

Université de Montréal

Étude de compatibilité et de stabilité de mélanges
médicamenteux en solutions injectables à base
de morphine et d'hydromorphone
utilisées aux soins palliatifs

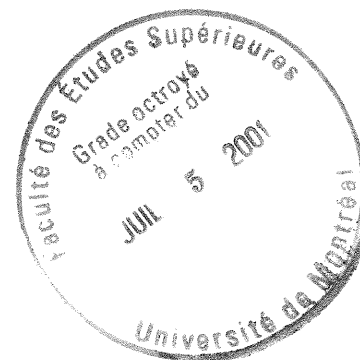
Par

Samir Nassr
Faculté de Pharmacie

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
En vue de l'obtention du grade
de Maître ès sciences (M.Sc.)
Sciences Pharmaceutiques, option pharmacologie

12-2000

© Samir Nassr, 2000



QV
705
N58
2001
N. 011

Page d'identification du jury

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Étude de compatibilité et de stabilité de mélanges
médicamenteux en solutions injectables à base
de morphine et d'hydromorphone
utilisées aux soins palliatifs

Présenté par

Samir Nassr

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

1. Dr. Patrice Hildgen,.....Président du jury
2. Dr. Jean-Louis Brazier,.....Directeur
3. Dr. Pauline Lavoie,.....Membre du jury

Mémoire accepté le :.....

Résumé

I – Question de recherche :

Est-il possible de conserver pendant 96 heures à la température ordinaire 25°C ou dans le réfrigérateur à 4°C des mélanges thérapeutiques utilisés en soins intensifs et contenant des agents pharmacologiques de différentes classes (analgésiques, antiémétiques, stéroïdes, anti-inflammatoires, antidépresseurs...) afin d'en faciliter l'administration à la fois pour le thérapeute et pour le patient ?

➤ La pertinence de la recherche.

- Les patients, atteints par le cancer, en phase terminale ont besoin de plusieurs médicaments de différentes classes pharmacologiques pour leur thérapie.
- Les médicaments sont généralement administrés par voie sous-cutanée.
- Pour éviter des perfusions multiples on est amené à mélanger les médicaments
- Se pose alors la question de la stabilité et de la compatibilité des solutions thérapeutiques.
- De nombreuses études ont porté sur la stabilité et la compatibilité des mélanges médicamenteux binaires mais très peu de chercheurs ont étudié la stabilité et la compatibilité des mélanges contenant plus de deux ingrédients actifs.
- Notre étude a porté sur la stabilité et la compatibilité de 9 mélanges dont 5 contiennent de la morphine et les 4 autres mélanges contiennent de l'hydromorphone. Les deux opiacés étaient mélangés avec d'autres médicaments utilisés aux soins palliatifs. Cette étude est la seule à avoir étudié la compatibilité et la stabilité des mélanges médicamenteux contenant 6 agents médicamenteux.
- Après avoir démontré que certains mélanges médicamenteux destinés aux soins palliatifs sont stables et compatibles durant 96 heures dans des seringues de polypropylène, nos travaux ont pour incidence pratique de pouvoir préparer à l'avance des seringues contenant ces mélanges et de les garder pendant une période de 4 jours aux conditions de conservations suggérées par notre étude. Cela réglera certains problèmes des soins

palliatifs à domicile surtout au point de vue pratique, économique et au point de vue de disponibilité des infirmières.

➤ La méthode de recherche.

Tout le matériel et les procédures de la préparation des mélanges médicamenteux ont été identiques aux ceux utilisés à l'unité des soins palliatifs de l'hôpital Royal Victoria. Pour l'étude, on a préparé des solutions thérapeutiques en mélangeant les composants dans l'ordre décroissant de leur dose journalière maximale.

Les mélanges médicamenteux contenant la morphine étaient les suivants :

- M1 : Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Dexaméthasone 0.40 mg.mL⁻¹, Octréotide 0.01 mg.mL⁻¹;
- M2 : Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Dexaméthasone 0.40 mg.mL⁻¹, Halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹;
- M3: Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Octréotide 0.01 mg.mL⁻¹, Halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹, Midazolam 1.00 mg.mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹;
- M4 : Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, Métoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹.
- M5 : Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Octréotide 0.01 mg.mL⁻¹, Halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, Métoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹, Diménhydrinate 5.00 mg.mL⁻¹.

Les mélanges médicamenteux contenant l'hydromorphone étaient les suivants :

- MH1: Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, midazolam 1.00 mg.mL⁻¹, famotidine 0.04 mg.mL⁻¹.
- MH2 : Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, métoclopramide 0.05 mg.mL⁻¹, halopéridol 0.05 mg.mL⁻¹.
- MH3 : Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, kétorolac 1.50 mg.mL⁻¹, métoclopramide 0.05 mg.mL⁻¹, famotidine 0.04 mg.mL⁻¹.
- MH4 : Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, diménhydrinate 5.00 mg.mL⁻¹, halopéridol, famotidine 0.04 mg.mL⁻¹, scopolamine 0.04 mg.mL⁻¹.

Immédiatement après la préparation du mélange (temps =0) et aux temps 4, 8, 12, 24, 48, 72 et 96 heures, la compatibilité et la stabilité du mélange contenu dans chacune des seringues conservées à 4°C et 25°C ont été examinées. Les mélanges conservés congelés à -20°C ont été analysés au temps t=0 et au point final de l'étude. Pour la compatibilité, l'apparence physique de chaque seringue a été observée à l'aide d'une loupe sur fonds noir et blanc. Pour la compatibilité la concentration de chaque mélange a été déterminée en duplicata par HPLC-DAD. Pour quantifier les produits, il a fallu développer des méthodes analytiques permettant de séparer et quantifier les constituants de chaque mélange.

➤ Les résultats de recherche

On a réussi à développer et valider une méthode unique permettant la séparation et la quantification des mélanges (M1 à M5) et on a validé 4 autres méthodes analytiques pour séparer et quantifier les constituant des mélanges (MH1 à MH4).

Toutes les méthodes étaient reproductibles, répétables, robustes et sélectives (permettant de séparer tous les constituants donnant un seul pic chromatographique par produit). De plus, la variation du signal en fonction de la concentration était linéaire dans le domaine des concentrations analysées, pour tous les médicaments et pour toutes les méthodes.

➤ La méthode d'analyse des résultats

On a jugé que les résultats de la validation de la méthode étaient satisfaisants si le coefficient de variation des mesures était inférieur à 1%. Dans cette étude, on a considéré que le mélange était stable si la concentration de chaque ingrédient restait supérieure à 90% de sa valeur initiale au bout de 96 heures.

➤ Les conclusions

Les méthodes analytiques décrites dans cette étude sont rapides, reproductibles et robustes. Ces méthodes permettent la séparation et la quantification des médicaments présents dans les mélanges thérapeutiques. **Cette étude est la seule qui a testé la compatibilité et la stabilité de la dose journalière maximale des médicaments utilisés aux soins palliatifs.** Nos résultats montrent que :

- ✓ Les mélanges : (M1) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Dexaméthasone 0.40 mg.mL⁻¹, Octréotide 0.01 mg.mL⁻¹, (M4) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, Métoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹ et (M5) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Octréotide 0.01 mg.mL⁻¹, Halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, Métoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹, Diménhydrinate 5.00 mg.mL⁻¹ sont stables durant 96 heures à 25°C et à 4°C.
- ✓ Le mélange (M3) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Octréotide 0.01 mg.mL⁻¹, Halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹, Midazolam 1.00 mg.mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹ est stable à 25°C . Par contre, M3 est incompatible après 24 heures lorsqu'il est conservé à 4°C.
- ✓ Le mélange (M2) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Dexaméthasone 0.40 mg.mL⁻¹, Halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹ est incompatible au moment du mélange quel que soit l'ordre des médicaments mélangés.
- ✓ Les mélanges (MH1) et (MH3) sont stables durant 96 heures à 25°C et à 4°C où (MH1) contient Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, midazolam 1.00 mg.mL⁻¹, famotidine 0.04 mg.mL⁻¹ et (MH3) contient Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, kétorolac 1.50 mg.mL⁻¹, métoclopramide 0.05 mg.mL⁻¹, famotidine 0.04 mg.mL⁻¹.
- ✓ Le mélange **MH2 est stable et compatible durant 96h à 25 °C mais il n'est ni stable, ni compatible après 12 h à 4 °C** où MH2 contient Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, métoclopramide 0.05 mg.mL⁻¹, halopéridol 0.05 mg.mL⁻¹.
- ✓ Le mélange **MH4 est stable pendant 12 heures à 4 °C et à 25 °C et incompatible après 24h aux deux températures 25 °C et 4 °C** où MH4 contient Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, diménhydrinate 5.00 mg.mL⁻¹, halopéridol, famotidine 0.04 mg.mL⁻¹, scopolamine 0.04 mg.mL⁻¹.
- ✓ Les mélanges **M3 et M5 sont stables**, respectivement, après 99 et 36 jours de congélation.

- ✓ Les mélanges **M1** et **M4** sont **instables**, respectivement, après 57 et 29 jours de congélation à -20°C .
- ✓ Le mélange **MH1** est **stable** après 7 jours au congélateur à -20°C .
- ✓ Les mélanges **MH2**, **MH3**, **MH4** sont **instables**, respectivement, après 36, 9, 23 jours de congélation à -20°C .
- ✓ La congélation n'est pas recommandée pour la conservation des médicaments.

