins). Les deux copies de ces gènes **sont inactivées** dans les cancers.
- La troisième catégorie correspond aux **gènes des multiples systèmes de réparation** qui sont capables de détecter et de réparer les lésions de l'ADN qui ont modifié les oncogènes ou les gènes suppresseurs de

tumeur. Ces systèmes de réparation **sont également inactivés** dans les cellules cancéreuses [2].

#### **IV- CHRONOLOGIE DE LA TRANSFORMATION CANCEREUSE**

La formation d'un cancer au sens strict comporte 3 étapes distinctes et nécessairement successives [2] :

- La carcinogenèse
- La cancérogenèse
- La tumorigenèse

##### IV-1- La carcinogenèse

Il s'agit de l'action de substances dites carcinogènes. Elles entraînent des anomalies génétiques touchant l'architecture ou une séquence de l'ADN. A ce stade, le cancer en formation n'est cliniquement pas observable et n'a pas de conséquence fonctionnelle.

##### IV-2- La cancérogenèse

Ce stade de la transformation cancéreuse nécessite trois étapes :

- **L'initiation ;**
- **la promotion ;**
- **la progression.**

Ces trois étapes sont obligatoirement successives et l'initiation précède toujours la promotion, sans quoi le processus cancéreux s'arrête. L'initiation correspond à l'accumulation des anomalies génétiques, la promotion à la

réception par la cellule de facteurs de prolifération qui vont entraîner les divisions et la progression en une sélection des cellules les plus malignes.

La transformation cellulaire nécessite deux éléments majeurs,

- **l'immortalisation** : les cellules deviennent incapables d'initier leur propre mort (apoptose) ou deviennent indépendantes aux signaux extérieurs qui la déclenche ;
- **la perte d'homéostasie** : caractérisée normalement par une balance divisions/mort qui assure le maintien de la taille et de la fonctionnalité d'un organe, les cellules cancéreuses perdent la sensibilité aux signaux qui régulent la prolifération [2].

#### **IV-2-1- L'initiation**

**C'est la conséquence de la carcinogénèse.** L'action des carcinogènes mute des gènes importants dans le maintien de l'intégrité et des caractéristiques de chaque type cellulaire. Il en résulte des pertes ou gains de fonctions cellulaires : activation ou dépression d'un oncogène, inhibition ou répression d'un gène suppresseur de tumeur. Cette étape est irréversible et assimilable à l'« immortalisation cellulaire ».

Les oncogènes sont souvent des activateurs de la multiplication ou des inhibiteurs de l'apoptose tandis que les gènes suppresseurs sont inducteurs de l'apoptose ou bloquent le cycle cellulaire [2].

#### IV-2-2- La promotion

Elle est caractérisée par une grande instabilité génomique et une augmentation de la perte d'homéostasie. L'instabilité génomique est due à des mutations de deux types de gènes :

- Gate keeper genes : ils assurent le contrôle du passage à une étape ultérieure du cycle cellulaire, ce sont des "points de contrôle" du cycle cellulaire. Une perte de fonction de ces gènes permet à la cellule cancéreuse de passer rapidement à la phase ultérieure du cycle cellulaire, donc *in fine* de proliférer de façon incontrôlée.
- Care taker genes : ils assurent physiologiquement la réparation des anomalies liées à l'ADN. Leur inactivation entraîne une instabilité accrue et une accumulation d'anomalies génétiques (mutation, perte d'hétérozygotie, modifications épigénétiques : hypo/hyperméthylation, désacétylation...).

A ce niveau d'évolution, le cancer est à un stade infra clinique: c'est une masse de cellules qui survit dans l'organisme. L'environnement des cellules cancéreuses (ou *stroma*, microenvironnement) est dit non coopératif : il ne fournit pas aux cellules cancéreuses les nutriments et le soutien que leur développement réclame.

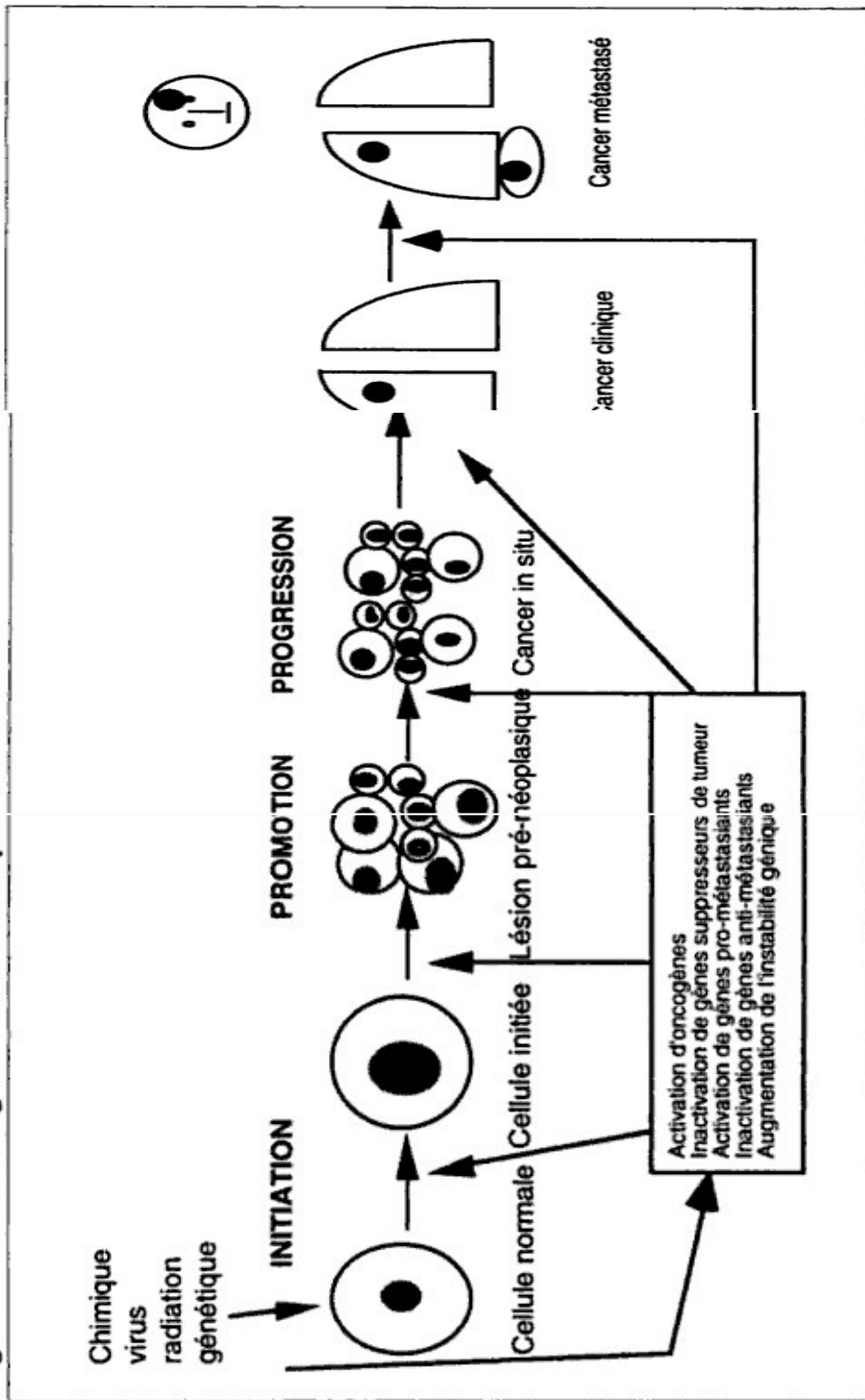
Cette phase est critique dans le développement clinique du cancer : si le stroma reste non-permissif, le cancer n'évolue pas, ou alors très lentement. Si en revanche il s'établit une réciprocité de maintien entre cancer et stroma (le cancer envoie des signaux permissifs au stroma, qui se modifie en faveur du cancer et va lui apporter nutriments et soutien, le cancer grossit, produit de plus en plus de signaux permissifs, etc.), l'évolution du cancer reprend et passe à un stade clinique. Le stroma devient permissif lorsqu'il est le siège d'une néoangiogenèse



(sécrétion par la tumeur de facteurs de croissance antigéniques, apparition des récepteurs à ces facteurs sur le stroma) et de l'apparition de récepteurs tumoraux aux facteurs de croissances cellulaires (boucle autocrine) ou micro environnementaux (boucle paracrine) [2].

#### **IV-2-3- La progression**

Il s'agit également d'une série d'évènements que subissent les cellules filles transformées descendantes des cellules primaires. Il existe durant cette phase une sélection permanente des clones les plus malins, c'est-à-dire ceux ayant le comportement le plus agressif (temps de doublement, capacité d'invasion, de dissémination). L'aboutissement de ce processus de sélection est celui de cellules capables de métastaser dans l'organisme [2].



**Figure 1 : Etapes de la cancérogénèse [1]**

### IV-3- La Tumorigenèse

Il s'agit du développement du cancer **donnant des conséquences cliniques** : il grossit dans des limites histologiques précises puis les dépasse et devient donc invasif avec production très probable de métastases.

La néoangiogenèse et la mise en place d'une circulation sanguine stable et relativement efficace est préalable et indispensable à cette phase : la croissance tumorale est telle qu'elle ne peut plus se contenter d'une diffusion à partir d'un stroma non permissif mais nécessite des apports importants et dédiés.

La tumeur grossit jusqu'à atteindre la lame basale : le cancer est dit in situ et son risque de métastase est faible. La croissance tumorale continue et la membrane basale se rompt, le cancer devient invasif : les cellules cancéreuses ont alors de grandes facilités à atteindre les courants métastatiques (circulations lymphatique pour les carcinomes et veineuse pour les sarcomes) et la dissémination dans le corps débute [2].

## V- PROLIFERATION CELLULAIRE

### V-1- Cycle cellulaire

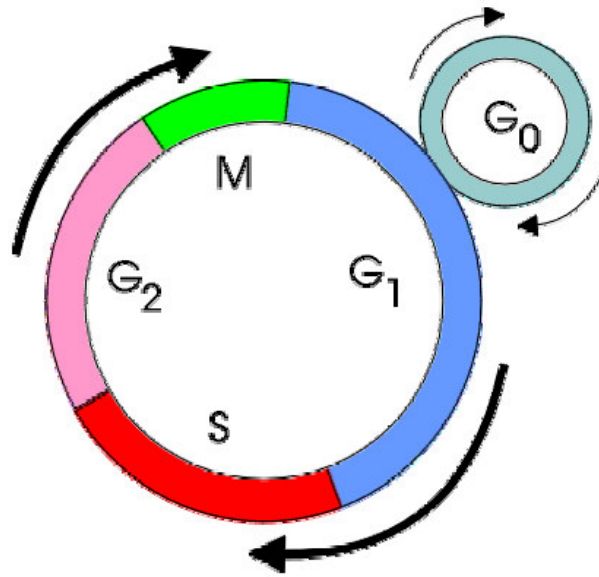
Une bonne compréhension du cycle cellulaire est une étape importante pour connaître les mécanismes d'action des agents anticancéreux. Ainsi, les cellules dans le tissu vivant se trouvent dans l'un des trois états suivants :

- la division active (le cycle cellulaire proprement dit),
- la différenciation,
- la phase de repos (ou G0).

Le cycle cellulaire se divise en quatre phases bien distinctes (Figure 2) :

- **la phase G1** est la phase post-mitotique. La cellule fabrique l'ARNm, les protéines et l'ensemble du matériel nécessaire à son bon fonctionnement,
- **la phase S**, constitue la phase pendant laquelle la cellule fabrique tous les éléments indispensables pour la formation des deux cellules filles, notamment l'ADN. Ainsi, à la fin de la phase S, la cellule a une quantité double d'ADN. De plus les enzymes telles que les ADN ou ARN polymérase, les topoisomérases I et II voient leur activité amplifiée,
- **la phase G2** est la phase pré-mitotique, pendant laquelle la cellule continue à synthétiser de l'ARN, des protéines et contrôle que la réplication de l'ADN a bien été réalisée (réparation post-réplivative),
- **la phase M** (mitose) est la phase pendant laquelle, les chromosomes cellulaires se dédoublent et se séparent, conduisant ainsi à deux cellules filles, identiques à la cellule mère.

Au cours de cette période active qu'est le cycle cellulaire, la cellule peut entrer en phase de repos (ou G0), pendant laquelle elle est susceptible de débiter un nouveau cycle à tout moment.



**Figure 2 : Représentation schématique du cycle cellulaire [50]**

## V-2- Régulateurs du cycle cellulaire

La compréhension des mécanismes de contrôle du cycle cellulaire a connu une grande avancée dans les années 1970-1980, grâce aux recherches et découvertes des trois lauréats du prix Nobel de Physiologie et Médecine en 2001 que sont les scientifiques, Hartwell, Nurse et Hunt.

Ils ont identifié les molécules clés qui régulent le cycle cellulaire chez tous les organismes eucaryotes.

Ainsi, à la fin des années 1980, la conception du cycle cellulaire s'est enrichie par la démonstration que les transitions au sein d'un cycle cellulaire sont universellement contrôlées par les variations d'activité de protéines kinases spécialisées [2].

Ces protéines se divisent en deux sous-unités :

- **La sous-unité catalytique appartenant à la famille des CDK** (Cyclin Dependent Kinase), nous pouvons citer :

- les CDK1 à CDK4 et CDK6 intervenant dans le cycle cellulaire,
- les CDK7, CDK8 et CDK9 agissant sur la régulation de la transcription,
- la CDK7 jouant également un rôle d'activateur de ces CDK parents,
- la CDK5 intervenant dans les mécanismes de différenciation neuronale

- **La sous-unité régulatrice appartenant à la famille des Cyclines.**

L'activité des complexes CDK / Cyclines est parfois dépendante de mécanismes de surveillance (point de restriction) empêchant la cellule de poursuivre son cycle si un défaut est constaté. Cet arrêt du cycle cellulaire est mis à contribution pour réparer les erreurs constatées, avant que la cellule ne progresse à un stade où toute réparation serait impossible.

La connaissance de ces molécules permet de mieux comprendre les mécanismes viraux et chimiques de cancérisation, et d'élaborer des inhibiteurs sélectifs de ces complexes CDK / Cyclines [2].

## **VI- EPIDEMIOLOGIE DU CANCER**

### **VI-1- Situation dans le monde**

Le cancer est une cause majeure de décès dans le monde à l'origine de 7,4 millions de décès en 2004, soit 13% de la mortalité mondiale.

Les cancers du poumon, de l'estomac, du foie, du colon et du sein sont chaque année les plus meurtriers.

Les cancers les plus fréquents ne sont pas les mêmes chez l'homme et chez la femme.

L'OMS estime que d'ici 2030, le nombre de décès par cancer devrait poursuivre sa progression et atteindre 12 millions de personnes [49].

### Charge mondiale du cancer

Les principaux types de cancer responsables de la mortalité cancéreuse sont les suivants:

- cancer du poumon (1,3 million de décès);
- cancer de l'estomac (803 000 décès);
- cancer du foie (639 000 décès);
- cancer du colon (610 000 décès);
- cancer du sein (519 000 décès),

Plus de 70% des décès par cancer surviennent dans les pays à faible revenu ou à revenu intermédiaire.

Dans le monde, les types de cancer les plus fréquents, en fonction du nombre de décès au niveau mondial, sont:

- chez l'homme: les cancers du poumon, de l'estomac, du foie, du colon et rectum, de l'œsophage et de la prostate;
- chez la femme: les cancers du sein, du poumon, de l'estomac, du colon et rectum et du col de l'utérus [49].

## VI-2- Situation en Côte d'Ivoire

En Côte d'Ivoire, cette affection est en nette progression avec une incidence aujourd'hui estimée à 100 cas pour 100 000 habitants.

Les plus fréquents sont ceux de la prostate et du foie chez l'homme, ceux du sein et du col de l'utérus chez la femme et le lymphome de Burkitt chez l'enfant. Leur diagnostic est souvent fait à un stade tardif dans la majorité des cas <sup>[44]</sup>.

A ce titre, la lutte contre le cancer est une priorité gouvernementale qui fait l'objet depuis 2007 d'un plan de lutte mis en œuvre avec le Programme National de Lutte Contre le Cancer (PNLCA).

## VII- DIFFERENTES VOIES THERAPEUTIQUES

Aujourd'hui, dans les traitements du cancer, six armes sont employées, seules ou en association, pour combattre la croissance anarchique des cellules cancéreuses, l'invasion des tissus cellulaires et la formation de métastases.

### VII-1- La chirurgie

Elle consiste à enlever la tumeur ou les tissus détériorés par le cancer. C'est le principal mode de traitement des tumeurs solides localisées. Son efficacité est maximale lorsque le dépistage est précoce [10].

### VII-2- La radiothérapie

Elle est utilisée seule ou en association avec la chirurgie. La tumeur est traitée en utilisant des rayonnements ionisants de l'extérieur ou de l'intérieur.

Ainsi, on distingue :



- La **radiothérapie externe** où la source d'irradiation est située à l'extérieur du malade (appareils à RX, source de Cobalt, accélérateurs) ;
- La **curiethérapie** où les sources radioactives sont placées à l'intérieur de l'organisme :
  - curiethérapie par sources scellées (solides)
    - curiethérapie interstitielle : sources placées dans la tumeur,
    - curiethérapie endocavitaire : sources placées à l'intérieur de la cavité naturelle dans laquelle se développe la tumeur
  - curiethérapie par sources non scellées (radiothérapie métabolique): I<sup>131</sup>, P<sup>32</sup>, St<sup>189</sup>, ... [30]

### VII-3- La chimiothérapie

Consiste en l'emploi d'agents chimiques ayant la propriété de tuer les cellules en cours de division. Cette arme thérapeutique s'est révélée efficace face à un certain nombre de maladies, comme la leucémie, le cancer des testicules, les lymphomes ou encore contre les tumeurs malignes. Cependant les anticancéreux utilisés cliniquement manquent de sélectivité, ils détruisent de nombreuses cellules saines entraînant parfois des effets secondaires (anémie, diarrhée, chute des cheveux, nausées, ...) [45].

Cette alternative thérapeutique sera développée plus loin avec plus de détails concernant les molécules utilisées.

#### VII-4- L'hormonothérapie

Elle est utilisée pour les cancers affectant des organes dont le fonctionnement est hormonodépendant (sein, prostate, thyroïde). Il s'agit d'injecter dans l'organisme des substances inhibitrices de la production hormonale (anti-œstrogènes dans le cas du cancer du sein) de sorte à dérégler le cycle de production des cellules tumorales [30].

Sont inclus parmi les cancers hormono-dépendants :

- Le cancer du sein ;
- le cancer de la prostate ;
- le cancer du col de l'utérus ;
- le cancer de la thyroïde ;
- le cancer des ovaires ;
- le cancer des reins.

#### VII-5- L'immunothérapie

Elle consiste à stimuler de façon sélective le système immunitaire, chargé d'inhiber le développement des tumeurs cancéreuses. Actuellement, les traitements sont peu sélectifs, et engendrent un renforcement de l'activité globale de ce système immunitaire plutôt que l'activation sélective de molécules et / ou de cellules, pouvant combattre les cellules cancéreuses. Néanmoins, les progrès récents dans la compréhension du système immunitaire laissent à espérer la fabrication de nouvelles armes plus spécifiques contre le cancer, comme les vaccins peptidiques anti tumoraux [25].

L'une des molécules à avoir atteint le stade III de développement clinique est le MAGE-A3 [48].

## VII-6- La nano-thérapie

Le principe de cette technique repose sur la possibilité de transférer des gènes de façon très ciblée dans les cellules cancéreuses. Cela a été possible en enrobant ces gènes de nanoparticules qui ne pénètrent qu'à l'intérieur des cellules cancéreuses. Une fois à l'intérieur des cellules cancéreuses, les gènes stimulent la production de protéines qui détruisent les tumeurs.

Plusieurs projets de recherche sont en cours pour appliquer la nanotechnologie à la thérapie anticancéreuse [4].

Des particules à cœur magnétique ou des protéines pourront ainsi être utilisées pour cibler et détruire les cellules anormales.

D'autres applications s'orientent vers le diagnostic précoce avec l'utilisation de sondes microscopiques capables d'analyser en temps réel le métabolisme [27].

## VIII- LA CHIMIOTHERAPIE ANTICANCEREUSE

La chimiothérapie anti tumorale est le traitement dans lequel les chimistes sont les plus impliqués par l'utilisation d'un ensemble de substances chimiques, pouvant par divers mécanismes, tuer les cellules cancéreuses actives. Ces substances peuvent agir :

- en interférant (le plus souvent) avec la biosynthèse de macromolécules (ADN, ARN, protéines) pour entraîner la destruction des cellules cancéreuses. Ce sont

**les anticancéreux cytotoxiques**

- en inhibant la prolifération cellulaire. Ce sont **les anticancéreux cytostatiques**.

Chaque famille d'agents anticancéreux agit spécifiquement sur une phase déterminée du cycle cellulaire. Une classification peut-être effectuée suivant :

- leur mode d'action et l'impact sur le cycle cellulaire
- leur pharmaco-chimie.

## VIII-1- CLASSIFICATION SELON LE MODE D'ACTION ET L'IMPACT SUR LE CYCLE CELLULAIRE

### VIII-1-1- Classification selon le mode d'action

#### ➤ Les médicaments altérant l'ADN

#### Il s'agit des :

- alkylants ;
- intercalants ;
- inhibiteurs de la topoisomérase I et II ;
- anti métabolites.

#### ➤ Les médicaments entraînant une altération du fuseau mitotique :

Ce sont les antimitotiques

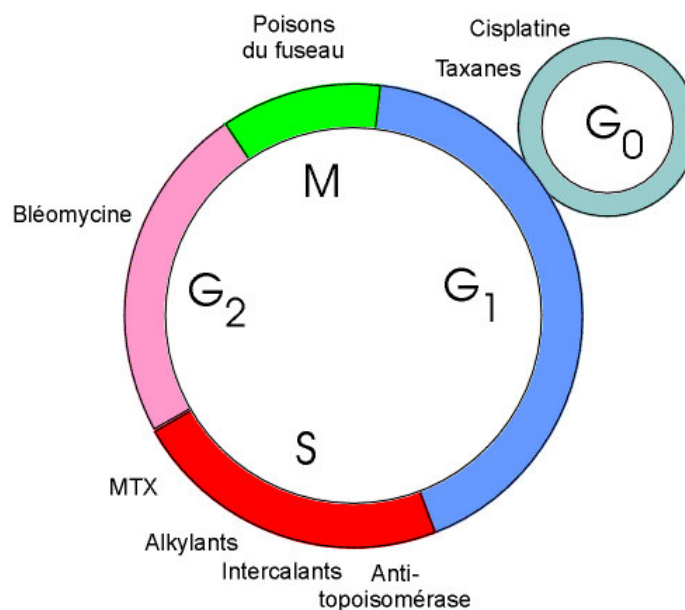
#### ➤ Cytokines :

Le représentant utilisé à l'heure actuelle est l'interféron alpha.

#### ➤ Médicaments agissant sur le système hormonal :

Ils sont dits **antihormonaux** [30].

### VIII-1-2- Classification selon l'impact sur le cycle cellulaire



**Figure 3 : Cible des anticancéreux au niveau du cycle cellulaire [47]**

## VIII-2- CLASSIFICATION PHARMACO-CHIMIQUE

Les agents anticancéreux se distinguent du point de vue pharmacothérapeutique par leur mécanisme d'action qui peut être une action :

- Cytotoxique par lyse des cellules cancéreuses

- Les Alkylants
- Les Intercalants
- Les Inhibiteurs de la topoisomérase
- Les Antimitotiques
- Les Inhibiteurs de la synthèse protéique
- Les Anti métabolites

- Cytostatique par altération irréversible des fonctions vitales de la cellule cancéreuse.

- Les médicaments hormonaux et antihormonaux.
- Les inhibiteurs de la réponse cellulaire
  - Les interférons
  - Les interleukines

### VIII-2-1- Les Alkylants

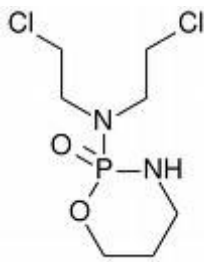
Ce sont des substances qui possèdent un ou plusieurs groupements alkyles ou alcoyles très nucléophiles interagissant avec différentes macromolécules (ADN, ARN...) en établissant des liaisons covalentes sur certains des atomes des bases puriques et pyrimidiques de l'ADN.

Les alkylants inhibent la transcription et la réplication de l'ADN par induction de lésions cellulaires létales en libérant des radicaux libres entraînant des cassures

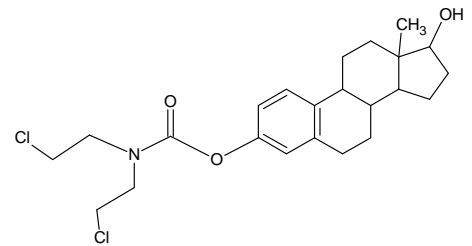
de la chaîne d'ADN. Ce sont également des agents mutagènes à potentiel leucémogène.

### 1) Moutardes à l'azote

Cyclophosphamide



Estramustine

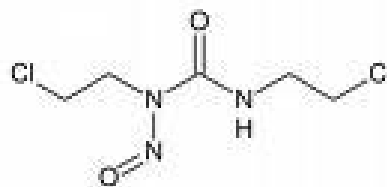


**Figure 4 : Structure chimique des moutardes à l'azote**

### 2) Les nitrosurées

Elles nécessitent d'être catabolisées pour être actives, les catabolites se comportent comme des alkylants.

Le représentant de cette classe est la Carmustine



**Figure 5 : Structure de la Carmustine**

### 3) Les alkylants apparentés

#### ➤ Sels de platine

L'un des représentants est le Cisplatine

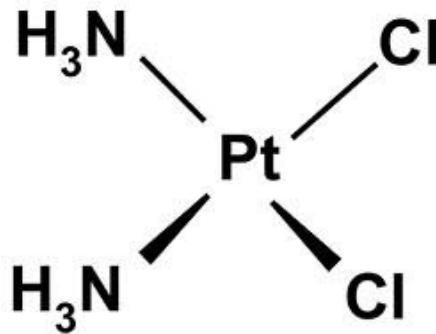


Figure 6 : Structure du cisplatine

#### VIII-2-2- Les intercalants

Anticancéreux cytotoxiques d'origine extractive et de synthèse qui ont la capacité de détruire les cellules cancéreuses en s'intercalant entre les bases nucléotidiques de l'ADN.

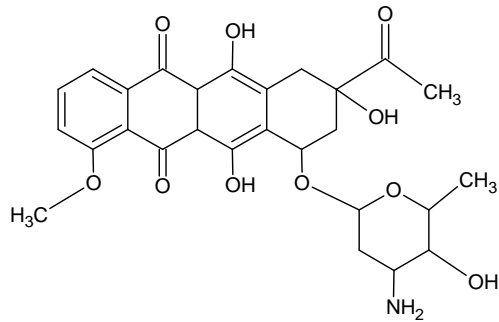
Une telle action étant à l'origine de :

- La création de lésions létales
- L'inhibition d'un certain nombre d'activités enzymatiques telles que l'action des polymérases et des topoisomérases.

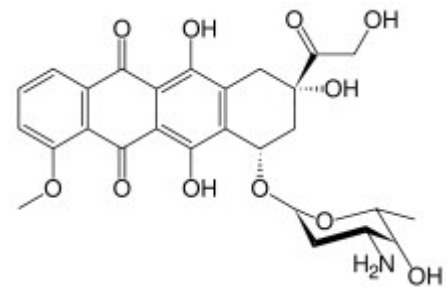
Ils se distinguent en :

- **Intercalants antibiotiques (Anthracyclines)**

Daunorubicine



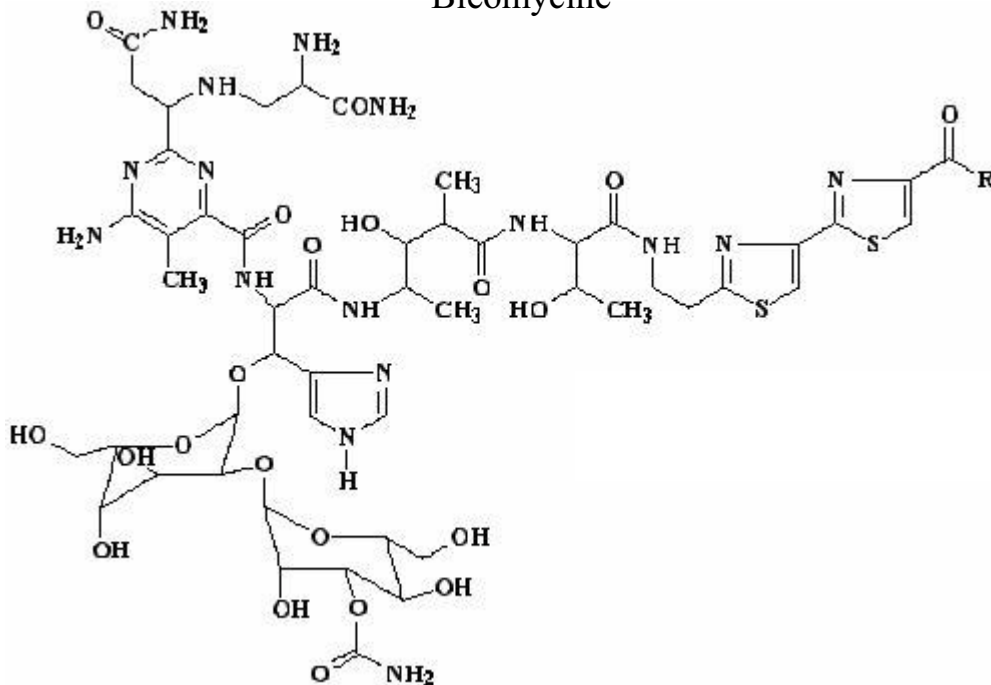
Doxorubicine



**Figure 7 : Structure chimique des intercalants anthracycliques**

- **Intercalants agents scindants**

Bléomycine



**Figure 8 : Structure chimique de la Bléomycine**



### VIII-2-3- Les inhibiteurs de topoisomérases

La topoisomérase I (enzyme permettant de couper un seul brin d'ADN) et la topoisomérase II (enzyme permettant la rupture de deux brins d'ADN) [35] sont des enzymes capables de réguler la topologie de l'ADN durant la transcription, en effectuant une rupture transitoire et réversible d'une liaison phosphodiester de l'ADN. Ces agents anticancéreux, inhibiteurs de topoisomérases, stabilisent ces ruptures de l'ADN, et empêchent le phénomène de réplication et de réparation de l'ADN [16].

Certains de ces dérivés sont également décrits comme agents intercalants. Ce concept d'intercalation, proposé par Lerman en 1961, décrit la capacité de ces composés à s'insérer entre les paires de bases de l'ADN [20]. Ce phénomène d'intercalation participe sans doute à la toxicité de ces agents anti tumoraux, mais il ne l'explique pas de façon exhaustive.

Le tableau I rapporte quelques exemples d'agents intercalants à effet anti-topoisomérase.

**Tableau I : Exemple d'agents intercalants à effets anti topoisomérase [19]**

	Inhibiteur de Topoisomérase-I (Topo-I)	Inhibiteur de Topoisomérase-II (Topo-II)	Inhibiteur mixte (Topo-I et Topo- II)
Effet intercalant	<b>Indolocarbazoles</b>	<b>Actinomycine D</b> <b>Intoplicine</b>	<b>Acridines</b> <b>Ellipticines</b> <b>Anthracyclines</b> <b>Naphtoquinones</b>
Sans effet intercalant	<b>Camptothécine</b>	<b>Indoloquinolinedione</b>	<b>Etoposides</b> <b>Ténoposides</b>



### VII-2-3-2- Les inhibiteurs des topoisomérases I et II

- L'Actinomycine D

- L'intoplicine [31].

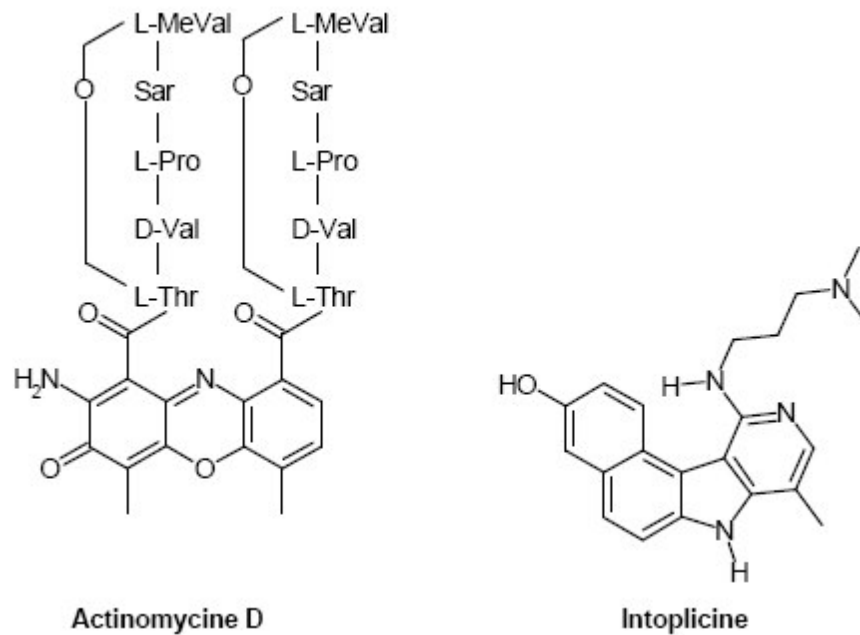


Figure 11 : Structure chimiques de l'Actinomycine D et de l'Intoplicine

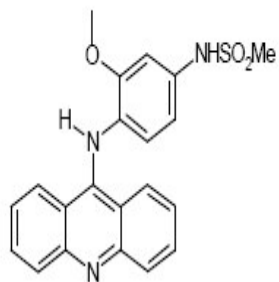
### VII-2-3-3- Les inhibiteurs de la topoisomérase II

- Les acridines (Amsacrine, ...).

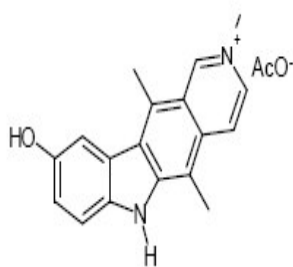
- Les ellipticines (Acétate d'ellipticinium, ...).

- Les anthracyclines[3] (Mitoxantrone, Daunorubicine, Doxorubicine,..)

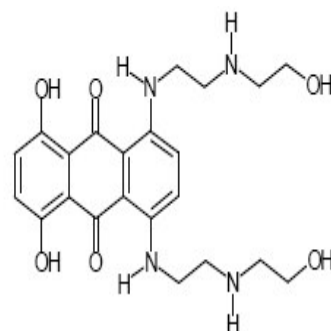
- Les épipodophyllotoxines[13] (Podophyllotoxine, Etoposide, Ténoposide).