TABLE DES MATIÈRES

Résumé	i
Tables des matières	vi
Liste des tableaux	xii
Liste des figures	xvi
Listes des abréviations et des symboles	xviii
Remerciement	xix
Dédicaces	xx
CHAPITRE I : INTRODUCTION	2
<u>I-1 Les soins palliatifs</u>	2
<u>I-2 Le malade en phase terminale</u>	2
I-2-1 Les souffrances physiques des patients en phase terminales	4
• I-2-1-1 Qu'est ce que la douleur?.....	5
• I-2-1-2 Nausées et Vomissements.....	7
I-2-2 Principe du traitement	9
• Les médicaments agissant sur le centre du vomissement et sur les noyaux vestibulaires	9
• Les médicaments agissant sur la CTZ.....	10
• Les médicaments agissants en périphérie.....	10
• Les médicaments agissant sur le cortex.....	11
<u>I-3 Les médicaments étudiés dans ce projet</u>	13
Morphine	13
Hydromorphone	14
Diménhydrinate	15
Midazolam	15
Halopéridol	16

Métoclopramide	17
Famotidine	18
Dexaméthasone	19
Sandostatin	20
Kétorolac	20
Scopolamine	21
<u>I-4 Énoncé du problème</u>	22
I-4-1 Question de recherche	24
I-4-2 Objectifs	24
• Phase I : Étude de mélanges thérapeutiques à base de Morphine.....	24
• Phase II : Étude des mélanges thérapeutiques à base d'Hydromorphone.....	25
CHAPITRE II : ÉTAT DE LA QUESTION	28
<u>II-1 La stabilité des médicaments seuls</u>	28
II-1-1 Morphine	28
II-1-2 Diménhydrinate	29
II-1-3 Midazolam	29
II-1-4 Halopéridol	29
II-1-5 Métoclopramide	29
II-1-6 Famotidine	30
II-1-7 Dexaméthasone	30
II-1-8 Hydromorphone	30
II-1-9 Kétorolac	30
II-1-10 Octréotide	30

<u>II-2 Stabilité de combinaisons binaires et de mélanges contenant plus que deux ingrédients actifs impliquant les produits étudiés</u>	31
<u>II-3 Méthodes de dosage</u>	32
CHAPITRE III : MÉTHODOLOGIE D'ANALYSE	34
<u>III-1 Principe et impératifs</u>	34
	35
<u>III-2 Combinaisons des solutions médicamenteuses étudiées</u>	
<u>III-3 Méthodologie d'analyse</u>	36
III-3-1 Compatibilité	36
III-3-2 Stabilité	36
III-3-2-1 Choix de technique d'analyse	36
III-3-2-2 Choix du détecteur	37
III-3-2-3 Médicaments standards (référence)	39
III-3-2-4 Appareillages et réactifs	40
<u>III-4- Protocole Expérimental</u>	41
III-4-1 Préparation du mélange	41
III-4-2 Analyse des constituants des mélanges	43
Conditions analytiques: Gradient d'élution et longueurs d'onde de détection	

CHAPITRE IV : RÉSULTATS DES MÉLANGES À BASE DE MORPHINE	49
<u>IV-1 Paramètres de la séparation chromatographique dans les conditions définitives</u>	49
IV -1 - 1 Tracé chromatographique.....	49
IV -1 - 2 Temps de rétention.....	51
IV -1 - 3 Facteurs de résolution.....	52
IV -1 - 4 Facteur d'asymétrie.....	53
IV -1 - 5 Critère de pureté des pics chromatographique – sélectivité.....	54
<u>IV – 2 – Paramètres de l'analyse quantitative dans les conditions définitives</u>	57
IV - 2 - 1 Analyse des surfaces et hauteurs des pics chromatographiques.....	57
IV - 2 - 2 Répétabilité des mesures de rapports de surfaces de pics.....	58
IV - 2 - 3 Répétabilité des mesures de hauteurs des pics.....	58
IV - 2 - 4 Fonctions d'étalonnage.....	58
<u>IV - 3 – Résultats de l'étude de stabilité</u>	60
CONSERVATION DES SOLUTIONS CONGELÉES.....	62
<u>CONCLUSIONS</u>	64
<u>IV - 4 - Résultats de l'étude de compatibilité</u>	65
<u>IV - 5 - Etude des cristaux apparaissant dans la solution (MH2): Dihydromorphone, Métopropramide, Halopéridol conservée à 4 degrés C.</u>	71
CONCLUSION GENERALE	74

CHAPITRE V : RÉSULTATS DES MÉLANGES À BASE D'HYDROMORPHONE	78
<u>V-1 Paramètres de la séparation chromatographique dans les conditions définitives</u>	78
V -1 - 1 Tracé chromatographique.....	78
V -1 - 2 Temps de rétention.....	84
V -1 - 3 Facteurs de résolution.....	86
V -1 - 4 Facteur d'asymétrie.....	88
V -1 - 5 Critère de pureté des pics chromatographique – sélectivité.....	90
<u>V - 2 – Paramètres de l'analyse quantitative dans les conditions définitives</u>	91
V - 2 - 1 Répétabilité des mesures de surfaces de pics.....	91
V - 2 - 2 Répétabilité des mesures de rapports de surfaces de pics.....	92
V - 2 - 3 Répétabilité des mesures de hauteurs des pics.....	93
V - 2 - 4 Fonctions d'étalonnage.....	95
<u>V - 3 – Résultats de l'étude de stabilité</u>	97
<u>CONCLUSIONS</u>	100
CONSERVATION DES SOLUTIONS CONGELÉES	
<u>V - 4 - Résultats de l'étude de compatibilité</u>	101
<u>V - 5 - Etude des cristaux apparaissant dans la solution (MH2):</u>	105
<u>Hydromorphe, Métoprolol, Halopéridol conservée à 4 degrés C.</u>	
	107
<u>CONCLUSION GENERALE</u>	

<u>LISTE DES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	118
Annexe I Publication	xxi
Annexe II Publication	xxxiv
Annexe III Fiches des médicaments	lv

LISTE DES TABLEAUX

Tableau (III-1.1) :	Les médicaments utilisés dans cette étude et leurs préparations pharmaceutiques.	40
Tableau (III.1.2) :	Les médicaments utilisés dans cette étude et leurs préparations pharmaceutiques (suite).	41
Tableau (III-2) :	Le profil d'élution pour l'analyse des constituants des mélanges à base de morphine (M1 à M5).	44
Tableau (III-3) :	Le profil d'élution pour l'analyse des constituants du mélange MH1 (Hydromorphone, Midazolam et Famotidine).	46
Tableau (III-4) :	Le profil d'élution pour l'analyse des constituants du mélange MH2 (Hydromorphone, Métoclopramide et Halopéridol).	46
Tableau (III-5) :	Le profil d'élution pour l'analyse des constituants du mélange MH3 (Hydromorphone, Kétorolac, Métoclopramide, Famotidine).	46
Tableau (III-6) :	Le profil d'élution pour l'analyse des constituants du mélange MH4 (Hydromorphone, Diménhydrinate, Halopéridol et Famotidine).	47
Tableau (III-7) :	Les longueurs d'onde de détection pour les mélanges à base d'Hydromorphone	48
Tableau (IV-1) :	Temps de rétention moyens des différentes molécules (n = 5).....	51
Tableau (IV-2) :	Facteurs de résolution R moyens des pics chromatographiques (n=5).....	52
Tableau (IV-3) :	Facteurs de symétrie moyens des pics chromatographiques (n=5).....	53
Tableau (IV-4) :	Facteurs de pureté des pics chromatographiques correspondant aux molécules à analyser.	54
Tableau (IV-5) :	Identification des différents pics du chromatogramme.....	55
Tableau (IV-6) :	Répétabilité des surfaces des pics chromatographiques, des rapports des surfaces et des hauteurs des pics (n=5).	57
Tableau (IV-7) :	Concentrations utilisées pour le test de linéarité.....	59

Tableau (IV-8) :	Fonctions d'étalonnage (R : coefficient de régression linéaire).....	59
Tableau (IV-9) :	Pourcentages restant de chacun des médicaments dans les mélanges étudiés à 4°C.	60
Tableau (IV-10) :	Pourcentages restant de chacun des médicaments dans les mélanges étudiés à 25°C.	61
Tableau (IV-11) :	Pourcentages restant de chacun des médicaments dans les mélanges congelés au temps final.	63
Tableau (IV-12) :	Résultats de compatibilité du mélange M1.....	66
Tableau (IV-13) :	Résultats de compatibilité du mélange M3 à 25 °C.....	67
Tableau (IV-14) :	Résultats de compatibilité du mélange M3 à 4 °C.....	68
Tableau (IV-15) :	Résultats de compatibilité du mélange M4.....	69
Tableau (IV-16) :	Résultats de compatibilité du mélange M5.....	71
Tableau (V-1) :	Temps de rétention moyens (minutes), déviation standard, coefficient de variation du mélange MH1.	84
Tableau (V-2) :	Temps de rétention moyens (minutes), déviation standard, coefficient de variation du mélange MH2.	84
Tableau (V-3) :	Temps de rétention moyens (minutes), déviation standard, coefficient de variation du mélange MH3.	85
Tableau (V-4) :	Temps de rétention moyens (minutes), déviation standard, coefficient de variation du mélange MH4.	85
Tableau (V-5) :	Facteur de résolution R moyen, Écart-type et C.V.% du mélange MH1...	86
Tableau (V-6) :	Facteur de résolution R moyen, Écart-type et C.V.% du mélange MH2...	86
Tableau (V-7) :	Facteur de résolution R moyen, Écart-type et C.V.% du mélange MH3...	87

Tableau (V-8) :	Facteur de résolution R moyen, Écart-type et C.V.% du mélange MH4...	87
Tableau (V-9) :	Facteur d'asymétrie, déviation standard et C.V.% du mélange MH1.....	88
Tableau (V-10) :	Facteur d'asymétrie, déviation standard et C.V.% du mélange MH2.....	88
Tableau (V-11) :	Facteur d'asymétrie, déviation standard et C.V.% du mélange MH3.....	89
Tableau (V-12) :	Facteur d'asymétrie, déviation standard et C.V.% du mélange MH4.....	89
Tableau (V-13) :	Facteurs de pureté des pics chromatographiques correspondant aux molécules à analyser.	90
Tableau (V-14) :	Surfaces absolues des pics chromatographiques n=5 du mélange MH1...	91
Tableau (V-15) :	Surfaces absolues des pics chromatographiques n=5 du mélange MH2...	91
Tableau (V-16) :	Surfaces absolues des pics chromatographiques n=5 du mélange MH3...	91
Tableau (V-17) :	Surfaces absolues des pics chromatographiques n=5 du mélange MH4...	92
Tableau (V-18) :	Rapports de surfaces des pics chromatographiques n=5 du mélange MH1	92
Tableau (V-19) :	Rapports de surfaces des pics chromatographiques n=5 du mélange MH2	92
Tableau (V-20) :	Rapports de surfaces des pics chromatographiques n=5 du mélange MH3	93
Tableau (V-21) :	Rapports de surfaces des pics chromatographiques n=5 du mélange MH4	93