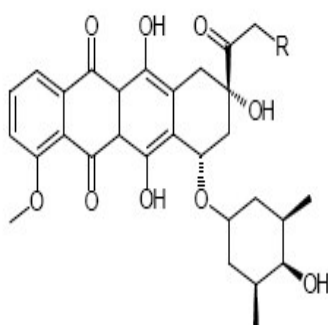
Amsacrine



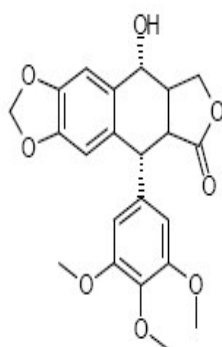
Acétate d'ellipticinum



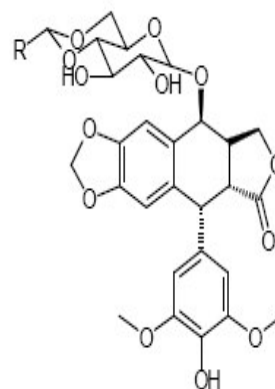
Mitoxantrone



R = H Daunorubicine  
R = OH Doxorubicine



Podophyllotoxine



Etoposide : R = Me  
Téniposide : R = 2-thiényl

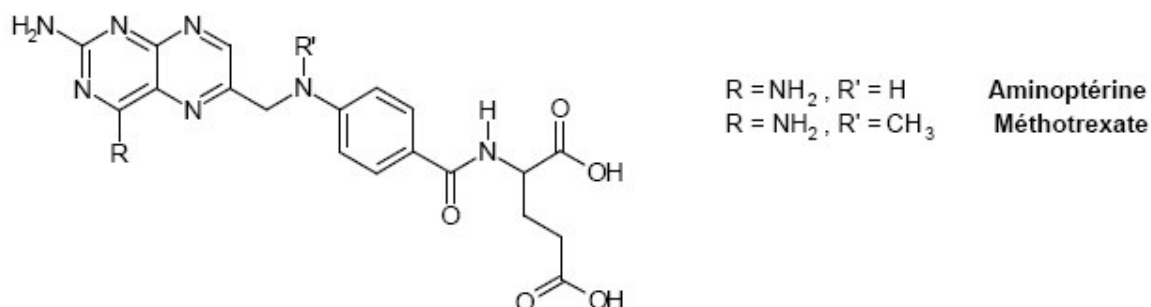
**Figure 12 :Structure chimique de différents  
inhibiteurs de topoisomérases II**

#### VII-2-4- Les antimétabolites

Les antimétabolites sont des composés qui empêchent la synthèse des acides nucléiques, soit en inhibant des enzymes nécessaires à cette biosynthèse, soit en s'insérant dans les acides nucléiques tels que l'ADN ou l'ARN [26]. Il existe trois classes :

### VII-2-4-1- Les antifolates

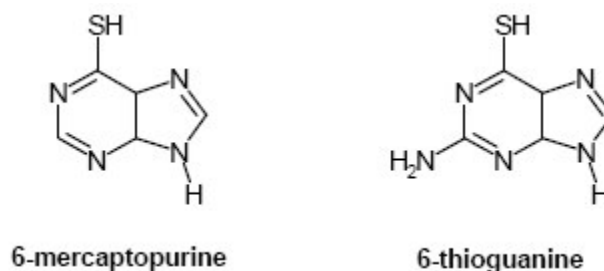
Ce sont des analogues structuraux de l'acide folique (Méthotrexate, Aminoptérine, ...).



**Figure 13 : Structure chimique de l'Aminoptérine et du Méthotrexate**

### VII-2-4-2- Les antipurines

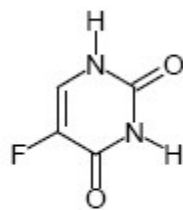
Ce sont des analogues structuraux des bases puriques, [6-Mercaptopurine, 6-Thioguanine, Cladribine, la Pertostatine,...].



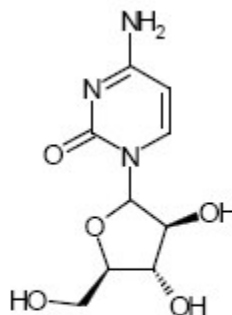
**Figure 14 : Structure chimique de quelques antipurines**

### VII-2-4-3- Les antipyrimidines

Ce sont des analogues structuraux des bases pyrimidiques, [5-Fluorouracile, Cytarabine ,...].



5-Fluorouracile



Cytarabine

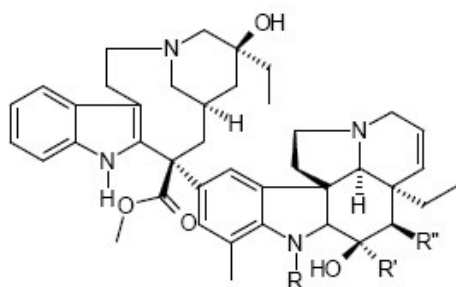
**Figure 15 : Structure chimique de quelques antipyrimidines**

### VII-2-5- Les antimétabolites ou agents tubulo-affins

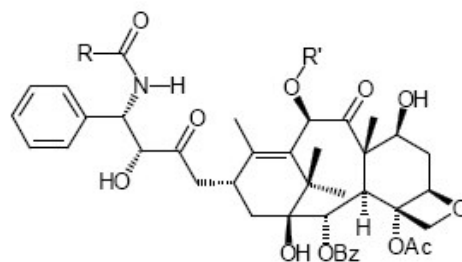
La tubuline est une autre cible, après l'ADN, des agents anti tumoraux. C'est une protéine, permettant la répartition symétrique des différents chromosomes lors de la division cellulaire.

Elle se présente soit sous la forme d'un dimère, soit sous forme d'un polymère (microtubules).

Certaines substances sont capables de bloquer la polymérisation ou la dépolymérisation de la tubuline. La Vincristine, la Vinblastine ou Vindésine se fixent sur la tubuline et inhibent sa polymérisation, tandis que le Paclitaxel ou le Docétaxel inhibent sa dépolymérisation [15].



R = CH<sub>3</sub>, R' = COOCH<sub>3</sub>, R'' = OCOCH<sub>3</sub> **Vinblastine**  
 R = CHO, R' = COOCH<sub>3</sub>, R'' = OCOCH<sub>3</sub> **Vincristine**  
 R = CH<sub>3</sub>, R' = CONH<sub>2</sub>, R'' = OH **Vindésine**



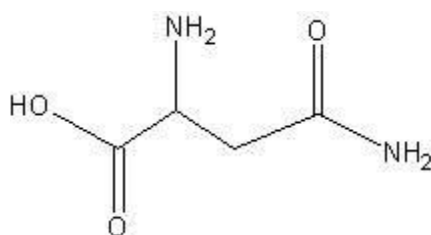
R = Ph, R' = Ac, **Paclitaxel**  
 R = Ot-Bu, R' = H, **Docétaxel**

**Figure 16 : Structure chimique des antimitotiques**

### VII-2-6- Les inhibiteurs de la synthèse protéique

Ils représentent une classe d'anticancéreux cytotoxiques et cytostatiques qui ont la capacité d'inhiber la synthèse de la matière protéique cellulaire en hydrolysant un ou plusieurs acides aminés nécessaires à sa constitution [30].

A l'heure actuelle, il n'existe qu'un seul représentant : L'**Asparaginase**



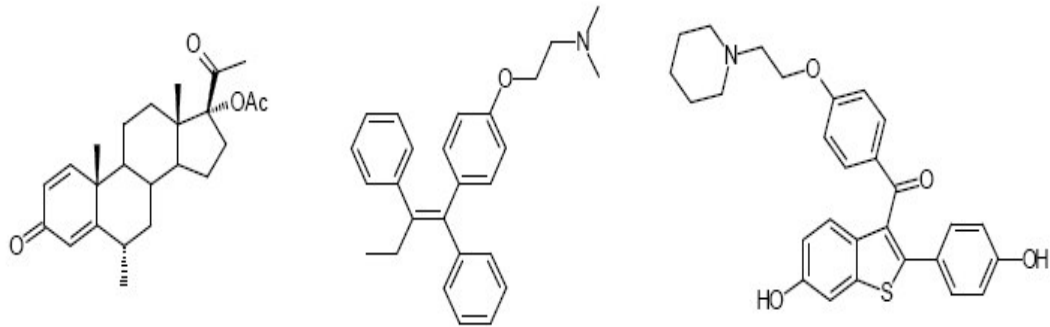
**Figure 17 : Structure chimique de l'Asparaginase**

### VII-2-7- Les agents hormonaux

L'existence de tumeurs hormono-dépendantes (cancer du sein, de la prostate, de l'utérus, ...) a été à l'origine de l'utilisation de composés analogues aux hormones dans les traitements anticancéreux, tels que l'Acétate de méthoxyprogestérone, le Tamoxifène et le Raloxifène[36].

En effet, les récepteurs hormonaux jouent un rôle fondamental dans le développement des cellules cancéreuses[23].





Acétate de médroxyprogestérone

Tamoxifène

Raloxifène

### Figure 18 : Structure chimique d'agents hormonaux anticancéreux

Toutes ces molécules présentent à plus moins grande mesure des effets secondaires très gênants pour le malade. Avec le mode de traitement au long court, la thérapie subit des mauvaises observances. De telles observations ont donc suscité la recherche de nouvelles alternatives comme l'immunothérapie et la nanothérapie énoncés plus haut.

## **CHAPITRE II : LA DOXORUBICINE**

## I- HISTORIQUE

La Doxorubicine est une substance antibiotique antinéoplasique à effet cytotoxique isolé en Italie en 1965.

Elle est le chef de file de la famille des anthracyclines. Son nom usuel, adriamycine, rappelle son origine italienne. En effet elle est produite par une souche bactérienne d'actinomycètes que l'on trouve sur les rivages de la mer adriatique [45].

## II- PRESENTATION CHIMIQUE

### II-1- Nomenclature du produit

- La Doxorubicine (ou Adriamycine) est le *(8S,10S)-10-(4-amino-5-hydroxy-6-méthyl-tétrahydro-2H-pyran-2-oxo)-6,8,11-trihydroxy-8-(2-hydroxyacétyl)-1-méthoxy-7,8,9,10-tétrahydrotétracène-5,12-dione*.

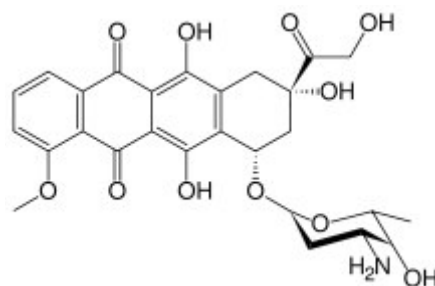
PM= 543,5 g/mol.

- Le chlorhydrate de doxorubicine

$C_{27}H_{30}ClNO_{10}$ [41].

PM= 563,5 g/mol.

### II-2- Structure chimique



**Figure 19 : Structure chimique de la doxorubicine**

### **III- PROPRIETES PHARMACOLOGIQUE**

Elle possède la double propriété d'intercalant de base nucléotidiques et d'inhibiteur de topoisomérase, lui valant ainsi son indication en chimiothérapie anticancéreuse [31].

### **IV- CARACTERISTIQUES PHYSICOCHEMIQUES**

La doxorubicine se présente sous forme de poudre de couleur rouge orangée intense hygroscopique. Elle est soluble dans l'eau et dans les acides minéraux, d'où son utilisation sous forme de chlorhydrate de Doxorubicine. Elle est cependant peu soluble dans le méthanol [22].

### **V- PHARMACOLOGIE**

#### V-1- Mécanisme d'action pharmacologique

Anticancéreux cytotoxiques immunosuppresseur, possédant à la fois des propriétés d'intercalant des bases puriques et celles d'inhibition de la Topoisomérase II.

Elle agit par :

- Création de lésions létales
- Inhibition d'un certain nombre d'activités enzymatiques (action des polymérase et des topoisomérase II)

Tout ceci résulte en une inhibition de la réplication de l'ADN et partant une mort cellulaire.

## IV-2- Pharmacocinétique

### IV-2-1- Absorption

Le chlorhydrate de doxorubicine est administré par voie injectable. Une fois administrée, 5% de la dose est résorbés par le tractus gastro-intestinal [22].

### IV-2-2- Répartition

La liaison aux protéines est de 50-85%. La molécule quitte ensuite rapidement le plasma pour se fixer sur les tissus sous forme active non métabolisée (principalement les reins, le foie, la rate, le cœur et les poumons). Elle ne franchit pas la barrière hémato-encéphalique, mais peut franchir la barrière placentaire. Le chlorhydrate de doxorubicine passe dans le lait maternel[22].

La molécule subit une élimination triphasique correspondant respectivement au captage tissulaire, au métabolisme et au relargage de la substance à partir de ses sites de liaison. Les demi-vies correspondantes sont de 10 à 30 minutes, de 10 heures et de 24 à 48 heures.

### IV-2-3- Métabolisme

Son métabolisme reste à ce jour mal connu. Toutefois il est à noter qu'il s'effectue à la fois au niveau du plasma et du foie (Figure 20).

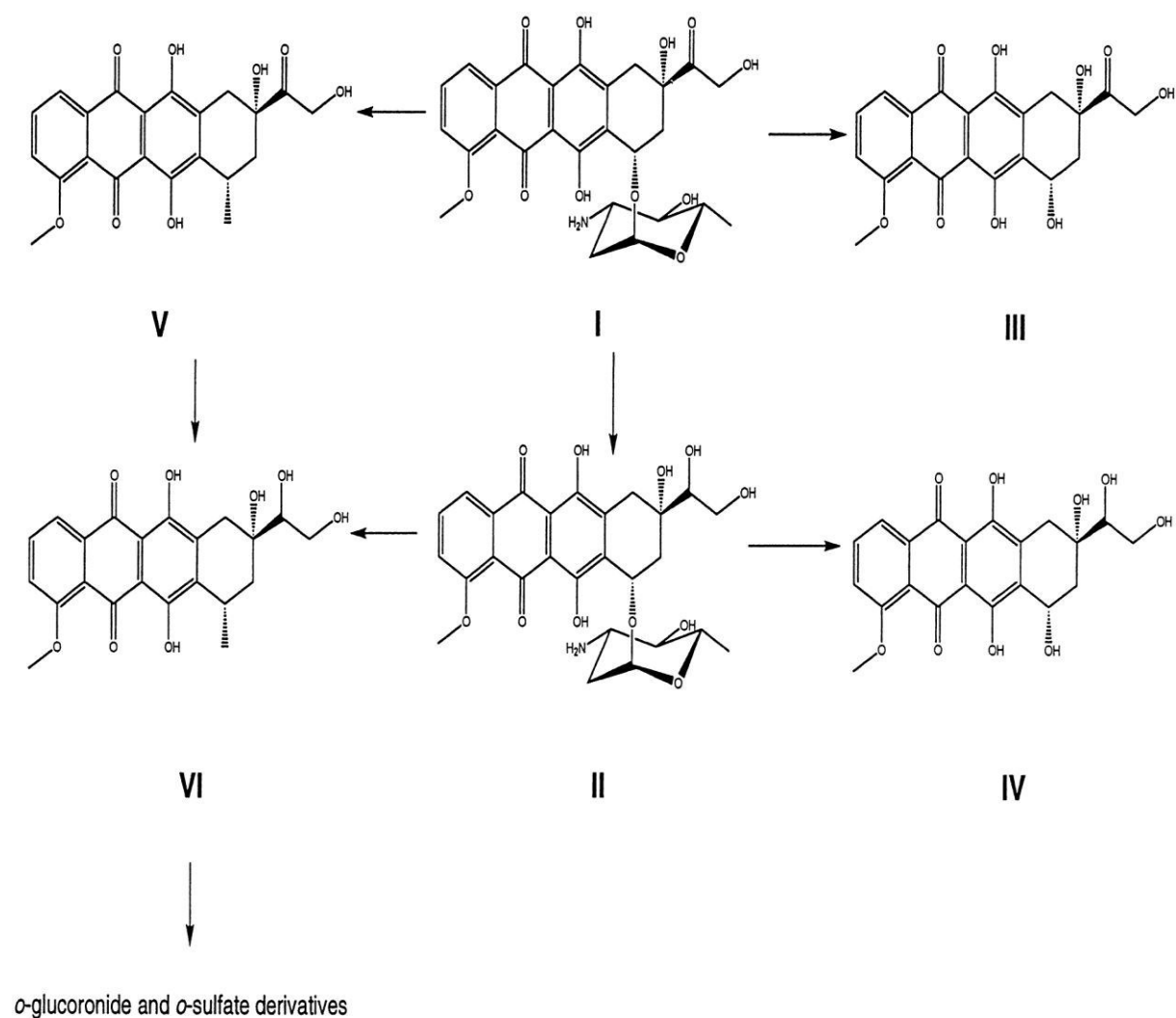
Quelque soit le lieu, la doxorubicine (I) subit :

- Une transformation en molécules inactives (III et V) qui sont des **déoxyaglycones**,
- une réduction en **doxorubicinol (II)** qui possède une activité anti tumorale et retrouvée dans le plasma et dans l'urine.

Le doxorubicinol est ensuite métabolisé en :

- **Aglycone de doxorubicinol (VI)** ou en
- **Aglycone de déoxydoxorubicinol (IV)**

L'aglycone de doxorubicinol sera ensuite métabolisé par glucuroconjugaison et sulfoconjugaison en *o*-glucuronides et *o*-sulfates dont l'activité reste encore à déterminer [12]



**Figure 20 : Métabolisme de la doxorubicine**

#### IV-2-4- Elimination

Elle s'effectue principalement par voie biliaire sous forme de produit inchangé et de métabolites : 40 à 50% de la dose en 7 jours.

Des cas d'exposition accrue au doxorubicinol probablement due à la saturation de l'excrétion biliaire de ce composé en fin de perfusion ont été rapportés après perfusion continue de 120 mg/m<sup>2</sup> pendant 6 heures.

La seconde voie d'élimination est la voie fécale : environ 50% de la dose administrée sont retrouvés dans les fèces 7 jours après l'administration.

La voie rénale élimine quant à elle moins de 5% de la dose administrée par voie intraveineuse en 5 jours et environ 25% en une semaine, principalement sous forme de produit inchangé [46].