Tableau (V-22) :	Hauteurs des pics chromatographiques n=5 du mélange MH1.....	93
Tableau (V-23) :	Hauteurs des pics chromatographiques n=5 du mélange MH2.....	94
Tableau (V-24) :	Hauteurs des pics chromatographiques n=5 du mélange MH3.....	94
Tableau (V-25) :	Hauteurs des pics chromatographiques n=5 du mélange MH4.....	94
Tableau (V-26) :	Concentrations utilisées pour le test de linéarité.....	95
Tableau (V-27) :	Fonctions d'étalonnage du mélange MH1.....	95
Tableau (V-28) :	Fonctions d'étalonnage du mélange MH2.....	96
Tableau (V-29) :	Fonctions d'étalonnage du mélange MH3.....	96
Tableau (V-30) :	Fonctions d'étalonnage du mélange MH4.....	96
Tableau (V-31) :	Pourcentages restant de chacun des médicaments dans les mélanges étudiés à 4 °C.	97
Tableau (V-32) :	Pourcentages restant de chacun des médicaments dans les mélanges étudiés à 25 °C.	98
Tableau (V-33) :	Pourcentages restant de chacun des médicaments dans les mélanges congelés contenant de l'hydromorphone au temps final.	99
Tableau (V-34) :	Résultats de compatibilité du mélange MH1.....	101
Tableau (V-35) :	Résultats de compatibilité du mélange MH2.....	102
Tableau (V-36) :	Résultats de compatibilité du mélange MH3.....	103
Tableau (V-37) :	Résultats de compatibilité du mélange MH4.....	104

LISTE DES FIGURES

Figure (1-1)	Les paliers d'analgésie de la douleur.....	6
Figure (1-2)	Physiologie des nausées et vomissements et leur traitement.....	12
Figure (1-3)	La structure chimique de la morphine.....	13
Figure (1-4)	La structure chimique de l'hydromorphone.....	14
Figure (1-5)	La structure chimique du diménhydrinate.....	15
Figure (1-6)	La structure chimique du midazolam.....	16
Figure (1-7)	La structure chimique de l'halopéridol.....	16
Figure (1-8)	La structure chimique du métoclopramide.....	17
Figure (1-9)	La structure chimique de la famotidine.....	18
Figure (1-10)	La structure chimique de la dexaméthasone.....	19
Figure (1-11)	La structure chimique de l'octréotide.....	20
Figure (1-12)	La structure chimique du kétorolac.....	21
Figure (1-13)	La structure chimique de la scopolamine.....	22
Figure (4-1)	Tracé chromatographique dans les conditions définitives de séparation.	49
Figure (4-2)	Tracé chromatographique dans les conditions définitives.....	50

Figure (4-3)	Chromatogramme du mélange médicamenteux obtenu dans les conditions de séparation définitives.	56
Figure (4-4)	Tracé chromatographique de la solution obtenue à partir des cristaux apparus à 4°C dans le mélange M3.	72
Figure (4-5)	Spectres UV de l'halopéridol pur en solution (référence) et issu des cristaux formés dans le mélange M3.	73
Figure (5-1)	Chromatogramme du mélange MH1 - 281 nm.....	78
Figure (5-2)	Chromatogramme du mélange MH1 - 271 nm.....	79
Figure (5-3)	Chromatogramme du mélange MH1 - 219 nm.....	79
Figure (5-4)	Chromatogramme du mélange MH1 - 267 nm.....	80
Figure (5-5)	Chromatogramme du mélange MH2 - 250 nm.....	81
Figure (5-6)	Chromatogramme du mélange MH2 - 285 nm.....	81
Figure (5-7)	Chromatogramme du mélange MH3 - 318 nm.....	82
Figure (5-8)	Chromatogramme du mélange MH3 - 271 nm.....	82
Figure (5-9)	Chromatogramme du mélange MH4 - 250 nm.....	83
Figure (5-10)	Chromatogramme du mélange MH4 - 285nm.....	83
Figure (5-11)	Tracé chromatographique de la solution obtenue à partir des cristaux apparus à 4°C dans le mélange 2.	105
Figure (5-12)	Spectres UV de l'halopéridol en solution pure (référence) et issu du cristal formé dans le mélange 2.	106

LISTE DES ABREVIATION ET DES SYMBOLES

AAS	Acide Acétylsalicylique
AINS	Anti-Inflammatoire Non-Stéroïdien
BAL	Alcool Benzylique
C₁₈	Octadésile silane
C.V.	Coefficient de Variation
C.V.%	Coefficient de Variation exprimé en pour-cent
DAD	Diod Array Detector (Détecteur à barrette de diodes)
DH	Dimenhydrinate
DHMO	Dihydromorphone (hydromorphone)
DX	Dexaméthasone
FA	Famotidine
HA	Halopéridol
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IASP	International Association for the Study of Pain
KE	Kétorolac
LC	Liquid Chromatography
LC-MS	Liquid Chromatography-Mass Spectrometry
ME	Métoclopramide
MI	Midazolam
MO	Morphine
MPB	Méthylparabène
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PPB	Propylparabène
r	Coefficient de régression linéaire
R	Facteur de résolution
SD	Écart type
SNC	Système Nerveux Central
THP	Théophylline
Tr	Temps de rétention
Tw	Distance entre le front de pic et le temps de rétention correspondant au point situé à 5% de la hauteur du pic
UV	Ultra-Violet
ω_{50}	Largeur du pic chromatographique
$\omega_{5.0}$	Largeur du pic chromatographique à 5% de la hauteur du pic

Remerciements

Au bon Dieu pour tous les dons qu'il m'a accordés. Un don est un cadeau du ciel, il faut respecter, admirer et faire grandir. Pour trouver le bon directeur de recherche Dr Jqui a fait grandir mes dons et qui m'a guidé vers le chemin du succès.

A ma famille pour le support moral et financier.

Au Dr Jean-Louis Brazier, mon directeur de recherche, de m'avoir donné la chance de travailler dans son laboratoire qui est unique par son originalité et qui possède les spécialités que je recherche pour atteindre les buts de ma carrière. Je remercie le Dr Brazier d'avoir sacrifié beaucoup de son temps précieux pour contribuer à mon projet de recherche ainsi qu'à ma formation. Malgré toutes les difficultés à travers lesquelles il est passé, il était et il est toujours là pour répondre à mes questions et diriger mon travail afin de finaliser ma maîtrise avec succès.

Au Dr patrice Hildhen pour son temps et pour ses conseils précieux.

A Marie Brunet et Marie-Claude Dubuc pour leur collaboration, leur esprit positif et enthousiaste et pour leurs humeurs qui vous fait aimer la vie encore plus.

A Dr Pauline Lavoie et au département des soins palliatifs de l'hôpital Royal Victoria à Montréal pour le fond de recherche. Je remercie le Dr Lavoie pour nous avoir confié ce projet de recherche qui est tout à fait intéressant et pratique.

Walid Elbast et Marie-Sophie Caubet pour leurs conseils précieux.

Finalement, je remercie la Chaire Pharmaceutique Famille Louis Bovin Médicament, Grossesse et Allaitement qui a permis la fondation d'un laboratoire bien équipé avec des appareils de haute technologie, ce qui a facilité le travail et qui a augmenté la fiabilité des résultats.

DEDICACES

A mes parents Marie Farah et Elias Nassr. Mon père, le **Dr Elias Nassr**, qui par le biais des succès de sa carrière, comme directeur de la recherche agricole de toute la Syrie, m'a donné l'exemple à suivre et l'ambition d'aller plus loin dans la vie. A mon frère Nicolas et ma sœur Fadia et mon beau-frère Paul Tinawi. Finalement à mes neveux, le futur de notre famille,
Marc et Philippe Tinawi.

A tous mes amis notamment

Christian Kamel , Rim Soudir, Elias Arselan, Hani Nasr, Bassel Bitar,
Salim Ward, Mazen et Wael Nser, Fouad Koueter, Samer Najari.
Philippe Dadour, Marc Hasrouny, Jean Lahoud, Charbel Kairouz.
et Nour et Boudour Sharestan

CHAPITRE I
INTRODUCTION

CHAPITRE I : INTRODUCTION

I-1 Les soins palliatifs

Définition des soins palliatifs : « Les soins palliatifs visent à soulager les souffrances et à améliorer la qualité de vie des personnes qui sont à un stade avancé de leur maladie, de celles qui sont en fin de vie, et de celles qui vivent un deuil. ».

Extrait pris de la page web de l'Association canadienne des soins palliatifs.

<http://www.acsp.net/debut.htm>

Pour que les soins et le traitement des malades soient efficaces, il faut la collaboration du malade, de sa famille, du médecin et des intervenants. En effet « la famille et le malade forment l'unité de soins, tout comme le médecin et tous les intervenants forment l'unité de traitement » [1].

La famille, le médecin et les intervenants (ergothérapeute, musico-thérapeute, les bénévoles, les infirmières, les psychologues, les psychiatres, les phytothérapeutes ...) forment une équipe dont l'aide de chaque membre est indispensable. Cette équipe s'arrange pour diminuer la souffrance du malade et augmenter sa qualité de vie.

I-2 Le malade en phase terminale

Le malade en phase terminale souffre de [1]:

- La peur :
 - De la mort.
 - Du moment de la mort.
- D'angoisses d'ordre moral :
 - Dépendance des autres.
 - Perte du contrôle de la situation.
 - Impossibilité d'accomplir des souhaits intimes.
 - Inquiétude sur l'avenir pour ceux qui resteront.
- De questions existentielles :

- Incertitude de l'après mort.
- Sens de la vie.
- Recours aux croyances religieuses.
- De l'influence des autres :

Les autres sont la famille, les amis, l'entourage, le médecin et les intervenants. L'attitude des gens en présence du patient le marque beaucoup. Cette attitude est très importante pour le bon déroulement du soin et du traitement du patient. Celui-ci est influencé par la façon dont on le regarde, par la pitié exprimée sur le visage des visiteurs.