### VI- ASPECTS THERAPEUTIQUES

#### V-1- Indications

Elles sont nombreuses en fonction de la nature du cancer. Seule, la molécule est utilisée pour le traitement de :

- Leucémie aigue lymphoblastique .
- Leucémie aigue myéloblastique .
- Leucémie myéloïde chronique (crise blastique) .
- Maladie de Hodgkin [46]

**En association** elle est utilisée selon différents protocoles pour le traitement de :

- Lymphome diffus a grandes cellules :
  - Cyclophosphamide, Vincristine, Doxorubicine, Prednisone (**protocole CHOP**).

- Bléomycine, Doxorubicine, Cyclophosphamide, Vincristine, Prednisone, Méthotrexate, avec Leucovorine comme protecteur (**protocole M-BACOP**).
- Prednisone, Méthotrexate-Leucovorine, Doxorubicine, Cyclophosphamide, Etoposide et Méchloréthamine, Vincristine, Procarbazine, Prednisone (**protocole PROMACE-MOPP**).
- Bléomycine, Doxorubicine, Cyclophosphamide, Vincristine, Prednisone, Procarbazine (**protocole COP-BLAM**)
- Bléomycine, Doxorubicine, Cyclophosphamide, Vincristine, Prednisone (**protocole BACOP**).

- **Cancer du poumon à petites cellules :**

La Doxorubicine est associée au Cyclophosphamide à la Vincristine, au Cisplatine e à l'Etoposide.

- **Cancer du sein métastaté :**

Associée au 5-Fluorouracile et au Cyclophosphamide (**protocole FAC**).

- **Cancer de l'ovaire**

- **Cancer de la vessie :**

Elle est dans ce cas associée au Méthotrexate, la Vincristine et le Cyclophosphamide (**protocole MVAC**).

- **Myélome multiple :**

Associée à la Vincristine et la Dexaméthasone (protocole VAD).



- **Neuroblastome** : Chez l'enfant.
- **Sarcome d'EWING**  
Associée au Cyclophosphamide et à la Vincristine.
- **Sarcome des parties molles** :

Elle a déjà été utilisée en monothérapie, notamment dans les formes métastatiques, avec des réponses objectives de l'ordre de 20 %.

- **Cancer de la prostate** (en deuxième intention)
- **Cancer de l'estomac** (en deuxième intention)
- **Tumeur carcinoïde** (en deuxième intention)
- **Néphroblastome** (en deuxième intention)
- **Insulinome pancréatique**

La molécule n'a cependant pas montré d'efficacité dans l'insulinome malin même avec l'association habituelle à la Streptozocine.

- **Sarcome de Kaposi** (en deuxième intention) [2].

## V-2- Effets secondaires

Les effets secondaires imputables à la doxorubicine sont :

### ➤ Au niveau cardio-vasculaire :

Elle peut être à l'origine d'une cardiotoxicité de différentes manifestations.

Cette cardiotoxicité serait due à une réduction sous l'effet d'un stress oxydatif de la transcription du gène codant la protéine transporteuse de calcium, SERCA 2 avec :

- des troubles de la repolarisation ;
- une tachycardie sinusale ;
- une insuffisance cardiaque chronique :

Celle-ci est favorisée par des doses supérieures à 550 mg/m<sup>2</sup>, et la préexistence de facteurs de risque.

Un tel effet impliquant une surveillance échographique et angiographique stricte.

Une insuffisance cardiaque apparaîtrait chez 5 % des enfants dans les 15 ans suivant le traitement par une anthracycline.

Une dose cumulée supérieure à 450 mg / m<sup>2</sup> constituerait un facteur de risque.

- Une extrasystole auriculaire :

Celle-ci serait potentialisée par l'hyperthermie.

La doxorubicine, en 5 cures à 3 semaines d'intervalle, ne semblerait pas provoquer d'arythmie, même s'il existe des antécédents de troubles du rythme.

- parfois une extrasystole auriculaire et ventriculaire potentialisée par l'hyperthermie.
- Une myocardite peut en général être observée dans les cas de traitement prolongé, mais peut également se voir au début du traitement et semble être annoncée par un microvoltage à l'ECG et des troubles de la repolarisation. Cette myocardite est rarement réversible.
- une péricardite ;
- un arrêt cardiaque.

➤ Au niveau hématologique

La doxorubicine est à l'origine d'une

- Aplasie médullaire
- une leucopénie
- une thrombopénie
- une anémie

➤ Au niveau de la peau et des muqueuses

La doxorubicine peut être à l'origine de :

- Cancer de la peau
- Extravasation periveineuse
- une ulcération de la bouche
- une ulcération de la muqueuse nasale
- une nécrose cutanée au point d'injection
- Une modification de la coloration de la peau au niveau des paumes, des ongles et le long des veines injectées
- Une épidermolyse aiguë favorisée par une irradiation cutanée diffuse
- une stomatite

➤ Des troubles digestifs

Ils sont à type de :

- diarrhée
- de nausée et de vomissements qui surviennent 3 à 6 heures après l'injection.

➤ Sur l'état général du malade

- de la fièvre
- l'alopecie

- Elle entraîne parfois des réactions d'hypersensibilité.

➤ Au niveau de l'œil

Il a été rapporté des cas d'œdèmes périorbitaires, de blépharoblasme, et de réduction de l'acuité visuelle.

La doxorubicine est aussi à l'origine de photophobies persistantes et associée à une inflammation chronique de l'œil avec larmolement et/ou conjonctivite

➤ Les effets d'ordre métabolique

La doxorubicine entraîne une augmentation de l'uricémie et des CPK.

➤ Au niveau des sécrétions, il est à noter une coloration rouge des urines pendant 24-48 heures, après injection.

➤ Au niveau des ongles, la doxorubicine est à l'origine d'une onycholyse.

### V-3- Contre-indications

➤ De nature physiologique

Elles concernent certains états de la femme :

- La Grossesse

La Doxorubicine est embryotoxique chez l'animal.

- L'allaitement

➤ Contre-indications liées à des troubles hématologiques :

Il s'agit des cas de :

- leucopénie ;

- thrombopénie ;

- déficit en G6PD et

- d'aplasie médullaire.

➤ Contre-indications liés à des troubles cardio-vasculaires :

Seule l'insuffisance cardiaque constitue une contre-indication absolue au traitement [46].

#### V-4- Posologies utilisées dans les protocoles appliqués en Côte d'Ivoire

La doxorubicine est administrée la plupart du temps en association avec d'autres agents anticancéreux et entre en Côte d'Ivoire dans la prise en charge de plusieurs affections cancéreuses :

- \* Tumeurs malignes primitives osseuses (**TPMO**)
- \* Manifestations ORL de la maladie de KAPOSI
- \* Cancers du sein
- \* Cancers des tissus mous...

Pour toutes ces pathologies la posologie est de 50mg/m<sup>2</sup> de surface corporelle à administrer toutes les 3 semaines. Dans le cas du cancer du sein, il existe un protocole d'administration à 60 mg/m<sup>2</sup> de surface corporelle [38].

## VII- DIFFERENTES METHODES DE RECHERCHE ET DE DOSAGE DE LA DOXORUBICINE

### VII-1- Méthodes d'identification de la doxorubicine

#### ➤ **Méthode 1 :**

Déposer une petite quantité de substance d'essai sur une plaque de céramique blanche et ajouter 1 goutte de formaldéhyde dans l'acide sulfurique ; la couleur rouge-orangé de la substance vire au violet[43].

➤ **Méthode 2 :**

Dissoudre environ 2 mg de substance d'essai dans 2 ml de méthanol et ajouter 2 ml d'eau et 1 goutte d'hydroxyde de sodium à 80 g/l; la couleur rouge-orangé de la solution vire au bleu-violet[43].

➤ **Méthode 3 :**

Dissoudre 0,05 g de substance d'essai dans 1 ml d'eau, ajouter 5 gouttes d'ammoniaque à 100 g/l et filtrer. Acidifier le filtrat avec de l'acide nitrique à 130 g/l et ajouter 1 ml de nitrate d'argent 40 g/l ; il se forme un précipité blanc caillebotté soluble dans l'ammoniaque à 100 g/l mais pratiquement insoluble dans l'acide nitrique à 1000 g/l [43].

## VI-2- Méthodes de dosage de la doxorubicine

### VI-2-1- Les méthodes titrimétriques

Le dosage titrimétrique a été exploité par **Leverge et coll.** Il se fait à l'aide de solution d'hydroxyde de sodium 0,1N en présence de chlorure de potassium pour la forme non chlorhydraté et directement pour le chlorhydrate. L'indicateur coloré est la phénolphtaléine.

Dans le premier cas le chlorure de potassium est dissout dans de l'eau distillée et cette solution est utilisée pour dissoudre la doxorubicine [21].

### VI-2-2- Les méthodes spectrales

#### VI-2-2-1- La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse a déjà été utilisée dans de nombreux travaux pour le dosage de la doxorubicine, notamment dans des dosages simultanés avec d'autres agents antinéoplasiques. L'exemple d'une telle application est celui des

travaux de **Sottani et coll.** qui ont mis à contribution le système avec un couplage CLHP pour la détection et le dosage simultané de la Doxorubicine, de l'Ifosfamide, du Cyclofosfamide, de l'Epirubicine et de la Daunorubicine dans l'urine. Le domaine de linéarité obtenue était de 0,2-4 $\mu$ g/l pour la Doxorubicine [51].

#### **VI-2-2-2- La spectrophotométrie d'absorption et la spectrofluorimétrie**

**Pietrzak et coll.** ont utilisé ces deux méthodes pour le dosage de la doxorubicine lors d'une étude d'interaction de la molécule avec l'ADN [28].

Le solvant utilisé est un mélange d'acide chlorhydrique (30 mM) et de chlorure de sodium (50mM) à pH 7,4.

- Pour la spectrophotométrie d'absorption la longueur d'onde a été fixée à 324 nm.
- Pour la spectrofluorimétrie, les longueurs d'onde d'excitation et d'émission ont été respectivement fixées à 422 nm et 526 nm.

#### **VI-2-2-4- La cytométrie de flux**

Cette méthode a été décrite dans des études d'évaluation d'une combinaison anticancéreuse dans le traitement du cancer du sein. C'est le cas avec les travaux de **Serrano et coll.** pour l'évaluation quantitative d'une combinaison Gemcitabine-Doxorubicine-Paclitaxel dans les cellules mammaires chez des patientes atteintes de cancer du sein [37].

### **VI-2-3- Les méthodes chromatographiques**

#### **VI-2-3-1- La chromatographie liquide haute performance**

La CLHP est couramment utilisée pour le dosage de la doxorubicine dans différentes matières (pharmaceutiques ou liquides biologiques).

Les méthodes décrites font état de l'utilisation de détecteur à fluorescence et de détecteur UV.

- 1) **Ping et coll.** dans leurs travaux sur le dosage de la Doxorubicine dans des implants ont utilisé un système constitué d'un chromatographe liquide haute performance et un détecteur à fluorescence avec une longueur d'onde d'excitation fixée à 505nm et une longueur d'onde d'absorption à 550 nm.

Le système utilisait une phase stationnaire greffé apolaire en C18 micro calibre et une phase mobile constituée d'Eau, d'Acétonitrile et d'Acide acétique (80 :19 :1). Le temps de rétention de la Doxorubicine était de 2,7 minutes. Le domaine de linéarité s'étendait de 0,01 – 0,1 µg/l.

La méthode a également permis d'identifier la Daunorubicine, substance apparentée à la Doxorubicine [29].

De nombreux autres travaux ont été effectués avec le même système pour la détermination de la concentration en chlorhydrate de doxorubicine dans le sang. C'est le cas des travaux de **Jacquet et coll.** qui ont obtenu un domaine de linéarité allant de 10 – 200 ng/ml et un temps de rétention de 10,8min [17].

La phase mobile était constituée d'acétonitrile, d'acide citrique (30/70, v/v) ajustée à pH4 par de l'acide formique.

D'autres auteurs tels que **Rossi et coll.** ou encore **Beijnen et coll.** dans leurs travaux sur le dosage plasmatique du chlorhydrate de doxorubicine chez des patients atteints du Syndrome de l'Immunodéficience Acquise, ont utilisé le même mode de détection. [33], [5]

- 2) Certaines études rapportent des méthodes utilisant comme système de détection l'absorption dans l'Ultra-violet.



C'est ainsi que **Rodney et coll** ont utilisé un système constitué d'un chromatographe CLHP muni d'une colonne C 18 classique et d'un détecteur UV à une longueur d'onde de 216 nm.

Le système utilisait une phase mobile constituée d'Acétonitrile et de tampon phosphate (pH 6) éluée à un débit de 1ml/min [32].

Le temps de rétention de la Doxorubicine était alors de 15,61 minutes.

Le domaine de linéarité obtenu était de 0,5-5mg/l.

D'autres auteurs tels que **Mikan et coll** ont expérimenté le dosage par ultra-violet après extraction sanguine et obtenue d'excellents résultats avec une longueur d'onde fixée à 254 nm.

La limite de détection du composé était de 10ng/ml [24].

Pour la réalisation de nos expériences nous nous sommes inspiré des différentes méthodes disponibles pour un dosage par CLHP et avons ainsi entrepris la mise au point et la validation d'une méthode de dosage et son application à des médicaments génériques.

## **DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE**

## **CHAPITRE I : CADRE DE L'ETUDE**

Notre étude s'est déroulée de Janvier à Juin 2010. Elle a été conduite dans les laboratoires de contrôle de la CIPHARM (Côte d'Ivoire Pharmacie) unité industrielle sise à Cocody Riviera Atoban.

## **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES**

## I- MATERIEL

### I-1- Echantillonnage

L'application de la méthode a porté sur un médicament générique en cours d'enregistrement en Côte d'Ivoire. Elle a concerné deux lots de médicaments dosés à 50 mg (Echantillon A) et un lot de médicaments dosés à 10 mg (Echantillon B) sous forme de lyophilisat micronisé pour préparation injectable.

Tous les échantillons ont été mis à notre disposition par la Direction de la Pharmacie et du Médicament.

Au total, 17 et 30 échantillons de A et 30 échantillons de B ont été analysés, soit 77 échantillons.

**Tableau II : Tableau récapitulatif de présentation des échantillons analysés**

Désignation du médicament	Numéro de lot	Date de péremption
A	93	06/2011
	99	11/2011
B	104	01/2012

### I-2- Appareillage

Les appareils utilisés sont :

- ✓ Un chromatographe liquide à haute performance SHIMADZU composé de :
  - une pompe LC-20A
  - un système d'injection de 20 microlitres RHEODYNE
  - un détecteur UV-visible SPD-20A
  - un intégrateur CR-20A



**Photographie 4 : Système CLHP utilisé**

- ✓ Une colonne de **phase stationnaire C18**, 254 x 4mm, de granulométrie 5  $\mu\text{m}$ .
- ✓ **une balance Voyager OHAUS** à  $10^{-4}$  de sensibilité.
- ✓ **un agitateur magnétique BIOBLOCK SCIENTIFIC**
- ✓ **un pH-mètre Mettler Toledo** munit d'un enregistreur numérique HANNA HI 98150,
- ✓ **Spectrophotomètre d'absorption UV-2401 PC Shimadzu.**
- ✓ **Appareil à ultrasons Bioblock Scientific Geprifte Sicheleif.**

### I-3- Verrerie

La verrerie classique de laboratoire a été utilisée :

- Fioles jaugées :
  - 10 ml
  - 25 ml
  - 50 ml
  - 100 ml
- Pipettes jaugées :
  - 1 ml

- 2 ml
- 5 ml
- 10 ml
- Une burette de 1000ml
- Un bécher de 100 ml

#### I-4- Produits de références et réactifs

##### **I-4-1- Produit de référence**

Le Chlorhydrate de doxorubicine de référence a été fourni par la Direction de la Pharmacie et du Médicament.

##### **I-4-2- Réactifs**

Les réactifs utilisés sont tous de qualité analytique:

- Méthyl paraben (CIPHARM)
- Acétonitrile pour Chromatographie Liquide (ACI)
- Acide acétique (CS DISTRIBUTION)
- Eau distillée

## **II- METHODES**

### II-1- Mode de préparation du solvant de travail et des solutions

#### **II-1-1- Préparation du solvant de travail**

Le solvant de travail est constitué d'un mélange d'Eau, d'Acétonitrile et d'Acide acétique (80/19/1, v/v/v) à pH=3.



### **II-1-2- Préparation des solutions de référence**

Afin de s'assurer de l'identification du chlorhydrate de doxorubicine, un étalon interne à savoir le **méthyl paraben** a été ajouté au produit de référence.

50mg de chlorhydrate de doxorubicine de référence et 5 mg de Méthyl paraben sont donc dissous dans 50ml de solution de travail pour obtenir la solution mère à 1mg/ml de doxorubicine et 0,1mg/ml de Méthyl paraben.

1 ml de cette solution mère est introduit dans une fiole de 100 ml et on complète au trait de jauge avec la phase mobile pour obtenir la solution de référence 10mg/l de doxorubicine et 1mg/l de Méthyl paraben.

Les chromatogrammes ainsi obtenus seront identifiés suite à l'injection respective de :

- une solution de méthyl paraben à 1mg/l dans le solvant de travail,
- une solution de chlorhydrate de doxorubicine à 10 mg/l dans le même solvant.

### **II-1-3- Préparation des solutions essais**

Elles sont préparées à partir des échantillons à analyser selon la même procédure que la solution de référence pour les échantillons dosés à 50mg.

Pour les échantillons dosés à 10 mg, la poudre est dissoute dans 10 ml de solvant de travail et la solution obtenue est diluée au 1/100<sup>e</sup> comme précédemment.

### **II-1-4- Préparation de la gamme étalon**

Une gamme étalon est préparée pour les études de validation de méthode à partir de la solution mère de référence à 1mg/ml.

Cinq niveaux de concentrations sont obtenus : 8mg/l, 9mg/l, 10mg/l, 11mg/l et 12mg/l.

## II-2- Mise au point de la méthode

La mise au point de la méthode de dosage par chromatographie liquide haute performance porte essentiellement sur :

- 1) Le choix de la longueur d'onde,
- 2) La composition de la phase mobile.

Cette mise au point est guidée par des travaux antérieurs effectués sur le dosage du chlorhydrate de doxorubicine par CLHP.

### II-2-1- Choix de la longueur d'onde

La longueur d'onde a été fixée par analyse spectrale. Le solvant de travail précédemment préparé a permis de réaliser le blanc.

Le balayage des longueurs d'onde d'absorption est effectué entre 200-600 nm. La longueur d'onde choisie est celle pour laquelle l'absorption du chlorhydrate de doxorubicine est maximale dans l'ultra-violet.

### II-2-2- Choix de la phase mobile

Des essais préliminaires ont été réalisés en utilisant plusieurs mélanges de solution :

- 1) Un mélange d'eau, d'**acétonitrile et d'acide acétique (80,19,1, v/v/v), pH 3** tel que décrit dans les travaux de Ping et coll [29].
- 2) Un mélange d'eau, d'**acétonitrile et d'acide acétique (75,24,1, v/v/v), pH 3**. Cette augmentation de la proportion en solvant grande force d'éluion à savoir l'acétonitrile ayant pour objectif l'amélioration du temps de rétention du composé.
- 3) Un mélange d'**acétonitrile et tampon phosphate (22,75/77,25, v/v), pH 6** tel que décrit dans les travaux de Rodney et coll. [32]

Le tampon phosphate est préparé par dissolution de 1,1936 g de phosphate monobasique ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) et 0,2143 g de phosphate dibasique ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) dans une fiole de 1000 ml avec de l'eau distillée.

### II-3- Paramètres de conformité

➤ Facteurs de rétention :

- Le temps de rétention ( $T_r$ ) qui est le temps au bout duquel un composé est élué de la colonne et détecté.
- Volume de rétention ( $V_r$ ).

C'est le volume de phase mobile nécessaire pour éluer tout le composé analysé [34].

$$V_r = D \times T_r \quad ; \quad D = \text{Débit d'élution de la phase mobile.}$$

- La capacité ( $k'$ )

$$k' = \frac{T_r - T_o}{T_o} = \frac{T_r'}{T_o}$$

Il représente le coefficient de distribution du composé analysé entre la phase mobile et la phase stationnaire.

Il doit être compris entre 1 et 10.

$T_o$  = Temps d'élution de la phase mobile seule.

➤ Facteur de séparation

- La sélectivité ( $\alpha$ )

Ce facteur exprime la distance entre les sommets de deux pics consécutifs.

$$\alpha = \frac{Tr2}{Tr1} = \frac{k'2}{k'1} ; \alpha > 1$$

- La résolution (Rs)

Ce facteur exprime la distance entre deux pics voisins et évalue ainsi le degré de séparation des composés de l'analyte.

$$Rs = \frac{Tr2-Tr1}{w1+w2} ; Rs > 2$$

- **L'efficacité**

Elle est évaluée par le nombre de plateaux théoriques N. La colonne est d'autant plus efficace que ce facteur est grand.

$$N = 16 \left(\frac{Tr}{wt}\right)^2 ; W_t = \text{Largeur du pic à la base.}$$

#### II-4- Validation de la méthode

La validation d'une méthode se définit comme étant le processus par lequel l'on établit que les caractéristiques de la méthode correspondent à l'usage pour lequel elle est prévue [11].

Les critères de validation étudiés sont les suivants :

- la linéarité
- la précision
- l'exactitude
- la sensibilité

## II-4-1- Linéarité

### Définition

La linéarité est la capacité d'une méthode à fournir à l'intérieur d'un intervalle des résultats directement proportionnels à la concentration en substance à analyser dans l'échantillon [34].

L'étude de la linéarité du chlorhydrate de doxorubicine a été faite sur une gamme étalon obtenue par dilution de la solution mère de référence. Cinq niveaux de dilutions compris entre 8 et 12 mg/l ont été analysés chacun à trois reprises.

A partir des résultats obtenus, les paramètres suivants sont déterminés :

Coefficient de corrélation  $r$

Coefficient de détermination  $r^2$

Equation de la droite de régression  $Y = aX + b$ .

$Y$ =Surface des pics chromatographiques.

$X$ = Concentration en chlorhydrate de doxorubicine de la solution analysée (mg/l)

## II-4-2- La précision

La précision ou fidélité traduit l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion) entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions précises.

La répétabilité exprime la fidélité sous des conditions identiques : même analyse, même équipement, même réactif, et dans des conditions aussi stables que possible sur un intervalle de temps court [34].

II-4-2-1- Répétabilité d'une solution de référence de chlorhydrate de doxorubicine

3 solutions de références à différents niveaux de concentrations (9 ; 10 et 11 mg/l) en chlorhydrate de doxorubicine sont analysées à 6 reprises puis les coefficients de variation sont ensuite calculés.

$$\text{CV} = \frac{100 \times \sigma}{x} \quad \sigma = \text{écart type} \quad x = \text{moyenne}$$

II-4-2-2- Répétabilité testée sur un extrait d'un échantillon de médicament.

Un échantillon est soumis au traitement préalable puis analysé à 6 reprises selon les conditions chromatographiques retenues. Un coefficient de variation (CV) est ensuite calculé.

II-4-2-3- Répétabilité de la procédure d'analyse

Six échantillons du générique sont soumis à la procédure d'analyse selon les conditions retenues. Le coefficient de variation (CV) est ensuite calculé sur l'ensemble des résultats obtenus.

### II-4-3- Exactitude de la méthode

#### Définition

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre une valeur exacte ou acceptée et la valeur (ou la moyenne des valeurs) obtenues en appliquant la procédure d'analyse un certain nombre de fois [34].

## **Méthode des ajouts dosés**

A une quantité d'échantillon correspondant à 80% en chlorhydrate de doxorubicine, trois ajouts à différentes concentrations de solutions de référence (1, 2, et 3 mg/l) sont effectués. Ces échantillons sont ensuite analysés à trois reprises chacun. Les pourcentages de récupération évaluant l'exactitude sont calculés à partir des concentrations obtenues après dosage avec ou sans ajout.

### **II-4-4- La sensibilité de la méthode**

Ce terme englobe la limite de détection et la limite de quantification du composé d'intérêt pour une méthode donnée.

La limite de quantification est la plus petite concentration qui produit un signal détectable et quantifiable c'est-à-dire qui possède une bonne répétabilité. Le rapport signal/bruit est estimé à 10.

La limite de détection est la plus petite concentration qui produit un signal mais non quantifiable. Le rapport signal/bruit est estimé à 3 [34].

Les limites de détection et de quantification ont été évaluées à partir de dilutions successives de la solution mère de référence à 1mg/ml.

### **II-5- Evaluation de la teneur en chlorhydrate de doxorubicine dans les génériques analysés**

Chacune des solutions essais est analysée à deux (2) reprises dans les conditions fixées et les moyennes des teneurs obtenues permettent de calculer un écart type sur le lot et de comparer la valeur moyenne à la valeur de référence représentée par l'intervalle de conformité de 5%.

### **CHAPITRE III : RESULTATS**

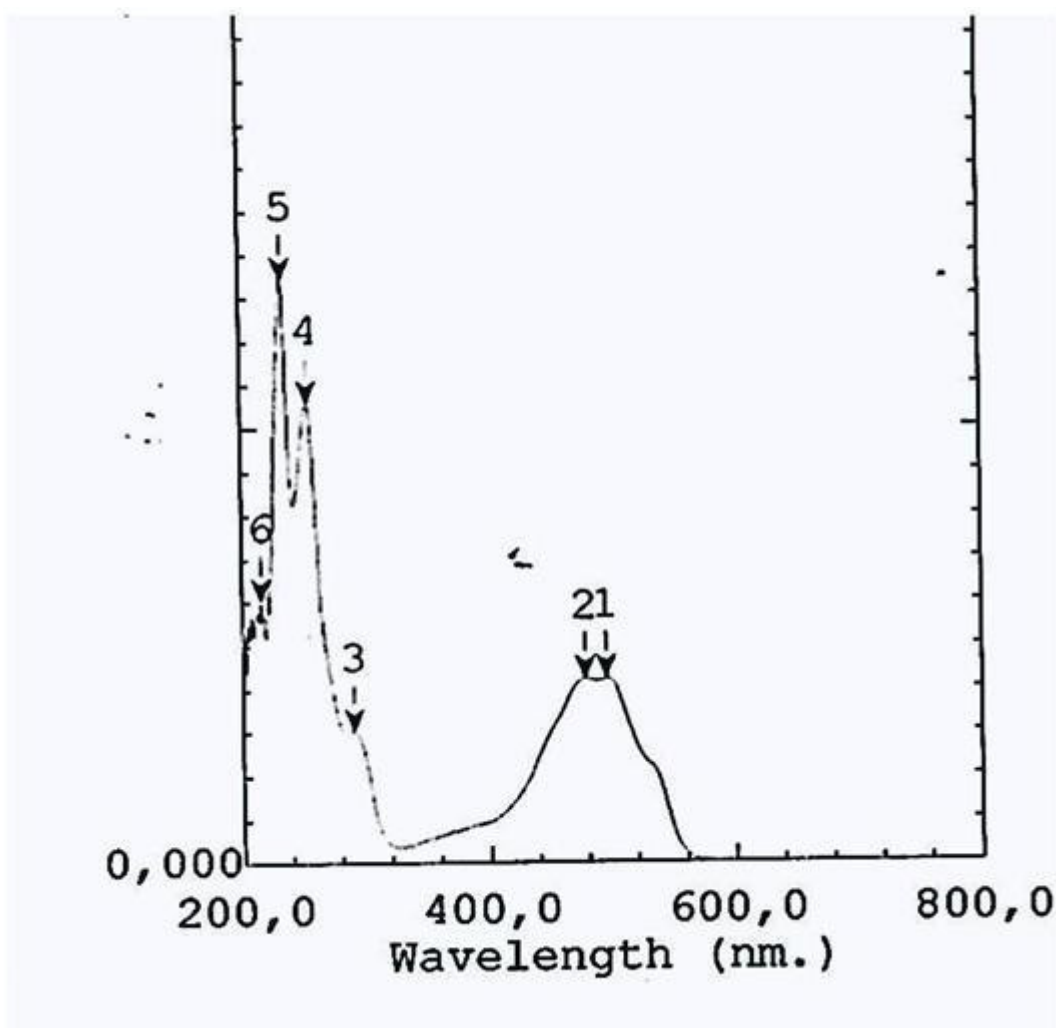


## I- Mise au point de la méthode de dosage du chlorhydrate de doxorubicine

### I-1- Analyse spectrale

L'analyse spectrale de la solution de référence à 10mg/l de chlorhydrate de doxorubicine a donné des maxima d'absorption entre 200-300nm.

L'absorption maximale idéale pour la suite du travail était de 0,5296 avec une longueur d'onde de 254 nm.



**Figure 21: Analyse spectrale du chlorhydrate de doxorubicine**

## I-2- Choix de la phase mobile

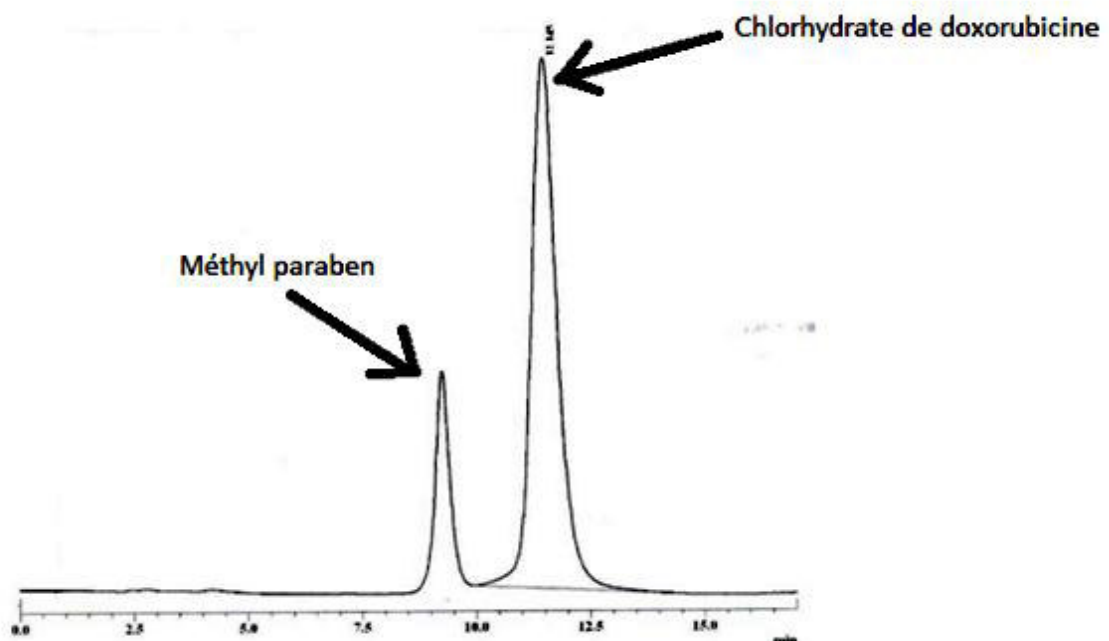
Les

3 types de phases mobiles mis à l'essai ont donné les résultats suivants :

- **Mélange Eau, acétonitrile, acide acétique (80,19,1, v/v/v), pH 3**

Cette analyse a montré deux pics chromatographiques :

- Celui du méthyl paraben avec un temps de rétention de **7,814 min**
- Celui du chlorhydrate de doxorubicine avec un temps de rétention de **12,234 min**

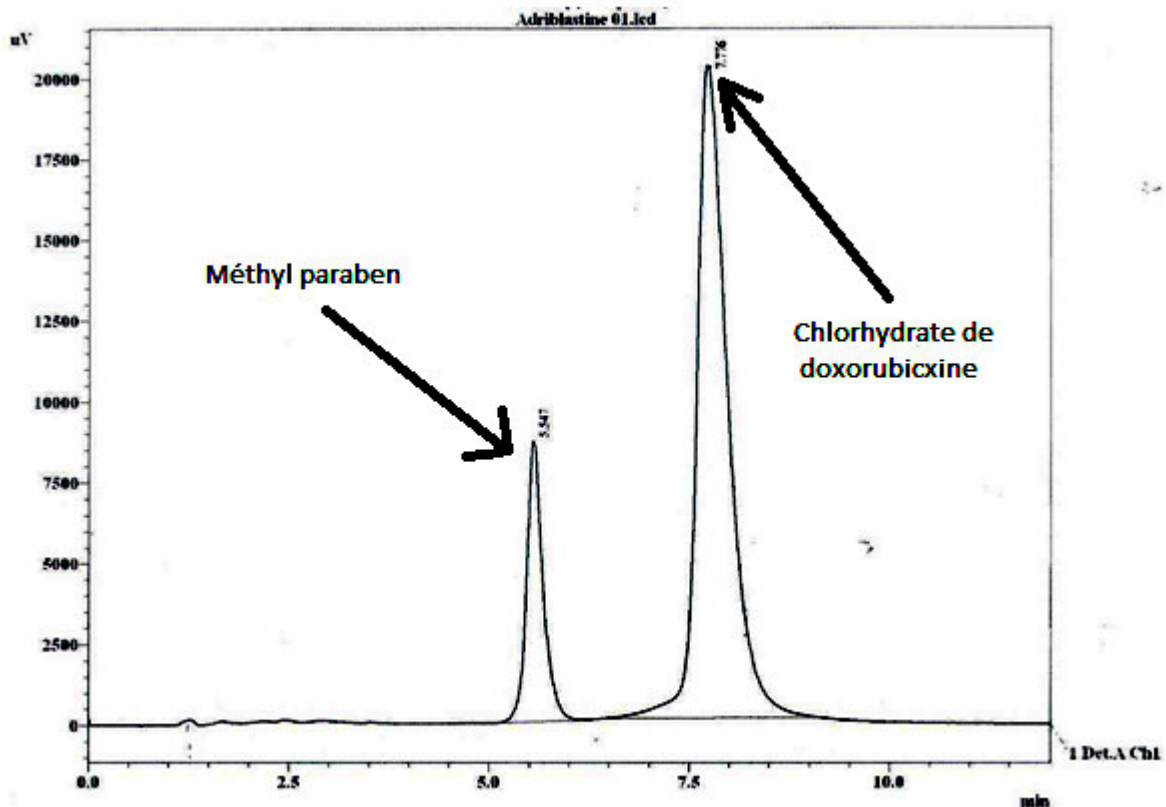


**Figure 22 :** Chromatogramme d'une solution à 10mg/l de doxorubicine + 1mg/l de méthyl paraben obtenu en utilisant une phase mobile