Quel que soit l'état physique du patient, il désire et doit être considéré comme une personne entière, vivante et digne de communication jusqu'à la fin.
- De l'isolement :

Lorsque le malade ressent la douleur et ressent que le monde qui l'entoure ne lui ressemble plus, que le monde ne le comprend plus et qu'il ne partage plus ses sentiments, la communication entre le malade et les gens va diminuer et cette situation prend de plus en plus d'ampleur avec l'avancement de la maladie. Cela va mener à l'isolement du patient.
- De l'espoir :

Au début, de façon instinctive, les malades gardent l'espoir de guérir même dans les cas les plus désespérés. Au fur et à mesure que leurs forces les abandonnent, les attentes de ces patients diminuent. Il ne faut jamais faire en sorte de diminuer le moral des patients, au contraire, il faut le remonter en agissant et parlant toujours avec une attitude positive et optimiste.

Les patients, rendus en phase terminale, vont réagir différemment face à la mort et à leurs maladies. La réaction peut être le dénie, la colère ou la révolte, le marchandage, la dépression et l'isolement si la personne n'accepte pas le fait qu'elle va mourir et qu'elle est impuissante face à cette issue. L'autre attitude rencontrée est l'acceptation donc une soumission à l'inévitable.

Les soins palliatifs de nos jours sont en train de prendre une dimension plus importante pour répondre aux besoins des patients et de leur famille : « La notion primitive de (souffrance globale) des malades avec ses composantes **physiques, psychosociales et spirituelles** s'est maintenant élargie pour englober la notion de participation du personnel, et de gestion commune de toutes les souffrances qui peuvent surgir » [2].

Dans une étude faite par Balfour M. Mount à l'hôpital Royal Victoria, plus de 80% des patients en phase terminale trouvent que l'hôpital devrait répondre à leurs besoins émotionnels[3].

Face aux besoins du malade, la construction d'une équipe professionnelle interdisciplinaire et la formation d'un corps solide avec les différentes disciplines (l'ergothérapeute, les bénévoles, le personnel administratif) est indispensable[2].

Nous nous intéressons dans notre étude au soulagement de la douleur **physique** et des complications que pourrait avoir le patient qui est atteint par le cancer en phase terminale, à cause du traitement médical. Pour s'assurer que l'administration des médicaments se fait de façon sécuritaire, il est indispensable de s'assurer de la stabilité des médicaments et de la compatibilité des mélanges de médicaments administrés.

I-2-1 Les souffrances physiques des patients en phase terminales

Les souffrances physiques des patients en phase terminales consistent surtout en **douleur, nausées et vomissements.**

Le nombre de personnes atteintes par le cancer ne cesse d'augmenter avec 9 millions de nouveaux cas chaque année, dont plus de la moitié sont diagnostiqués dans les pays développés [4]. Suite au vieillissement de la population et à la généralisation du tabagisme, la mortalité due au cancer va continuer de croître dans les années à venir. En 1990, l'OMS estimait que 25 % de la population des pays développés mourait du cancer [5]. Très souvent encore, les cancers sont diagnostiqués à un stade trop avancé pour

permettre une guérison. Dans ce cas, l'unique traitement envisageable reste alors d'offrir au patient des soins palliatifs en vue de soulager la douleur liée à la maladie. En effet, celle-ci est une cause de souffrance profonde et réduit fortement la qualité de vie du malade dans les derniers moments de sa vie [6].

I-2-1-1 Qu'est ce que la douleur?

Définition de la douleur selon L'IASP: « C'est une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable associée à un dommage tissulaire présent ou potentiel, ou décrite en terme d'un tel dommage » [4].

La douleur est produite par une stimulation chimique ou mécanique au niveau des terminaisons nerveuses. Les signaux seront transmis au cerveau par des faisceaux spinothalamiques. Ces voies nerveuses sont constituées de plusieurs neurones dont les terminaisons se font relais dans la moelle, le tronc cérébral, et le diencephale. A chaque relais, il y a convergence d'influx nerveux provenant de sources **externes** (somatiques pour la moelle, auditives et visuelles pour le tronc cérébral) et **internes** (viscérales et d'autres régions du système nerveux central, surtout le cortex cérébral frontal et limbique). **L'information douloureuse** peut être **amplifiée** ou **diminuée** à ces points de convergences **compte tenu de la sommation** de celle-ci et de **toutes les autres informations**.

Dans la population des patients cancéreux, 62 à 78% des douleurs résultent d'un effet direct du cancer [6]. Parmi celles-ci, environ 50% sont causées par les métastases osseuses qui se situent généralement au niveau de la colonne vertébrale et sont à l'origine de douleurs dorsales [7], 25% sont dues à des compressions ou infiltrations nerveuses et 3% à un envahissement tumoral des viscères [6]. La douleur associée au traitement du cancer par chirurgie, chimiothérapie ou radiothérapie concerne 19 à 25% des patients. Les douleurs non associées au cancer ou à sa thérapie, généralement liées à des maladies chroniques préexistantes, comptent pour 3 à 10% des cas [6].

Les douleurs nociceptives résultent de la stimulation directe des nocicepteurs périphériques [4] et comprennent les douleurs somatiques et les douleurs viscérales. La douleur de type somatique est, en général, reliée à l'envahissement par les cellules cancéreuses des structures somatiques telles les muscles ou les os [6] : Les douleurs au

dos sont de loin les plus fréquemment rencontrées [7]. La douleur de type viscérale est reliée à l'obstruction, l'infiltration ou la compression des viscères creux ou solides [6, 7]. Les douleurs nociceptives liées à la chimiothérapie, à la radiothérapie ou à la chirurgie sont rares [7]. Ces douleurs répondent habituellement bien aux analgésiques non-opioïdes et opioïdes [6].

Les douleurs neuropathiques font intervenir des voies neuronales centrales ou périphériques afférentes [6] et sont causées par l'infiltration ou la compression par la tumeur, de nerfs ou plexus, ou par l'effet éloigné de la maladie cancéreuse sur les nerfs périphériques [7]. Elles sont aussi parfois la conséquence du traitement du cancer. Souvent ces douleurs répondent mal aux analgésiques opioïdes [6].

Les Paliers d'analgésie de la douleur:

La douleur est une sensation dont l'évaluation est une question subjective car le patient est la seule personne qui peut évaluer cette sensation. De plus, la douleur varie d'une personne à l'autre. Donc, pour évaluer la douleur on utilise une échelle graduée de 1 à 10, et c'est le patient qui va évaluer sa douleur selon cette échelle [8]. La figure (1.1) montre les paliers d'analgésie.

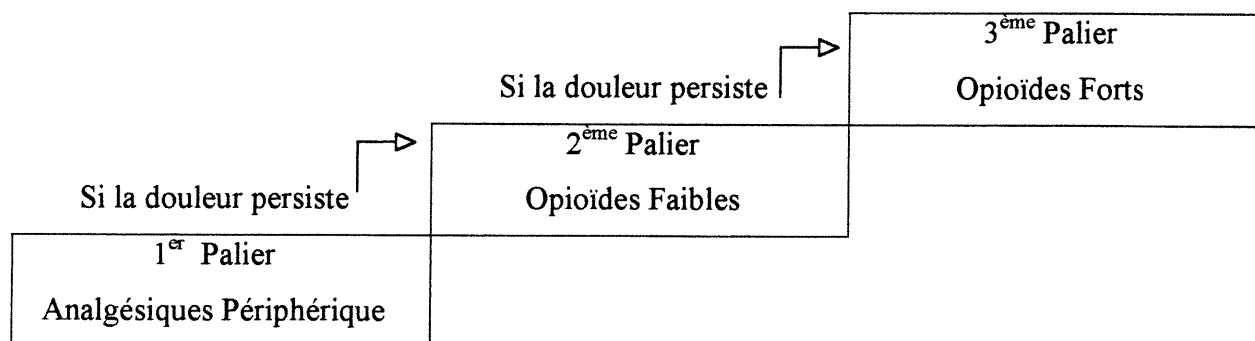


Figure (1-1) Les paliers d'analgésie

Pour le traitement, on devrait prescrire **la dose minimale efficace pour avoir un effet analgésique maximal avec un minimum d'effets secondaires**. Donc pour soulager les **douleurs cancéreuses légères (premier palier)**, on utilise les **anti-inflammatoires non stéroïdiens** [Dérivés de l'AAS (Diflunisal), dérivés de l'acide propionique (Ibuprophène, fénoprophène, kétoprophène, napoprophène, naproxène Sodique), dérivés de l'indole (Indométacine, sulindac, tolmelin), dérivés de l'acide fénamique (acide méphénamique, acide méclophénamique) et autres].

Si la **douleur persiste, on augmente la dose** jusqu'à l'effet maximal et/ou jusqu'à atteindre la dose maximale. Au-delà d'une certaine dose, l'effet n'est plus proportionnel à la dose administrée et on obtient une saturation de l'effet. À ce moment, l'augmentation de la dose ne fait qu'augmenter les effets indésirables [6, 9, 10].

Si la dose maximale pour les anti-inflammatoires non stéroïdiens ne donnent pas l'effet désiré, on passe au deuxième palier qui a pour but de soulager les douleurs intermédiaires à intenses. Un exemple courant d'un opioïde de faible puissance est la codéine. Celle-ci est métabolisée par le cytochrome CYP2D6 qui la transforme (10%) en morphine (la molécule active) [11]. On peut, dans ce deuxième palier, combiner les opioïdes faibles et les médicaments non opioïdes (du premier palier). Si la douleur persiste à la dose maximale, on passe au troisième palier. On utilise alors les opioïdes forts pour soulager les douleurs intenses. Parmi ces médicaments on trouve la morphine, l'hydromorphone, l'oxycodone, le fentanyl et l'oxymorphone [6, 9, 10].

Ainsi, pour contrôler la douleur des patients atteints par le cancer, la morphine et l'hydromorphone sont les analgésiques opioïdes les plus fréquemment utilisées [6].

I-2-1-2 Nausées et Vomissements

Les quatre voies responsables de l'activation du centre du vomissement sont la zone chémoréceptrice réflexogène CTZ (Chemoreceptor Trigger Zone), l'appareil vestibulaire et labyrinthique, la stimulation périphérique des organes viscéraux, et les structures cérébrales corticales et limbiques.