**Eau, acétonitrile, acide acétique (80/19/1, v/v/v), pH 3**

➤ **Mélange Eau, acétonitrile, acide acétique (75/24/1, v/v/v)**

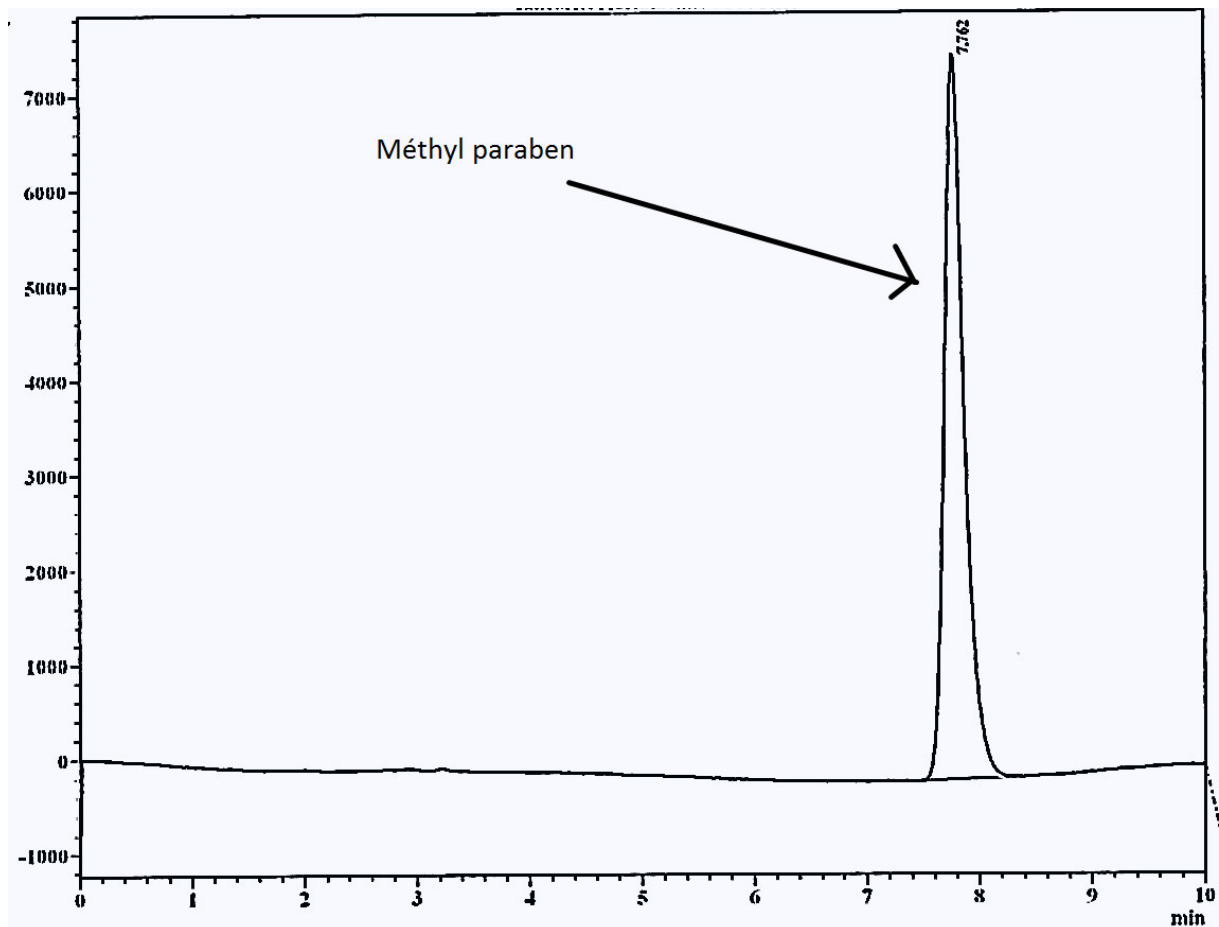
L'utilisation de cette phase mobile a donnée les mêmes pics que précédemment avec une amélioration des temps de rétention qui sont passé respectivement à **5,547 min** et **7,776 min** pour le méthyl paraben et le chlorhydrate de doxorubicine.



**Figure 23 : Chromatogramme d'une solution témoin à 10mg/l de chlorhydrate de doxorubicine + 1mg/l de méthyl paraben obtenu avec une phase mobile Eau, acétonitrile, acide acétique (75/24/1, v/v/v), pH 3**

- Un mélange Acétonitrile, tampon phosphate (22,75/77,25 ; v/v) pH 6.

L'analyse avec une telle phase mobile n'a donnée qu'un seul pic, identifié ensuite comme étant celui du méthyl paraben avec un temps de rétention de **7,762 min**. L'élution a été arrêtée au bout de 20 min sans détection du chlorhydrate de doxorubicine.



**Figure 24 : Chromatogramme d'une solution à 10mg/l de chlorhydrate de doxorubicine + 1 mg/l de méthyl paraben**

**obtenu avec une phase mobile acétonitrile : tampon phosphate (22,75/77,25, v/v) pH 6**

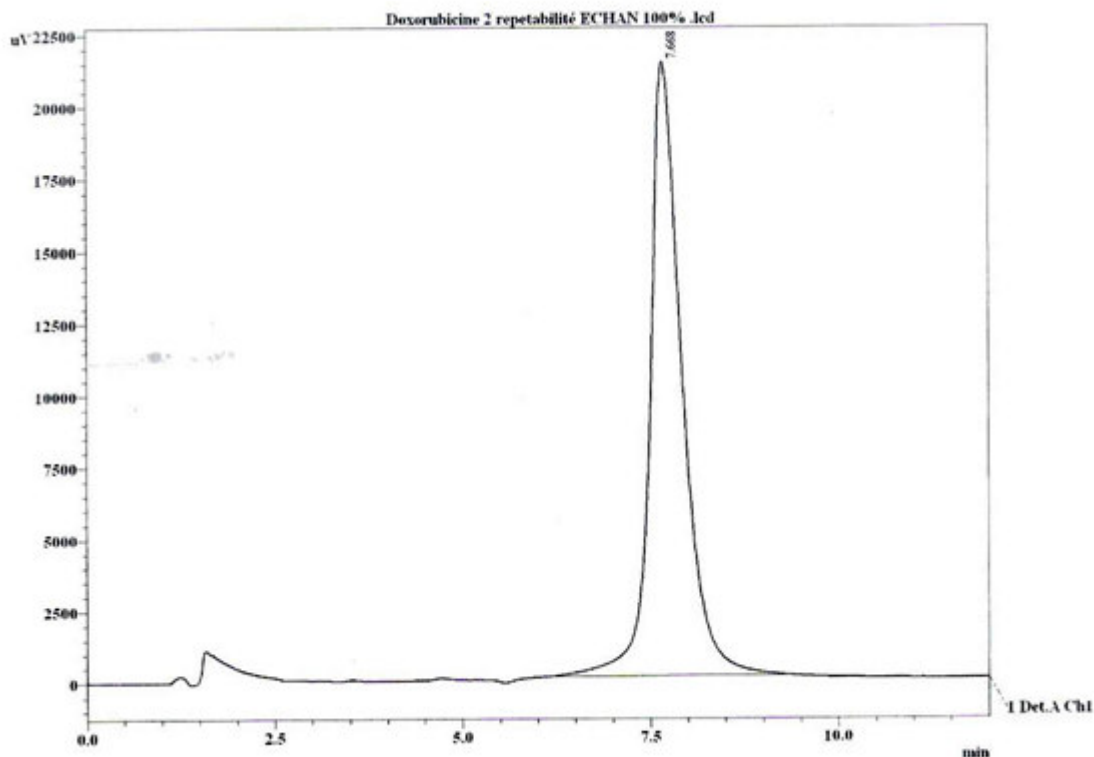
Compte tenu de ces différents résultats, la phase mobile retenue est le mélange Eau, acétonitrile, acide acétique (75/24/1, v/v/v), pH 3.

Cette phase mobile permet en effet la détection des deux composés, le chlorhydrate de doxorubicine et l'étalon interne avec des temps de rétention satisfaisants.

### I-3- Conditions analytiques retenues

Les essais précédents ont permis de fixer les paramètres analytiques à savoir une analyse à réaliser avec :

- Phase stationnaire C18, 254 x 4mm d'une granulométrie de 5 µm,
- Phase mobile composé d'eau, d'acétonitrile et d'acide acétique dans les proportions 75/24/1 ,v/v/v à pH=3,
- Débit d'élution à 1ml/min,
- Détection réalisée à l'ultra violet à 254 nm.



**Figure 25 : Chromatogramme d'un échantillon du générique A**

## II- Paramètres de conformité du système chromatographique

### ➤ Grandeurs de rétention :

- Le temps de rétention ( $T_r$ )

$$T_r = 7,776 \text{ minutes}$$

- Volume de rétention ( $V_r$ )

$$V_r = 7,8 \text{ ml}$$

- La capacité ( $k'$ )

$$k' = 5,16$$

Une telle valeur comprise entre 1 et 10 montre qu'il y a une très bonne distribution de l'échantillon entre la phase stationnaire et la phase mobile à l'intérieur de la colonne [34].

### ➤ Grandeur de séparation

- L'efficacité de la colonne

$$N = 1482,25$$

Le nombre de plateaux théoriques ainsi élevé montre que la phase stationnaire choisie pour l'analyse est efficace pour la séparation du chlorhydrate de doxorubicine.

- La sélectivité ( $\alpha$ )

$$\alpha = 1,45 > 1$$

La distance entre les sommets des deux pics obtenus est suffisante pour leur identification [34].

- La résolution

$$R_s = 3,14 > 2$$

Cette résolution montre que les pics de méthyl paraben et de chlorhydrate de doxorubicine sont bien séparés.

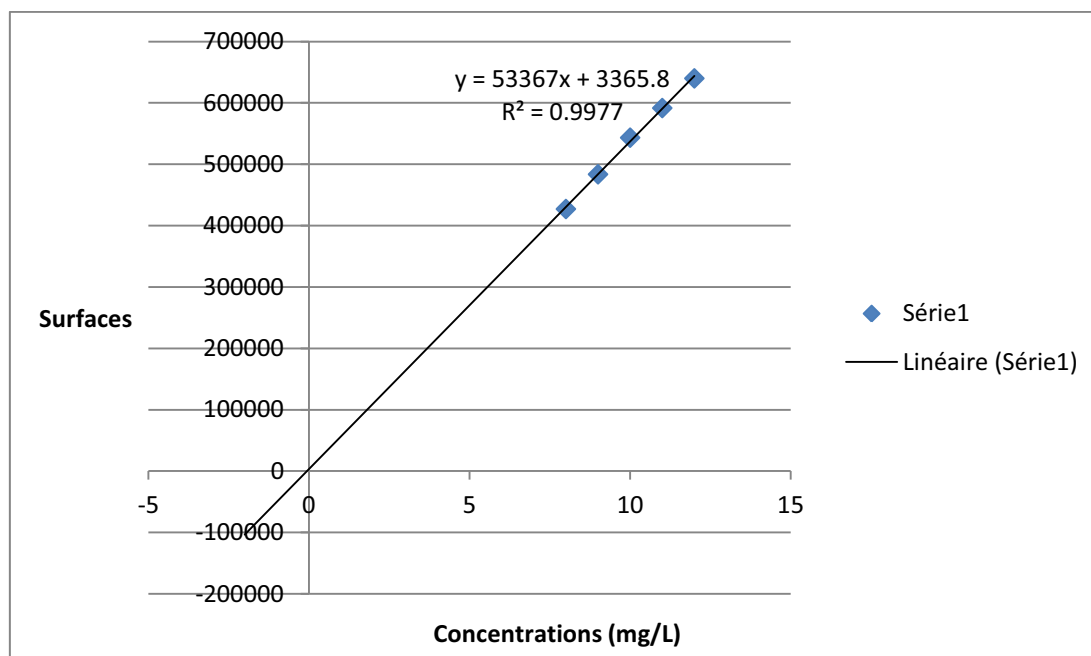
### III- Validation de la méthode de dosage

#### III-1- Linéarité de la méthode

Ce domaine de linéarité est compris entre 8 mg/l et 12mg/l.

**Tableau III: Etalonnage de la méthode de dosage**

Concentration (mg/l)	Surface
8	427019
9	483550
10	543225
11	591512
12	639873



**Figure 26 : Droite d'étalonnage des surfaces des pics en fonction de la concentration des solutions étalons**

La méthode est donc linéaire dans un intervalle de concentration de 8 à 12mg/l.

L'équation de la droite de régression est :  $Y = 53\,367 X + 3\,365,8$

Le coefficient de détermination  $r^2 = 0,997$  et le coefficient de corrélation  $r = 0,998$ .

### III-2- Précision de la méthode

#### III-2-1- Répétabilité de l'analyse chromatographique

##### III-2-1-1- Répétabilité des solutions de référence

**Tableau IV: Répétabilité des solutions de référence**

Concentrations (mg/l)	Surface des pics	Ecart type	Moyenne de la surface des pics	Coefficient de variation
9	479 983	3374,735	479751,3	0,70 %
	482 353			
	473 559			
	482 847			
	478 844			
	480 922			
10	559 695	2819,694	562080	0,50%
	562 305			
	562 288			
	558 599			
	562 913			
	566 680			
11	606 541	2697,636	605093,8	0,45%
	601 742			
	608 998			
	602 720			
	604 254			
	606 308			



De telles coefficients de variation  $< 2\%$  montrent que la répétabilité des solutions de référence est satisfaisante [6].

### III-2-1-2- Répétabilité d'un échantillon de générique

**Tableau V: Répétabilité de l'analyse chromatographique**

Concentration (mg/l)	Surface des pics	Concentration (mg/l)	Moyenne des concentrations	Coefficient de variation
10	629959	10,01	10,06	0,92 %
	629456	9,99		
	636430	10,10		
	628841	9,98		
	642215	10,20		
	638849	10,15		

Le coefficient de variation est de  $0,92\% < 2\%$  pour l'échantillon de générique. Cette valeur montre que la répétabilité de l'échantillon est satisfaisante [6].

## II-2-2- Répétabilité de la procédure

**Tableau VI: Répétabilité de l'ensemble de la procédure de dosage**

concentration (mg/l)	Surface des pics	Concentration obtenue (mg/l)	Moyenne des concentrations(mg/l)	Coefficient de variation
10	599043	9,87	9,90	1,39 %
	605103	9,98		
	591918	9,75		
	594466	9,79		
	601867	9,91		
	615354	10,13		

Le coefficient de variation de la procédure est de 1,39% < 5% et est donc conforme à la norme ce qui signifie que la procédure analytique est répétable.

## II-3- Exactitude de la méthode

**Tableau VII: Exactitude de la méthode**

Quantité de chlorhydrate de doxorubicine ajoutée (mg/l)	Quantité de chlorhydrate de doxorubicine retrouvée (mg/l)	Pourcentage de récupération (%)	Erreur relative (%)	Pourcentage de récupération moyen (%)	Erreur relative moyenne
1	1,03	103,00	+3	97,66	-2,33
	0,96	96,00	-4		
	0,94	94,00	-6		
2	1,98	99,00	-1	98,66	-1,34
	1,96	98,05	-1,95		
	1,99	99,93	-1,07		
3	3,08	102,60	+2,6	98,84	-1,16
	2,97	98,60	-1,4		
	2,86	95,33	-4,67		
Pourcentage de récupération moyen (%)				98,39	
Erreur relative moyenne (%)				-1,61	

Les pourcentages de récupération exprimant l'exactitude de la méthode sont compris entre 90 % et 110 % [11].

#### II-4- Sensibilité de la méthode

**Tableau VIII: Limite de quantification du chlorhydrate de doxorubicine**

<b>Concentration (mg/l)</b>	<b>Surface moyenne</b>	<b>Coefficient de variation</b>
4	224674	0,54%
<b>2</b>	<b>115235</b>	<b>1,87%</b>
1	54027	2,07%
<b>0,8</b>	43224	2,05%
<b>0,08</b>	4751	2,4%
0,04	Non intégrable	

Au-delà de 2mg/l, les chromatogrammes obtenus ne sont plus quantifiable car sur trois (3) analyses répétées par dilution le coefficient de variation est supérieure à 2%.

La limite de quantification est donc de 2 mg/l.

**Tableau IX: Limite de détection du chlorhydrate de doxorubicine**

<b>Concentration (mg/l)</b>	<b>Surface</b>
0,8	43224
<b>0,08</b>	<b>4751</b>
<b>0,04</b>	----- (*)

(\*) :Au-delà de 0,08 mg/l, les pics obtenus ne sont pas intégrable et le rapport signal/bruit est estimé à 3 pour une concentration de 0,08mg/l.

La limite de détection est donc de 0,08 µg/ml.