La CTZ est activée par des médicaments (chimiothérapie) et/ou des désordres métaboliques (radiothérapie). Cette zone possède plusieurs récepteurs à la dopamine (D1), à la sérotonine (H5T3), à l'histamine, à l'acétylcholine et aux opiacées.

Au niveau des organes viscéraux, les nausées et vomissements sont provoqués par l'irritation gastrique, la distension biliaire ou hépatique... Ces organes possèdent aussi des récepteurs à la sérotonine (H5T3), à la dopamine (D1), aux opiacées et aux neurokines type 1 (NK1). La stimulation du Système Nerveux Central résulte principalement en des influx afférents du pharynx et du tractus gastro-intestinal. Tout facteur conduisant à une irritation, une distension, une compression ou à un ralentissement de la motilité gastro-intestinale peut déclencher ce processus. Les influx sont transmis au centre du vomissement par les circuits du nerf vague et du système sympathique, sans passer par la C.T.Z. Les antinéoplasiques et la chimiothérapie abdominale conduisent à une libération de la sérotonine par les cellules entérochromaffines de la muqueuse gastrointestinale. La sérotonine présente et la sérotonine libérée stimulent les fibres afférentes viscérales, qui à leur tour, stimulent la CTZ et le centre du vomissement.

L'appareil vestibulaire et labyrinthique est stimulé par les mouvements ou par une tumeur locale (métastases osseuses à base du crâne). Il possède des récepteurs de l'histamine, de l'acétylcholine et des opiacés.

Les structures cérébrales corticales et limbiques sont stimulées par des facteurs sensoriels et psychiques (odeurs, visions, émotion, douleur...). Ici, les récepteurs les plus nombreux sont ceux de l'histamine et de l'acétylcholine. Les récepteurs impliqués sont ceux du GABA de l'histamine (H1) de l'acétylcholine.

L'acétylcholine et l'histamine sont les principaux médiateurs des influx activant le **centre du vomissement**, mais les opioïdes et la noradrénaline interviennent aussi dans ce processus.

I-2-2 Principe du traitement :

Le but traitement est de **maîtriser les symptômes** et **d'améliorer la qualité de vie** du patient. Les réponses à **un questionnaire** peuvent servir à orienter sur **l'origine des nausées ou des vomissements**. Des informations sont aussi apportées par **l'examen physique** et une **analyse** sommaire des paramètres biologiques (**Urée, Créatinine, électrolytes, calcium...**). Le choix de l'antiémétique à utiliser devrait être individualisé. Les voies rectales ou sous-cutanées d'administration de ces médicaments conviennent bien aux patients en soins palliatif.

Les médicaments agissant sur le centre du vomissement et sur les noyaux vestibulaires sont essentiellement:

Les antihistaminiques :

En raison de la prédominance des récepteurs histaminiques et muscariniques dans le centre de vomissement et les noyaux vestibulaires, deux classes d'antiémétiques sont particulièrement efficaces : les antihistaminiques et les anticholinergiques. Les antihistaminiques produisent un effet antiémétique en agissant sur le centre du vomissement et le centre vestibulaire. Le **diménhydrinate** (Gravol) est le plus utilisé. C'est un des médicaments étudiés dans ce projet.

Les anticholinergiques :

Les anticholinergiques agissent sur le **centre du vomissement**, le **centre vestibulaire** et exercent une **action périphérique** antispasmodique. L'**atropine** et la **scopolamine** sont les plus utilisées dans cette classe. Par contre, elles ont des effets secondaires indésirables : vision brouillée, palpitations, dysurie, somnolence et peuvent mener à la confusion chez les personnes âgées.

Les médicaments agissant sur la CTZ sont essentiellement:

Les neuroleptiques :

Puisque la CTZ est riche en récepteurs dopaminergiques D(2), il s'agit de les bloquer pour avoir l'effet anti-nauséux. Deux classes thérapeutiques sont impliquées: **Les phénothiazines** et les **butyrophénones**. Dans ce projet, on a étudié **l'halopéridol qui est une butyrophénone**. L'halopéridol est de plus en plus utilisé parce que sa **durée d'action est plus longue** que celle des phénothiazines. De plus, il est **peu sédatif**, entraîne moins de confusion et possède une **faible toxicité cardiaque**. Par contre, il cause des réactions extrapyramidales à des doses supérieures à 5mg par jour.

Les médicaments agissants en périphérie : Les Modulateurs de la Motilité Gastro-Intestinale (MMGI)

Les **MMGI** comprennent deux agents **le métoclopramide** et la dompéridone qui agissent comme **agonistes** sur **les récepteurs 5-HT4** et entraînent une **libération d'acétylcholine**. Ils favorisent ainsi le transit de l'œsophage jusqu'au jéjunum. Le métoclopramide agit en augmentant le péristaltisme au niveau de l'antrum gastrique, du duodénum et du jéjunum et en relaxant le sphincter pylorique. Il a une **activité antagoniste de la dopamine** ce qui lui confère une activité antiémétique dans la CTZ, moindre que celle des neuroleptiques. A dose élevée, il exerce une légère activité antagoniste sur les récepteurs 5-HT4. Il peut entraîner la somnolence dans 80% des cas et des réactions extrapyramidales chez 3% des patients. Les **MMGI** sont des médicaments de première intention lorsque les nausées et les vomissements sont consécutifs à un problème de motilité gastro-intestinale ou une stase ou une distension gastriques. Les antagonistes des récepteurs 5-HT4 comptent parmi les agents les plus efficaces pour traiter les nausées et les vomissements associés à la chimiothérapie.

Les médicaments agissant sur le cortex :

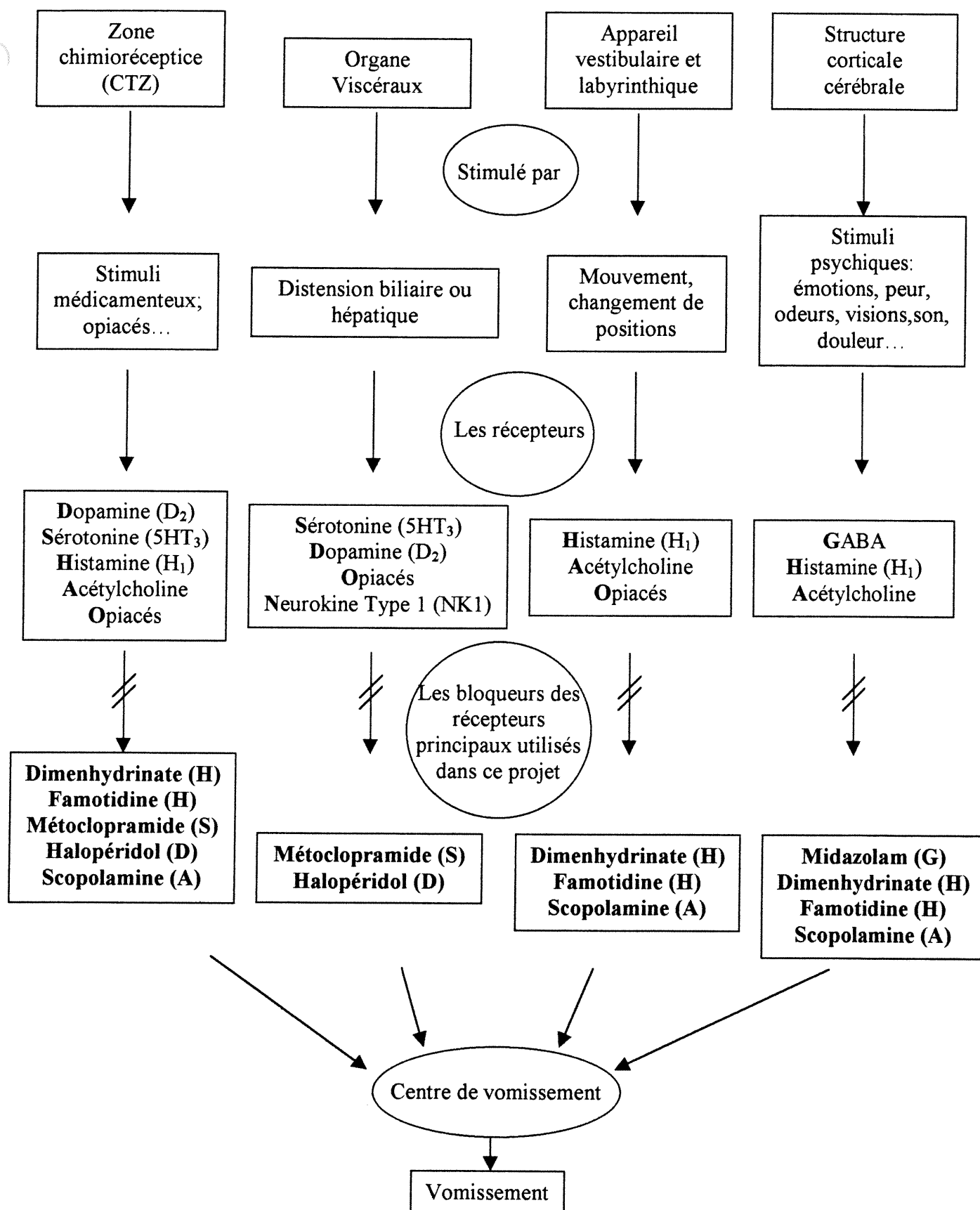
Les benzodiazépines augmentent la liaison du GABA et son activité fonctionnelle, elles se conduisent comme des activateurs allostériques et hétérotropiques du récepteur.

Midazolam:

C'est une benzodiazépine qui fait partie de la classe des médicaments sédatifs-hypnotiques. Le diazépam et le lorazépam font aussi partie de la même famille. Contrairement au midazolam, ces médicaments ne sont pas solubles dans l'eau ce qui nécessite leur administration intraveineuse sous forme de solution non-aqueuse et cela peut causer des irritations locales. L'avantage de l'utilisation du midazolam consiste dans le fait qu'il est soluble dans l'eau. De plus, il est sous forme lipophile au pH physiologique et traverse facilement la barrière hématoencéphalique.

Le midazolam a un effet plus rapide et un temps de demi-vie plus court ($t_{1/2\beta} = 2-4$ heures) et la pente de la relation dose-réponse est plus intense que les autres benzodiazépines utilisées dans l'anesthésie.