#### IV- Dosage quantitatif des échantillons

**Tableau X: Teneur en chlorhydrate de doxorubicine dans le lot 93 du médicament A :**

<b>Echantillon (n=17)</b>	<b>Teneur obtenue</b>	<b>Teneur (mg)</b>
1	48,43	<b>49,92</b>
	51,41	
2	49,59	<b>49,38</b>
	49,18	
3	49,68	<b>49,53</b>
	49,39	
4	48,23	<b>49,34</b>
	50,45	
5	50,90	<b>50,80</b>
	50,70	
6	50,81	<b>50,45</b>
	50,10	
7	50,00	<b>50,31</b>
	50,63	
8	50,94	<b>50,80</b>
	50,66	
9	48,43	<b>50,33</b>
	52,23	
10	50,92	<b>50,91</b>
	50,89	
11	48,99	<b>49,18</b>
	49,37	
12	49,34	<b>49,48</b>
	49,63	
13	49,57	<b>49,51</b>
	49,46	
14	48,96	<b>49,22</b>
	49,48	
15	50,59	<b>50,62</b>
	50,65	
16	50,24	<b>50,35</b>
	50,45	
17	50,15	<b>49,79</b>
	49,43	
	Moyenne	<b>49,99</b>
	Ecart type	<b>0,60</b>
	Quantité déclarée	50 mg
	Intervalle de conformité à 5%	<b>[ 47,5 – 52,5 ] mg</b>

**Tableau XI : Teneur en chlorhydrate de doxorubicine dans le lot 99 du médicament A.**

<b>Echantillon (n=30) 1 à 15</b>	<b>Teneurs obtenues (mg)</b>	<b>Teneur moyenne(mg)</b>	<b>Echantillon (n=30) 16 à 30</b>	<b>Teneurs obtenues (mg)</b>	<b>Teneur moyenne (mg)</b>
1	49,60	<b>49,98</b>	16	49,78	<b>49,54</b>
	50,36			49,29	
2	49,37	<b>49,02</b>	17	48,40	<b>48,75</b>
	48,66			49,10	
3	49,61	<b>49,61</b>	18	50,00	<b>49,54</b>
	49,60			49,07	
4	51,16	<b>50,59</b>	19	48,22	<b>48,44</b>
	50,00			48,65	
5	49,33	<b>49,73</b>	20	49,92	<b>49,45</b>
	50,12			48,96	
6	49,15	<b>49,57</b>	21	48,97	<b>48,47</b>
	49,97			47,96	
7	49,92	<b>50,08</b>	22	50,19	<b>49,14</b>
	50,22			48,07	
8	56,19	<b>50,57</b>	23	48,80	<b>49,06</b>
	44,94			49,32	
9	49,37	<b>49,61</b>	24	48,93	<b>48,44</b>
	49,83			47,94	
10	48,71	<b>48,41</b>	25	49,61	<b>49,01</b>
	48,09			48,40	
11	48,66	<b>48,70</b>	26	49,06	<b>48,98</b>
	48,73			48,89	
12	53,10	<b>49,16</b>	27	51,75	<b>50,46</b>
	45,21			49,15	
13	49,09	<b>49,11</b>	28	48,91	<b>48,56</b>
	49,11			48,19	
14	51,56	<b>49,84</b>	29	48,46	<b>48,49</b>
	48,10			48,51	
15	48,96	<b>48,99</b>	30	49,26	<b>49,08</b>
	48,99			48,89	
Moyenne (mg)	<b>49,28</b>				
Ecart type	<b>0,64</b>				
Quantité déclarée (mg)	<b>50 mg</b>				
Intervalle de confiance à 5%	<b>[ 47,5 – 52,5 ] mg</b>				

**Tableau XII : Teneur en chlorhydrate de doxorubicine dans le médicament**

**B.**

<b>Echantillon (n=30) 1 à 15</b>	<b>Teneurs obtenues (mg)</b>	<b>Teneur moyenne(mg)</b>	<b>Echantillon (n=30) 16 à 30</b>	<b>Teneurs obtenues (mg)</b>	<b>Teneur moyenne (mg)</b>
1	9,77	<b>10,24</b>	16	9,61	<b>9,83</b>
	10,71			10,05	
2	9,60	<b>9,30</b>	17	10,32	<b>9,87</b>
	9,00			9,43	
3	10,46	<b>10,25</b>	18	10,44	<b>10,22</b>
	10,03			9,98	
4	10,50	<b>10,20</b>	19	10,52	<b>10,35</b>
	9,89			10,18	
5	9,93	<b>10,13</b>	20	10,29	<b>10,31</b>
	10,34			10,32	
6	10,32	<b>10,10</b>	21	9,61	<b>10,27</b>
	9,88			10,93	
7	9,92	<b>10,22</b>	22	10,15	<b>10,26</b>
	10,53			10,37	
8	9,79	<b>9,35</b>	23	9,94	<b>10,23</b>
	8,91			10,53	
9	8,96	<b>9,57</b>	24	10,28	<b>10,24</b>
	10,17			10,20	
10	9,59	<b>9,56</b>	25	9,59	<b>9,60</b>
	9,53			9,59	
11	9,54	<b>9,62</b>	26	10,31	<b>10,30</b>
	9,69			10,27	
12	10,47	<b>10,25</b>	27	10,44	<b>10,22</b>
	10,02			10,00	
13	10,25	<b>9,84</b>	28	10,19	<b>10,20</b>
	9,42			10,21	
14	9,91	<b>9,87</b>	29	9,12	<b>9,60</b>
	9,83			10,05	
15	9,80	<b>9,78</b>	30	9,92	<b>10,21</b>
	9,77			10,50	
Moyenne (mg)	<b>9,99</b>				
Ecart type	<b>0,31</b>				
Quantité déclarée (mg)	<b>10 mg</b>				
Intervalle de confiance à 5%	<b>[ 9,5 – 10,5 ] mg</b>				

## **CHAPITRE IV : DISCUSSION**



## I- Méthode d'analyse

### I-1- Analyse spectrale

Pour notre étude il était important de déterminer une longueur d'onde d'absorption permettant une absorption maximale du chlorhydrate de doxorubicine.

Une telle approche ayant pour but d'obtenir une quantification optimale du composé. Les données recueillies dans la pharmacopée européenne ont montré une longueur d'onde de 254 nm et les études de **Rodney et coll.** une longueur d'onde de 216 nm [32].

L'analyse spectrale effectuée par balayage sur une plage de 200-600 nm a donnée des résultats similaires avec des maxima d'absorption à 234 et 254 nm. La longueur d'onde a donc été fixée à 254 nm pour la suite des analyses.

### I-2- Choix de la phase mobile

Afin d'obtenir des temps de rétention plus réduit, la phase mobile a été élaborée selon des travaux antérieurs effectués sur le chlorhydrate de doxorubicine par **Rodney et coll.** [32] et par **Ping et coll.** [29].

Les temps de rétention obtenus était de :

- 12,234 min avec un mélange eau, acétonitrile, acide acétique (80/19/1, v/v/v pH 3)
- 7,776 min avec un mélange eau, acétonitrile, acide acétique (75/24/1, v/v/v pH 3)
- Le mélange acétonitrile, tampon phosphate (22,75/77,25, v/v pH 6) utilisé par Rodney et coll. n'a pas permis la détection de la doxorubicine dans les conditions fixées.

La phase mobile finalement retenue est le mélange d'eau, d'acétonitrile et d'acide acétique dans les proportions (75/24/1 ; v/v/v) à pH=3 car le temps de

rétenion du composé est satisfaisant avec une bonne séparation des pics du méthyl paraben et du chlorhydrate de doxorubicine (Figure 23).

### I-3- Conditions d'analyse

Pour le dosage du chlorhydrate de doxorubicine, nous avons donc utilisé une phase stationnaire C 18 254 x 4mm de 5 $\mu$  de diamètre, une phase mobile eau, acétonitrile, acide acétique (75/24/1, v/v/v), pH 3, à un débit d'élution de 1ml/min et une détection du composé en ultra violet à 254 nm.

## II- Paramètres de conformité

### II-1- Facteurs de rétenion

#### ➤ Le temps de rétenion

Le temps de rétenion de **7,7 min** obtenue dans les conditions analytiques fixées est inférieur à celui obtenu dans les travaux de **Rodney et coll.** (17,50 min). Ce temps de rétenion est pourtant supérieur à celui obtenu dans les travaux de **Chin et coll.** [9] (4,8 min) avec une phase mobile acétate de sodium :acétonitrile (72/28, v/v).

La méthode mise au point permet donc une élution relativement rapide du composé.

#### ➤ Le volume de rétenion

Il est de 7,8 ml.

#### ➤ La capacité (k')

La valeur de 5,16 a démontré qu'il y avait une bonne distribution de l'échantillon entre la phase stationnaire et la phase mobile utilisée.

## II-2- Facteurs de séparation

### ➤ La sélectivité $\alpha$

Elle est supérieure à 1 et démontre une bonne séparation des pics de la solution analysée.

### ➤ La résolution $R_s$

Elle est supérieure à 2. La méthode choisit permet donc une séparation nette entre l'étalon interne (le méthyl paraben) et le chlorhydrate de doxorubicine.

### ➤ L'efficacité

Le nombre de plateaux théoriques est élevé (1482,25) et démontre que la phase stationnaire choisit est efficace.

Les différents paramètres de conformité analysés sont satisfaisants, le système chromatographique est donc adapté à l'analyse du chlorhydrate de doxorubicine.

## III- Validation de la méthode de dosage

### III-1- Linéarité de la méthode

Les coefficients de détermination ( $r^2 = 0,997$ ) et de corrélation ( $r = 0,9985$ ) sont proche de 1. Les valeurs de ces paramètres attestent d'une linéarité satisfaisante avec un domaine de linéarité qui s'étend de 8 mg/l à 12 mg/l contre un coefficient de détermination ( $r^2 = 0,9883$ ) dans les conditions utilisées dans les travaux de **Rodney et coll. (2003)** pour un système de détection UV avec un domaine de linéarité de 0,5 à 5 mg/l [32].

### III-2- Précision de la méthode

La répétabilité de la solution de référence donne des coefficients de variation de 0,70% ; 0,50% et 0,45%, satisfaisants car la norme exige un coefficient de variation inférieur à 2% [11].

La répétabilité de l'analyse d'un échantillon donne un coefficient de variation de 0,92% conforme aux normes car inférieur à 2% [11].

La répétabilité de la procédure d'analyse d'un échantillon A donne un coefficient de variation de 1,39%.

Ces résultats sont conformes aux normes car inférieur à 5% [11] et sont proche de ceux de **Ping et coll.** (1,9%) [29].

Ces résultats sont meilleurs que ceux obtenus par **Chin et coll.** qui ont obtenus des coefficients de variation autour de 10% [9].

### III-3- Exactitude de la méthode

Les pourcentages de récupération de la méthode (97,66%, 98,66% et 98,84%) sont conformes à la norme car compris entre 90 et 100%. Nos résultats sont proches de ceux de **Ping et coll.** qui ont rapporté des valeurs de 98,09% ; 99,20% et 98,66% [29].

### III-4- Sensibilité de la méthode

La limite de quantification est de 2 mg/l et en dessous de cette concentration, les résultats obtenus ne sont plus répétables.

La limite de détection est de 0,08 µg/ml. Cette valeur est proche de celle de **Rodney et coll.** qui ont obtenu une limite de détection de 0,1 µg/ml mais largement inférieure à celle de **Gavenda et coll.** qui ont obtenu une limite de détection correspondant à 0,5 µg/l avec une phase mobile constituée d'un mélange méthanol/tampon phosphate (40/60). [32], [14].

Les travaux de **Ping et coll.** ont cependant démontré une meilleure sensibilité avec une limite de détection de 0,0015 µg/ml ces derniers ayant utilisé un détecteur fluorimétrique.

Les résultats des critères de validation ont justifié l'application de cette méthode au dosage quantitatif des médicaments à base de Chlorhydrate de doxorubicine.

#### **IV- Application de la méthode à l'analyse de génériques à base de chlorhydrate de doxorubicine.**

Toutes les formulations de Chlorhydrate de doxorubicine ont été analysées par chromatographie liquide selon la méthode validée précédemment décrite. L'analyse de ces médicaments génériques a donnée les résultats suivants :

##### IV-1- Analyse qualitative

Le chlorhydrate de doxorubicine a bien été mis en évidence dans chacun des échantillons analysés.

##### IV-2- Analyse quantitative

Tous les lots de médicaments examinés ont une teneur moyenne en chlorhydrate de doxorubicine comprise dans l'intervalle de conformité.

Pour les médicaments dosés à 50mg cet intervalle de conformité se situait entre [47,5-52,5]mg et pour ceux dosés à 10mg, il se situait entre [9,5-10,5] mg [28].

## CONCLUSION

L'étude réalisée a permis de mettre au point une méthode de dosage rapide et sensible du chlorhydrate de doxorubicine.

Cette méthode utilise :

- une phase stationnaire C 18 ; 254 x 4 mm de 5µm de diamètre,
- une phase mobile constituée d'eau, d'acétonitrile et d'acide acétique (74/24/1, v/v/v) à pH=3,
- un débit de 1ml/min,
- une détection UV à 254 nm.

Les paramètres de conformité et les tests de validation ont montré que cette méthode peut être appliquée au dosage du chlorhydrate de doxorubicine dans des formes médicamenteuses.

L'application de cette méthode à des médicaments sous forme de poudres pour préparation injectable a permis de contribuer au contrôle de génériques à base de Chlorhydrate de doxorubicine en cours d'enregistrement en Côte d'Ivoire. Ainsi, trois médicaments génériques ont été analysés dont deux étaient dosés à 50mg et un à 10mg.

Du point de vue qualitatif, les médicaments analysés au cours de notre étude contiennent tous le principe actif.

Du point de vue quantitatif, les teneurs moyennes pour chaque lot sont toutes conformes aux normes pharmaceutiques.

## RECOMMANDATIONS



## **A LA DIRECTION DE LA PHARMACIE ET DU MEDICAMENT**

Au vue des résultats obtenus sur les différents échantillons, nous pouvons avancer que les lots de produits analysés sont tous conformes aux normes en vigueur aussi bien du point de vue qualitatif que quantitatif.

## **AUX LABORATOIRES DE CONTROLE**

- Prendre en compte la méthode proposée pour le contrôle de la qualité en routine des médicaments à base de chlorhydrate de doxorubicine
- La méthode mise au point est applicable à toutes les formes galéniques existantes pour le produit.

## **A LA POPULATION**

- Les médicaments génériques analysés sont de la qualité requise et peuvent donc être utilisés dans le cadre d'une thérapie comprenant la doxorubicine.
- Consulter régulièrement un médecin spécialisé tout au long de la thérapie pour détecter et prévenir les risques d'apparition d'effets secondaires.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**[1] Andrieu J.M. , Colonna P. , Lévy R.**

Cancers: guide pratique d'évaluation de traitement et de surveillance , 1997  
Editions ESTEM, Numéro d'édition : ISBN 2-909455-56-4, Paris, P. 1-17

**[2] Baillet F.**

Cancérologie générale  
Archives du CHU-ps Pitié-Sapetrière,  
Ref : 412F, **2004**

**[3] Bakker M., Van der Graff W. T. A., Groen H. J. M., Smit E. F., De Vries E. G. E.**

99mTc-Sestamibi scanning with SDZ PSC 833 as a functional detection method for resistance modulation in patients with solid tumours.  
Anticancer research **1999**; 23 49-53.

**[4] Beeta E.**

Application of Nanotechnology in Cancer research  
Review of progress in the National Cancer Institute's Alliance for Nanotechnology.  
Int J Biol Sci. **2007**; 3: 108–110.

**[5] Beijnen J.H, Meenhorst P.L., Van Gijn R., Fromme M., Rosing H., Underberg W.J.M.**

CLHP determination of doxorubicin, doxorubicinol and four aglycone metabolites in plasma of AIDS patients.  
Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, **1991**, 9 ,10-12.

**[6] Bouklouze A., Digua K.**

Démarche statistique de la validation analytique dans le domaine pharmaceutique

Les technologies de laboratoire **2006**, N° 1 P.20-24

**[7] Bruneton C.**

Le cancer en Afrique

Le journal ReMeD **2008**, N° 38 P. 1-24.

**[8] Bruneton C.**

*Etude de ReMeD sur la qualité des médicaments génériques antituberculeux au Tchad,*

Le journal de ReMeD **1997**, N°18 P. 1-6.

**[9] Chin DL, Lum BL, Sikic BI.**

Rapid determination of PEGylated liposomal doxorubicin and its major metabolite in human plasma by ultraviolet-visible high-performance liquid chromatography.

*Journal of Chromatography* **2002**, 779: 259-269,

**[10] Daley L., Guminski Y., Demerseman P., Kruczynski A., Etiévant C., Imbert T., Hill B. T., Monneret C.,**

Synthesis and antitumor activity of new glycosides of epipodophyllotoxin, analogues of etoposide, and NK 611.

*J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 4475-4485 ;

**[11] Désenfant M., Priel M., Rivier C.**

De la validation des méthodes d'analyse à l'évaluation de l'incertitude des résultats de mesure. Definition validation

Laboratoire Nationale d'Essais BNM-LNE

Edition Boissier, Paris **2009** P. 1-6

**[12] Drumond D., Meyer O., Keelung M.**

Optimizing Liposomes for Delivery of Chemotherapeutic Agents to Solid Tumors

*Pharmacological Reviews*, **1999** 51 P. 706

**[13] Froelich-Ammon S. J., Osheroff N.,**

Topoisomerase poisons: harnessing the dark side of enzyme mechanism

*J. Biol. Chem.*, **1995**, 274, 29-32

**[14] Gavenda A, Sevcík J, Psotová J, Bednár P, Barták P, Adamovský P, Simánek V.**

Determination of anthracycline antibiotics doxorubicin and daunorubicin by capillary electrophoresis with UV absorption detection.

Electrophoresis 2001 22 \_pages 2782–2785.

**[15] Gueritte-Voegelein F., Guenard D., Lavelle F., Le Goff M. T., Mangatal L., Potier P.,**

Etude des relations structure activité du taxol

*J. Med. Chem.*, **1991**, 34, 992.

**[16] Hellman. S, Vokes E.,**

Les progrès de traitements actuels contre le cancer

*Pour la science*, **1996**, 229, 86-92

**[17] Jacquet J.M., Galtier M., Bressolle F. and Jourdan J.**

A simple and reproducible CLHP assay for doxorubicin and pirarubicin

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis **1992** Vol.10, p. 343-348.

**[18] Kingsbury W. D., Bohem J. C., Jakas D. R., Holden K. G., Hecht S. M., Gallagher G., Caranfa M. J., McCabe F. L., Faucette L. F., Johnson R. K., Hertzberg R. P.,**

Synthesis of water-soluble (aminoalkyl)camptothecin analogues: inhibition of topoisomerase I and antitumor activity.

J Med Chem. **1991** 34 98–107.

**[19] Kunimoto T., Nitta K., Tanaka T., Uehara N., Baba H., Takeuchi M., Yokokura T., Sawada S., Miyasaka T., Mutai M.,**

Antitumor activity of a new camptothecin derivative, SN-22, against various murine tumors.

J Pharmacobiodyn , **1987** 10, Issue 3, Pages 148-51

**[20] Lerman L. S.,**

Structural considerations in the interaction of DNA and acridines.

*J. Mol. Biol.*, **1961**, 3, 18-30

**[21] Leverage Roger, Rolland A.**

Methacrylic polymer or copolymer nanoparticles, their preparation and application as a vector for medicines

European Patent, Rennes N° d'édition : F-35000, **1991**

**[22] Lobstein A.**

Les substances naturelles anticancéreuses,  
Archives de la bibliothèque  
Faculté de Pharmacie de Strasbourg **2008**,1-10

**[23] Lombardi P.,**

*The irreversible inhibition of aromatase (oestrogen synthetase) by steroidal compounds.*

Curr. Pharm. Des., **1995**, 1, 23-50.