La figure (1-2) illustre un schéma des voies de stimulation de nausées et des vomissements, les récepteurs impliqués et les médicaments utilisés pour bloquer ces récepteurs.



I-3 Les médicaments étudiés dans ce projet :

Morphine HP® Injection 10 mg.mL⁻¹

Action :

La morphine est un narcotique qui possède des propriétés analgésiques puissantes en plus d'autres effets majeurs sur le système nerveux central et l'intestin. Elle se fixe sur les sites de liaisons stéréospécifiques et saturables à ses récepteurs au niveau du cerveau et d'autres tissus.

Indications et usage clinique :

Le sulfate de morphine à concentration élevée, utilisé sans dilution, est indiqué uniquement pour soulager les douleurs vives chez les patients qui nécessitent l'administration de narcotiques par la voie sous-cutanée ou intramusculaire. La posologie est ajustée individuellement en fonction du soulagement de la douleur et en prévoyant une dose de secours pour les douleurs transitoires.

Les effets indésirables principaux sont la constipation, la somnolence. De plus, la morphine crée une dépendance. En outre, une dépression respiratoire, de l'hypertension ainsi qu'une profonde sédation ou coma peuvent se produire [12]. La morphine et ses métabolites ont été analysés par LC-MS par plusieurs chercheurs [13, 14]. La figure (1-3) montre la structure chimique de la morphine.

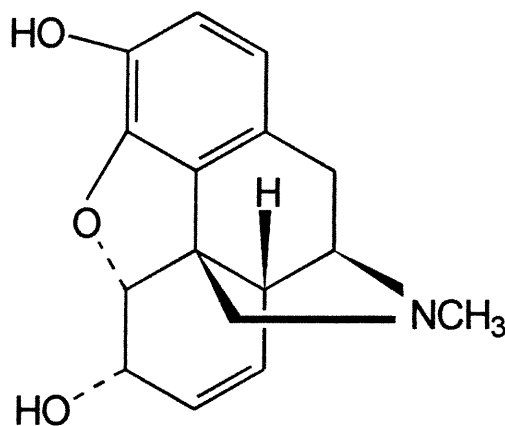


Figure (1-3) La structure chimique de la morphine

Hydromorphone HP® Injection 50 mg.mL⁻¹

Action :

L'hydromorphone est une cétone hydrogénée de la morphine qui fait partie de classe des analgésiques opiacés agonistes. La morphine et l'hydromorphone ont des structures similaires. La différence entre ces deux molécules est la présence de la double liaison à la position 7-8 dans la morphine. Cette double liaison est saturée dans la molécule d'hydromorphone. Pour cette raison l'hydromorphone est plus lipophile que la morphine, ce qui la rend pharmacologiquement plus puissante que la morphine.

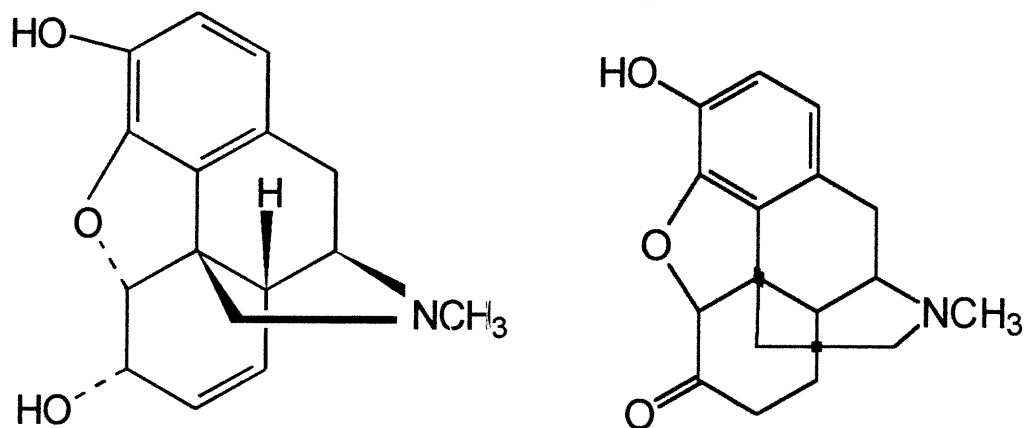
Ces médicaments opiacés se fixent aux récepteurs μ considérés comme étant les intermédiaires responsables de l'analgésie supramédullaire, de la dépression respiratoire, de l'euphorie et de l'assuétude. Elle se fixe aussi sur les récepteurs K, responsables de l'analgésie médullaire, du myosis et de la sédation.

L'hydromorphone est prescrite pour soulager les douleurs intenses. Un effet analgésique de 2mg d'hydromorphone est équivalent à celui de 10 mg de morphine.

Au plan pharmacocinétique, la demi-vie d'élimination de l'hydromorphone est de 2.65 heures et le volume de distribution moyen est de 91.5 L. Ce volume de distribution démontre une grande distribution tissulaire.

L'avantage principal de l'hydromorphone est qu'elle est six fois plus soluble que la morphine en milieu aqueuse et (au moins) quatre fois plus active, ce qui permet de plus petits volumes d'injection ou de perfusion chez les patients qui requièrent une administration parentérale des opioïdes [15]. L'étude de Rapp et al. rapporte les différences existant entre la morphine et l'hydromorphone [16].

La figure (1-4) montre la structure chimique de l'hydromorphone.



Diménhydrinate IM injection 4.0 mg.mL⁻¹ :

Le diménhydrinate est un agent antiémétique. Il est indiqué notamment dans le traitement ou la prophylaxie des nausées et vomissements causés par le mal des rayons ou dus aux médicaments. La somnolence est l'effet secondaire clinique le plus fréquent [17].

La figure (1-5) montre la structure chimique du diménhydrinate.

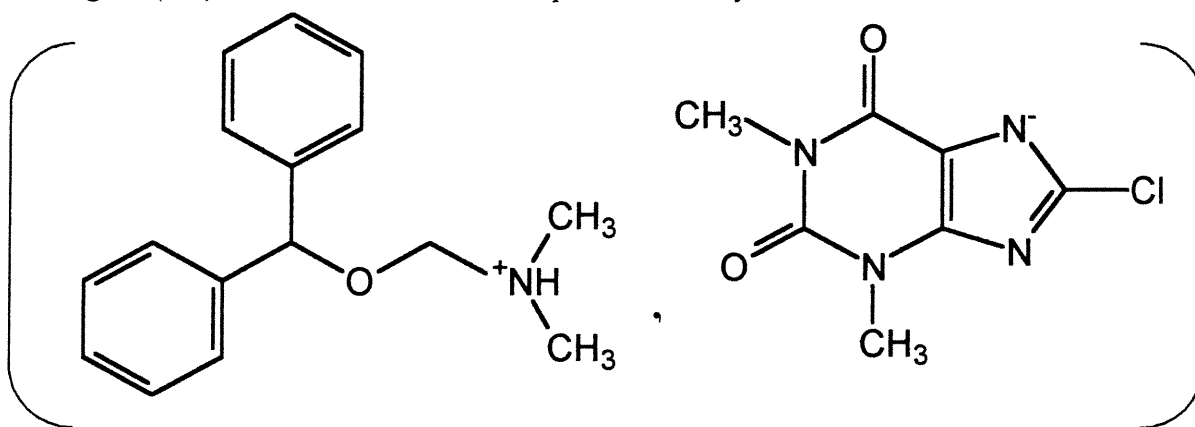


Figure (1-5) La structure chimique du diménhydrinate

Midazolam (Versed®) 5 mg.mL⁻¹:

Le midazolam est une benzodiazépine hydrosoluble sédatrice de courte durée d'action, qui cause des dépressions au niveau du SNC. Il est indiqué pour la sédation à court terme, l'anxiété et l'agitation [18] ou pour induire l'anesthésie [17].

Son administration peut souvent être suivie d'amnésie antérograde. Une surveillance étroite des patients s'impose à cause du risque de dépression respiratoire, accru par la prise conjointe d'agonistes opiacés et autres sédatifs [17]. La dépendance et le sevrage sont courants. Le midazolam est utilisé plutôt que le diazépam car, d'une part il est plus actif, et d'autre part, il est soluble dans l'eau et peut être administré dans les mélanges pour perfusion sous-cutanée en continu [19]. Le midazolam peut être analysé par LC-UV [20] et par LC-Ms-Ms [21].

La figure (1-6) montre la structure chimique du midazolam.

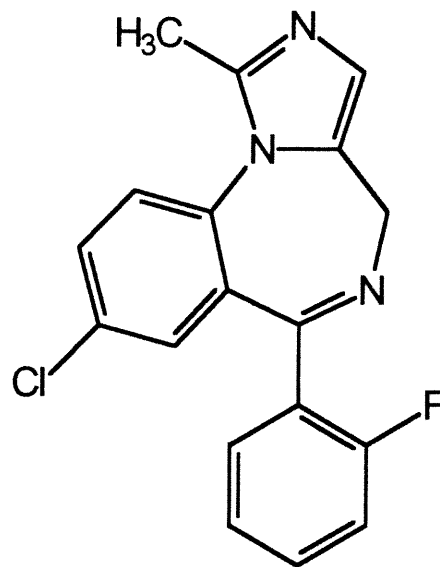
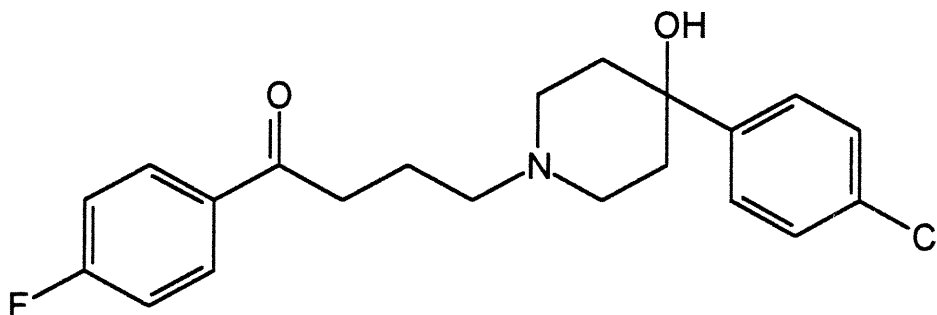


Figure (1-6) La structure chimique du midazolam

Halopéridol Injection 5.0 mg.mL⁻¹ :

L'halopéridol est une butyrophénone antipsychotique. A faible dose, il permet de maintenir une analgésie acceptable tout en contrôlant les effets secondaires neuropsychologiques des opioïdes. Il est indiqué pour l'agitation et le délire, les nausées et les vomissements, et le hoquet. Des effets indésirables anticholinergiques, comme la constipation, peuvent se produire [19]. L'halopéridol cause moins de sédation que les autres antiémétiques et presque pas d'irritation lors de l'injection sous-cutanée [18]. L'effet de l'halopéridol dure de 2 à 4 semaines après l'injection. La figure (1-7) montre la structure chimique de l'halopéridol.



Chlorhydrate de Métoclopramide injection 30 mg.mL⁻¹:

Le métoclopramide stimule la motilité de la partie supérieure du tractus gastro-intestinal sans entraîner d'augmentation des sécrétions gastriques, biliaires ou pancréatiques. Le métoclopramide accélère la vidange gastrique et le transit intestinal et augmente la pression de repos du sphincter inférieur de l'œsophage. Ses propriétés antiémétiques semblent découler de son action antagoniste sur les récepteurs dopaminergiques centraux et périphériques. Il est indiqué dans le traitement d'appoint du ralentissement de la vidange gastrique, ainsi que la prévention des nausées et vomissements associés à une chimiothérapie anticancéreuse. Les effets secondaires les plus courants sont la somnolence, la fatigue et la lassitude. Les effets les plus graves sont le parkinsonisme ou les réactions extrapyramidales.

La demi-vie d'élimination est comprise entre 2 et 3 heures. 20% du médicament sont éliminés dans les urines sous forme inchangée, 30 à 40% sous forme conjugués de sulfate. Le métoclopramide est lié aux protéines plasmatiques dans une proportion (15 à 20) %. Le volume de distribution corporel est élevé (approximativement 3.5 L/Kg) il y a donc une très grande distribution dans les tissus.

La figure (1-8) montre la structure chimique du métoclopramide.

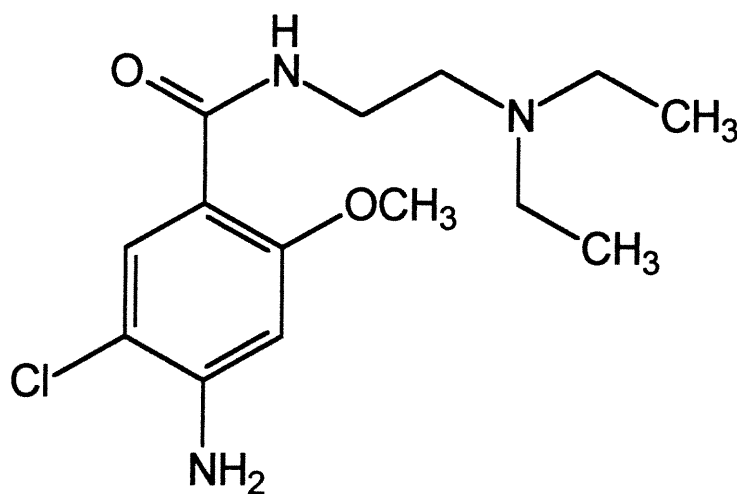


Figure (1-8) La structure chimique du métoclopramide

Famotidine (Pepcid® IV) 10 mg.mL⁻¹ :

La famotidine est un inhibiteur compétitif de l'histamine au niveau **des récepteurs H₂** qui a pour activité pharmacologique principale d'inhiber la sécrétion de suc gastrique. Elle est donnée conjointement avec les AINS ou les AIS pour réduire leur toxicité gastro-intestinale. La famotidine est généralement bien tolérée [17].

La famotidine est indiquée pour le traitement des affections suivantes dans lesquelles une réduction soutenue de la sécrétion gastrique est nécessaire, à savoir :

- Le traitement de l'ulcère duodéal aigu;
- La prévention de l'ulcère duodéal;
- Le traitement de l'ulcère gastrique aigu de caractère bénin;
- Le traitement de maladies liées à une hypersécrétion gastrique tel le syndrome de Zollinger-Ellison;
- Le traitement du reflux gastro-oesophagien;
- La prévention des récives chez les patients atteints de reflux gastro-oesophagien.

La famotidine en I.V. est indiquée pour le traitement de certains patients hospitalisés atteints des maladies liées à une hypersécrétion gastrique, d'ulcères réfractaires, ou encore en remplacement d'une forme posologique orale dans un traitement à court terme chez les patients qui ne peuvent prendre un médicament par voie orale.

Des doses allant jusqu'à 800 mg/jour ont été administrées à des patients souffrant de maladies liées à une hypersécrétion sans entraîner de réactions défavorables.

La demi-vie du médicament se situe entre 2.5 et 4 heures. Il faut ajuster la posologie chez les patients atteints d'une insuffisance rénale grave et dont la clairance de la créatinine est inférieure à 10 mL.min⁻¹, car la demi-vie de la famotidine est plus longue chez ces patients.

Selon les études faites par la compagnie Merck, la famotidine n'apporte aucune modification au niveau des enzymes Cyt P450. La figure (1-9) montre la structure chimique de la famotidine.

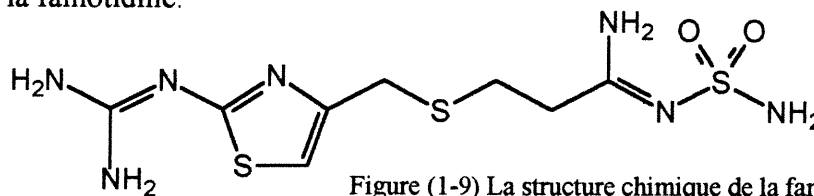


Figure (1-9) La structure chimique de la famotidine

Dexaméthasone :

La dexaméthasone est un glucocorticoïde de longue durée d'action. A une dose orale de 0.75 mg, la dexaméthasone possède une activité anti-inflammatoire (30 fois plus puissante que celle de l'hydrocortisone) et une activité topique (30 fois plus puissante que celle de l'hydrocortisone). Outre ses effets anti-inflammatoires sept fois plus puissants que ceux de la prednisolone, la dexaméthasone possède notamment un effet cytolytique dans plusieurs lymphomes, myélomes et cancers du poumon. Ses indications sont les syndromes douloureux, diverses complications et urgences oncologiques, le syndrome d'anorexie-cachexie en tant qu'antiémétique, et l'obstruction intestinale imminente. Elle permet d'améliorer d'autres symptômes, comme l'appétit, l'humeur ou l'énergie [19]. De plus, l'ajout de corticostéroïdes est utile pour le traitement et la prévention de l'irritation, cutanée locale apparaissant occasionnellement au niveau des sites d'injection sous-cutanée [18]. Les effets secondaires à surveiller sont les myopathies proximales, les œdèmes des chevilles, l'hypokaliémie, les candidoses orales, les changements d'humeur, l'hypercalcémie et les ulcères peptiques [19].

La figure (1-10) montre la structure chimique de la dexaméthasone.

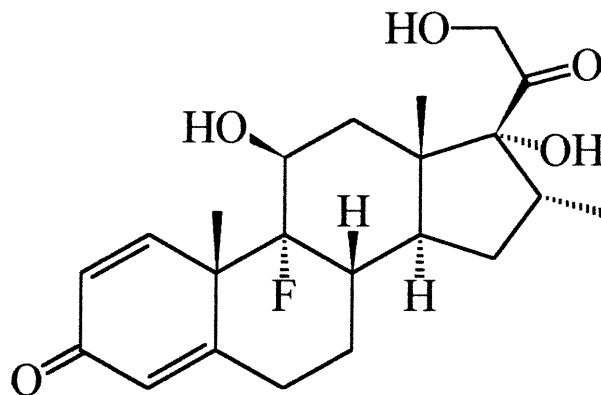


Figure (1-10) La structure chimique de la dexaméthasone

Octréotide (Sandostatin®) :

Il s'agit d'un analogue de la somatostatine, qui est un octapeptide d'action longue inhibant la sécrétion de nombreuses hormones et réduisant les sécrétions intestinales. Ses indications sont les vomissements et la douleur liés à certaines maladies gastro-intestinales. Sa demi-vie très courte nécessite de l'administrer par voie intraveineuse ou sous-cutanée. C'est un médicament sans danger, bien toléré mais onéreux. Il est donc réservé aux patients non soulagés par des molécules moins chères.

La figure (1-11) montre la structure chimique de l'octréotide.

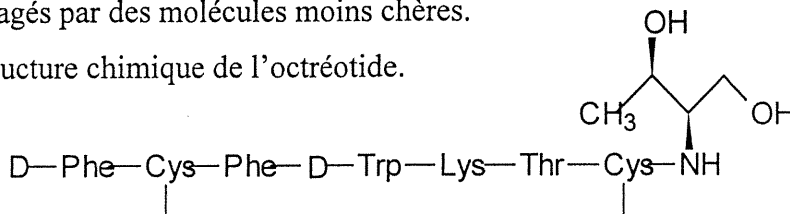


Figure (1-11) La structure chimique de l'octréotide

Kétorolac trométhamine (Toradol®) 30 mg.mL⁻¹:

Le kétorolac est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) doté d'une activité analgésique. Le kétorolac inhibe la synthèse des prostaglandines par inhibition du système enzymatique de la cyclo-oxygénase. Aux doses analgésiques, il exerce peu d'effets anti-inflammatoires et antipyrétiques. L'effet maximal du kétorolac est senti 2 à 3 heures après son administration. La demi-vie plasmatique terminale varie entre 2.4 à 9 heures chez les adultes en bonne santé et chez les personnes âgées de 72 ans la demi-vie plasmatique terminale varie entre 4.3 et 7.6 heures. 91.4% environ du kétorolac et de ces métabolites (conjugués et p-hydroxy) sont éliminés dans l'urine et le 6.1% restant est éliminé dans les fèces. La liaison du kétorolac aux protéines du plasma est d'ordre de 99%. Il est indiqué pour les traitements à courte durée ne dépassant pas les 2 jours par la voie intramusculaire. La durée totale du traitement (oral et intramusculaire) ne doit pas dépasser les 5 jours.