**[24] Mikan A, Martinez Lanao J, Gonzalez Lopez F, Dominguez-Gil Hurle A.**

High performance liquid chromatography determination of doxorubicin and daunorubicin in plasma using UV detection and column switching.

Biomed Chromatogr. **1990** 4:154-156.

**[25] Old L.,**

Immunotherapy for cancer.

Scientific American **1996**;275(3):136-43.

**[26] Oliff A., Gibbs J., McCormick F.,**

New molecular targets for cancer therapy.

Scient. Am. **1996**, 275, pp. 110–115.

**[27] Perez A.**

La nanotechnologie s'attaque au cancer

Les Echos, **12/02/2008**, P. 17

**[28] Pietrzak et Darzynkiewicz**

Interactions of chlorophyllin with acridine orange, quinacrine mustard and doxorubicin, analyzed by light absorption and fluorescence spectroscopy  
**Biophysical Chemistry** **2003** 104, Pages 305-313.

**[29] Ping Z., Alekha K. Dash**

A simple HPLC method for simultaneous analysis of five antineoplastic agents.  
Département of pharmaceutical and administrative sciences. **1999** 20, 543-548

**[30] Rassool G.H.**

*Substandard and counterfeit medicines.*

J Adv **2004**; 46 (3) : 338-9.1

**[31] Riou J.-F. , Fossé P., Nguyen C. H., Larsen A. K., Bissery M.-C., Grondard L., Saucier J.-M., Bisagni E., Lavelle F.,**

Intoplicine (RP 60475) and its derivatives, a new class of antitumor agents inhibiting both topoisomerase I and II activities.

Cancer Res., **1993**, 53, 5987-5993.

**[32] Rodney R. Larson, M.B. Khazaeli, H. Kenneth Dillon**

Developpement of an CLHP method for simultaneous analysis of five antineoplastic agents.

Applied Occupational and Environmental Hygiene, **2003** 18 , : 109-119

**[33] Rossi T., Barbara A., John R., Baldwin and Prem K.**

Improved methodology for subnanogram quantification of doxorubicin and its 13-hydroxy metabolite in biological fluids by liquid chromatography

Analytica Chimica Acta, **1993** 271, 59-68



[34] **Rouessac F., Rouessac A.**

Analyse chimique, Méthodes et Techniques Instrumentales Modernes,  
Masson, 2<sup>ème</sup> édition, **1994**. P. 15-18.

[35] **Russo D., B. Gatto, G. Capranico, M. Palumbo,**

The effects of camptothecin on RNA polymerase II transcription: Roles of DNA  
topoisomerase I

Biochimie **2007** 82, Pages 482-489

[36] **Schmid C. R., Sluka J. P., Duke K. M., Glasebrook A. W.,**

Novel nonsteroidal selective estrogen receptor modulators. Carbon and  
heteroatom replacement of oxygen in the ethoxypiperidine region of raloxifene

Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters **1999**, 9 Pages 523-528

[37] **Serrano MJ, Sánchez-Rovira P, Algarra I, Jaén A, Lozano A, Gaforio  
JJ.**

Evaluation of a gemcitabine-doxorubicin-paclitaxel combination schedule  
through flow cytometry assessment of apoptosis extent induced in human breast  
cancer cell lines.

*World J Gastroenterol* **2006** 14; 1597-1602

[38] **Service de cancérologie**

Registre de cancérologie du CHU de Treichville, Document consulté le 23  
Juillet 2010

[39] **Site internet** : <http://lacityennete.com/perso/sciences/cancer>

Consulté le 15 Mars 2010

[40] **Site internet** : [www.programme-cancer.ci](http://www.programme-cancer.ci)

Consulté le 15 Mars 2010

**[41] Site Internet** (<http://www.oncoprof.net>).

Consulté le 15 Mars 2010

**[42] Site internet :** [www.who.int](http://www.who.int)

Journée mondiale contre le cancer 2010

Consultée le 05 Février 2010.

**[43] Site internet** [www.who.int](http://www.who.int)

Tests simplifiés pour les médicaments-Substances pharmaceutiques, préparations à base de plantes et préparations pharmaceutiques, 1999

Consulté le 17 Avril 2010

**[44] Site internet :** [www.who.int](http://www.who.int)

Stratégie de Coopération de l'OMS avec les Pays : République de Côte d'Ivoire 2004-2007

Consulté le 15 Mars 2010

**[45] Site internet :** [http:// www. Gbiosciences .com /ResearchProducts/ Doxorubicin.](http://www.Gbiosciences.com/ResearchProducts/Doxorubicin)

Consulté le 15 Mars 2010

**[46] Site internet :** [www.biam.org](http://www.biam.org)

Consultées le 05 Février 2010

**[47] Site internet :** [www.demo.media-nex.com](http://www.demo.media-nex.com)

Consulté le 29 Avril 2010

**[48] Site internet :** [www.immunotherapieeducancer.com](http://www.immunotherapieeducancer.com)

Développement de l'ASCI

Page visitée le 22 Juin 2010

[49] **Site internet : [www.who.int](http://www.who.int)**

Epidémiologie du cancer, données révisée en Février 2009

Page visitée le 22 Juin 2010

[50] **Site internet: <http://www.ebiologie.fr>**

Le cycle cellulaire

Page visité le 10 Décembre 2009.

[51] **Sottani C, Rinaldi P, Leoni E, Poggi G, Teragni C, Delmonte A, Minoia C.**

Simultaneous determination of cyclophosphamide, ifosfamide, doxorubicin, epirubicin and daunorubicin in human urine using high-performance liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry: bioanalytical method validation.

Rapid communications in mass spectrometry : RCM **2008**;22(17): 2645-2659.

[52] **Wall M. E., Wani M. C., Cook C. E., Palmer K. H., Mc Phail A. T., Sim G. A.,**

Plant antitumor agents

The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata*.

*J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, 88 , 3888-3890

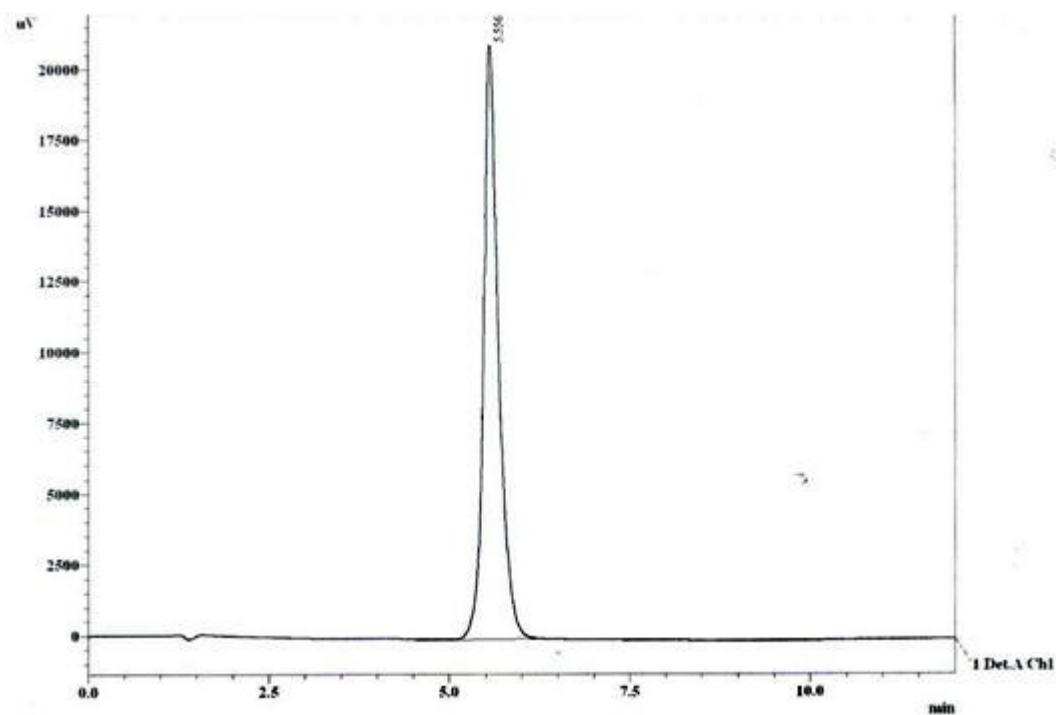
[53] **Yoshinari T., Yamada A., Uemara D., Nomura K., Arakawa H., Kojiri K., Yoshidi E., Suda H., Okura A.,**

Induction of topoisomerase I-mediated DNA cleavage by a new indolocarbazole, ED-110.

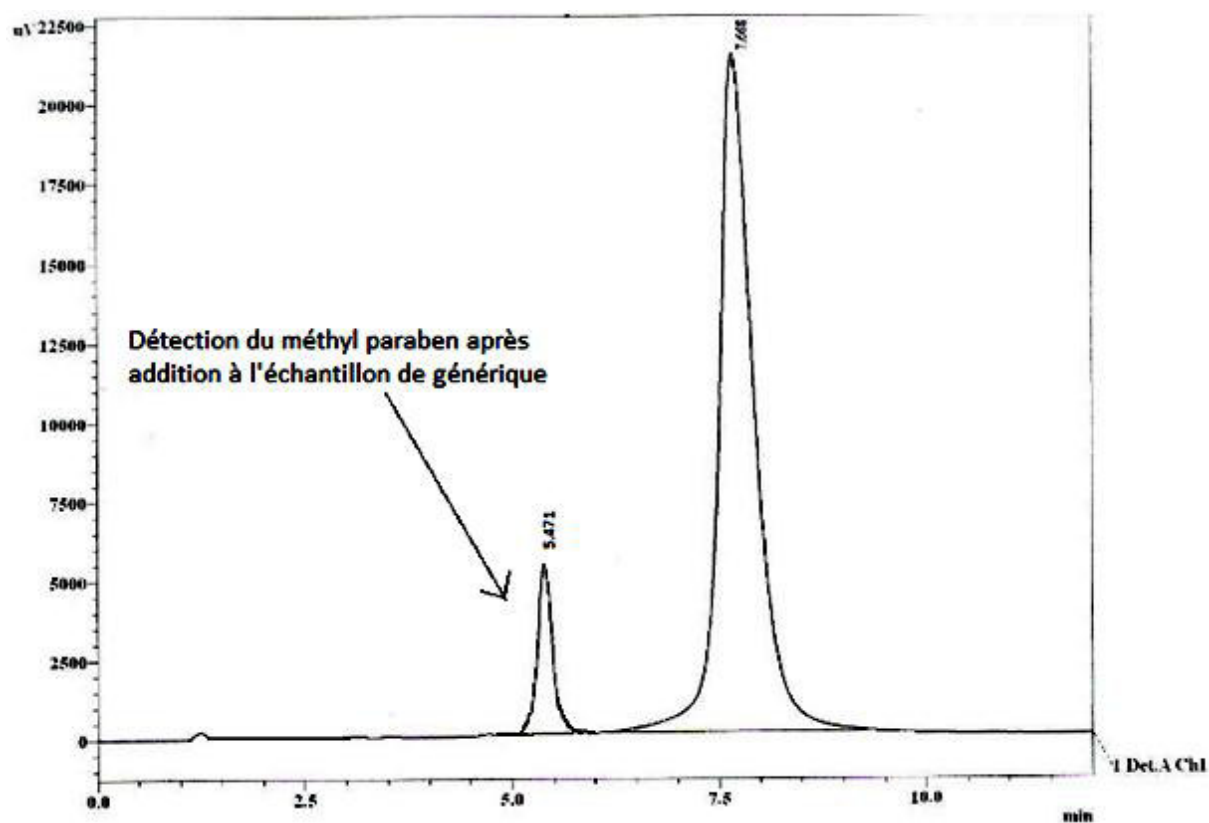
*Cancer Res.*, **1993**, 53, 490-494

## ANNEXES

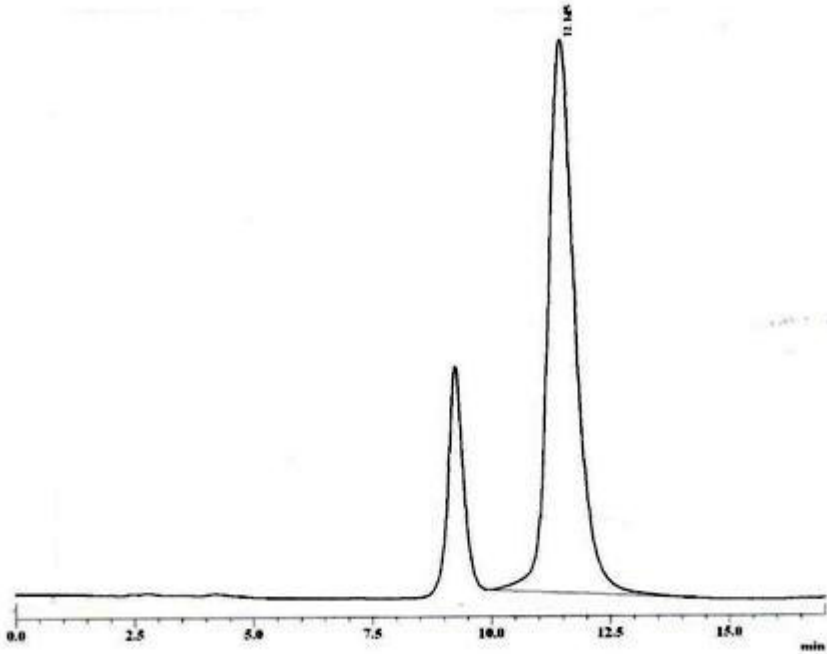
ANNEXE I : Chromatogramme du méthyl paraben dans les conditions retenues pour l'expérience



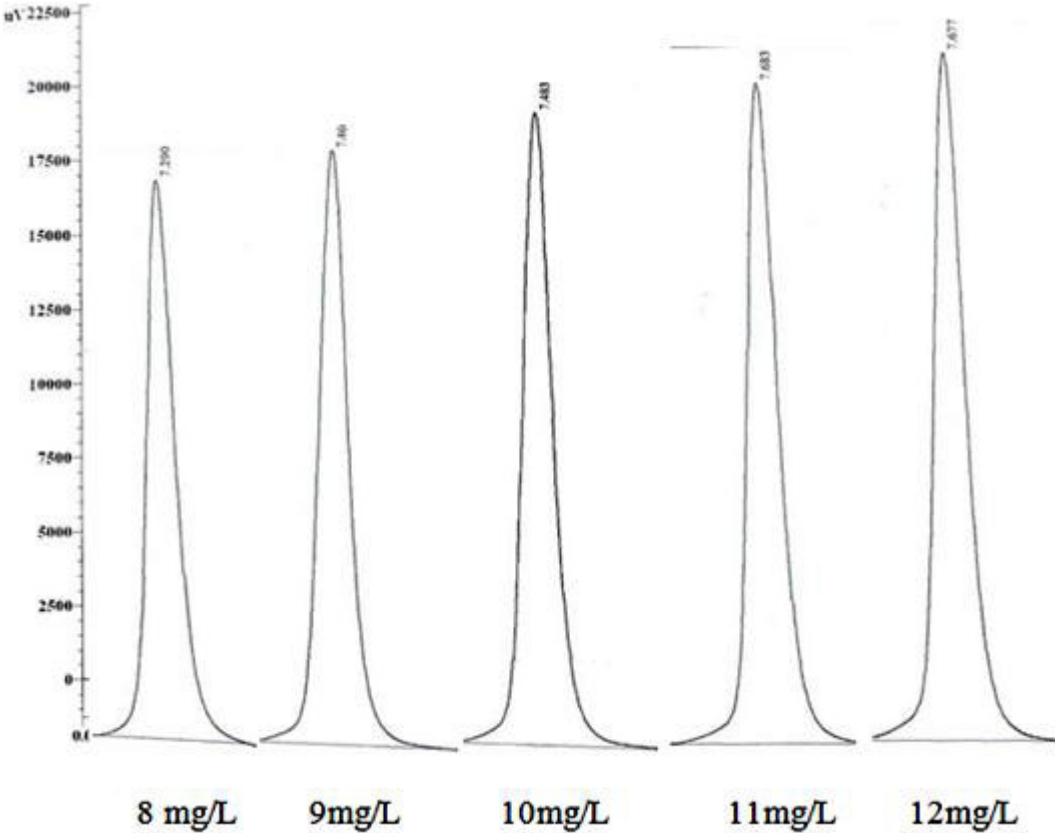
ANNEXE II : Chromatogramme du mélange méthyl paraben + échantillon de générique



ANNEXE III: Chromatogramme obtenu en utilisant une phase mobile avec 19% d'acétonitrile



ANNEXE IV : Superposition des chromatogrammes de l'étalonnage.





## Résumé

La doxorubicine est l'une des molécules les plus utilisées en chimiothérapie anticancéreuse en Côte d'Ivoire.

Une méthode par Chromatographie Liquide haute Performance simple et sensible a été développée pour le dosage du chlorhydrate de doxorubicine dans des lyophilisats pour préparation injectable.

Cette méthode utilise une phase stationnaire C18 (250 x 4,6mm) et une détection dans l'ultra-violet à 254nm. La phase mobile utilisée est un mélange eau, acétonitrile, acide acétique (75/24/1 ; v/v/v ; pH 3.0) avec un débit de 1ml/min. le méthyl parabène a été utilisé comme étalon interne. Le temps de rétention obtenu pour la doxorubicine était de 7,7min, avec une limite de quantification de 2mg/l et une limite de détection de 0,08 µg/ml.

La méthode a ensuite été validé et la linéarité, la précision et l'exactitude étaient toutes satisfaisantes pour permettre son application au dosage de la doxorubicine dans des matrices médicamenteuses.

Cette méthode a permis de mettre en évidence et de doser le composé dans des génériques en cours d'homologation et ainsi de contribuer au contrôle de leur qualité.

Mots clés : doxorubicine, Chromatographie Liquide haute Performance, ultra-violet, lyophilisat pour préparation injectable, génériques.