En outre, le kétorolac est indiqué pour la douleur aiguë modérée ou intense y compris la douleur consécutive aux grandes interventions chirurgicales abdominales, orthopédiques et gynécologiques. La figure (1-12) montre la structure chimique du kétorolac.

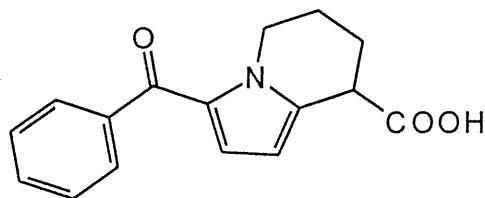


Figure (1-12) La structure chimique du kétorolac

Bromhydrate de scopolamine Injection 0.4 mg.mL⁻¹:

La scopolamine est un alcaloïde de la belladone. Le bromhydrate de la scopolamine est un sel trihydraté. Elle est utilisée pour son effet anticholinergique.

La scopolamine est un agent antimuscarinique antagonisme compétitif de l'acétylcholine. Ses propriétés anticholinergiques sont plus puissantes que celles que l'atropine et elle exerce sur l'iris, le corps ciliaire et certaines glandes sécrétoires (salivaires, bronchiques, et sudoripares). La scopolamine a aussi une action moins puissante sur les muscles cardiaques, intestinaux, et bronchiques et sa durée d'action est moins longue que celle de l'atropine.

Utilisée seule, la scopolamine n'est pas un agent prophylactique efficace contre les nausées et les vomissements provoqués par la chimiothérapie.

La scopolamine est indiquée pour prévenir les nausées et les vomissements associés aux mal des transports chez les adultes (application percutanée). Elle est également utilisée comme appoint thérapeutique à l'anesthésie pour produire une sédation.

La scopolamine devrait être administrée avec prudence lorsqu'elle est employée avec les autres anticholinergiques, les antihistaminiques, les antidépresseurs, les phénothiazines, l'amantadine et la quinidine. La figure (1-13) montre la structure chimique de la scopolamine.

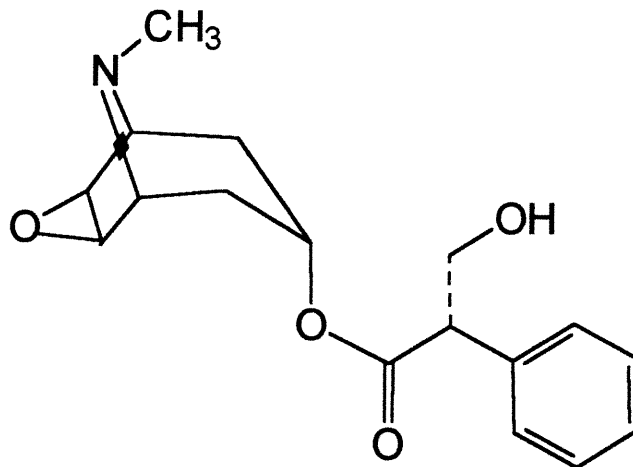


Figure (1-13) La structure chimique de la scopolamine

I-4 Énoncé du problème

Beaucoup de **patients** atteints de cancer(s) souffrent de **la douleur** ou bien à cause d'autres problèmes dus au progrès de leur maladie ou bien à cause du traitement. La douleur conduit à la diminution de **la qualité de vie** des patients.

Pour soulager ces patients on doit leur donner des médicaments appartenant à diverses classes pharmacologiques: analgésiques, antiémétiques, stéroïdes, anti-inflammatoires, antidépresseurs, antihistaminiques...

En outre, 30% des patients en phase terminale présentent des épisodes de vomissements et 60% sont incommodés par des nausées [22]. Ces nausées et vomissements peuvent conduire à la déshydratation, la dénutrition, des perturbations métaboliques (tel que l'alcalose métabolique, l'hyponatrémie, l'hypochlorémie et l'hypokaliémie). De plus les nausées et vomissements empêchent les patients de prendre leurs médicaments par voie orale [23].

Il s'avère que la perfusion sous-cutanée est une solution aux problèmes de l'administration des médicaments pour ce genre de patients.

Malheureusement, les patients atteints de cancer et qui sont en phase terminale ont souvent besoin de l'association de plusieurs médicament pour leur thérapie. En mélangeant les médicaments, on évite les perfusions multiples.

Par contre, certains mélanges de médicaments sont incompatibles à cause des interactions chimiques et physico-chimiques qui peuvent se produire entre les médicaments et conduire à la formation immédiate de précipités insolubles [18].

D'autres mélanges sont instables après un certain temps de conservation [18].

Donc, il faut évaluer la stabilité et la compatibilité des mélanges utilisés pour toute la durée de leur utilisation. Plusieurs études ont proposé que la combinaison des médicaments puisse être plus efficace que la monothérapie [24].

La stabilité des médicaments seuls a été rapportée par plusieurs auteurs [25-34].

La plupart des études de stabilité / compatibilité a été réalisée sur les mélanges binaires [18, 35-43]. Par contre, peu d'études ont été conduites pour tester la stabilité et la compatibilité des mélanges médicamenteux contenant plus de deux médicaments [38, 44].

Des méthodes HPLC ont été validées pour doser les médicaments étudiés dans ce projet [18, 25, 27, 29, 32, 35-38, 40-48]. Pourtant, il n'y a pas de méthode disponible permettant la séparation simultanée et la quantification des constituants des mélanges M1, M2, M3, M4 et M5 (morphine, dexaméthasone, halopéridol, midazolam, famotidine, métoclopramide, diménhydrinate) et des conservateurs présents dans les préparations pharmaceutiques. A. Vermeire et al. ont bien développé des méthodes pour séparer les mélanges binaires contenant de la morphine: morphine-midazolam, morphine-halopéridol et leur produits de dégradation [18] mais leurs méthodes ne permettent pas la séparation simultanée de tous les médicaments impliqués dans cette étude. Dans leur travail, une méthode de séparation différente a été utilisée pour chacun des mélanges.

De plus, il n'y a aucune méthode publiée qui permet la séparation les constituants des mélanges contenant l'hydromorphone : MH1 ou MH2 ou MH3 ou MH4 ou MH5.

I-4-1 Question de recherche :

Est-il possible de conserver pendant 96 heures à la température ordinaire 25°C ou dans le réfrigérateur à 4°C des mélanges thérapeutiques utilisés en soins intensifs et contenant des agents pharmacologiques de différentes classes (analgésiques, antiémétiques, stéroïdes, anti-inflammatoires, antidépresseurs...) afin d'en faciliter l'administration à la fois pour le thérapeute et pour le patient ?

I-4-2 Objectifs

Les objectifs généraux de cette étude ont été répartis sur deux phases d'étude:

- **Phase I : Étude de mélanges thérapeutiques à base de Morphine**

- **Objectifs :**

- Évaluer la **compatibilité et la stabilité** de mélanges thérapeutiques contenant de la morphine associée avec différents médicaments utilisés pour les soins palliatifs dans une seringue de polypropylène dans différentes conditions de conservation et en fonction du temps (durant une période de 96 heures).
- Faire les **recommandations** nécessaires sur les meilleures conditions de conservation pour assurer la stabilité et la compatibilité de la morphine mélangée avec différents médicaments utilisés pour les soins palliatifs.
- **Développer et valider une méthode analytique** permettant la séparation et la quantification de la morphine, du diménhydrinate, du midazolam, de l'halopéridol, du métoclopramide, de la famotidine, de la dexaméthasone et de leurs produits de conservations. Autrement dit, de séparer et quantifier les médicaments présents dans les mélanges suivants :
 - M1 : Morphine, dexaméthasone, octréotide.
 - M2 : Morphine, dexaméthasone, halopéridol.
 - M3 : Morphine, octréotide, halopéridol, midazolam, famotidine.

- M4 : Morphine, halopéridol, famotidine, métoclopramide.
- M5 : Morphine, octréotide, halopéridol, famotidine, métoclopramide, diménhydrinate.

La méthode utilisée pour atteindre ces objectifs a consisté à préparer différents mélanges médicamenteux contenant de la morphine, à les conserver dans des seringues en polypropylène sous différentes conditions de température (4, 25 et -20°C) à l'abri de la lumière et à doser les constituants en fonction du temps à l'aide d'une méthode de chromatographie liquide (HPLC-DAD dûment mise au point et validée. (L'octréotide n'a pas été analysé.)

Phase II : Étude des mélanges thérapeutiques à base d'Hydromorphone

Objectifs :

- Évaluer la **compatibilité et la stabilité** de mélanges thérapeutiques contenant de l'hydromorphone associée avec différents médicaments utilisés pour les soins palliatifs dans une seringue de polypropylène dans différentes conditions de conservation et en fonction du temps (durant une période de 96 heures).
- Faire les **recommandations** nécessaires sur les meilleures conditions de conservation pour assurer la stabilité et la compatibilité de l'hydromorphone mélangée avec différents médicaments utilisés pour les soins palliatifs.
- **Développer et valider des méthodes analytiques** permettant la séparation et la quantification des constituants des mélanges contenant de l'hydromorphone :
 - MH1: Hydromorphone, midazolam, famotidine.
 - MH2: Hydromorphone, métoclopramide, halopéridol.
 - MH3: Hydromorphone, kétorolac, métoclopramide, famotidine.
 - MH4: Hydromorphone, diménhydrinate, halopéridol, famotidine, scopolamine.

La méthode utilisée pour atteindre ces objectifs a consisté à préparer différents mélanges médicamenteux contenant de l'hydromorphone, à les conserver dans des seringues en polypropylène sous différentes conditions de température (4, 25 et -20°C) à l'abri de la lumière et à doser les constituants en fonction du temps à l'aide d'une méthode de chromatographie liquide (HPLC-DAD). (La scopolamine n'était pas à analyser.)

CHAPITRE II
ÉTAT DE LA QUESTION

CHAPITRE II : ÉTAT DE LA QUESTION

Les fichiers des manufacturiers montrent que la dexaméthasone, l'halopéridol, le kétorolac, le chlorhydrate d'hydromorphone, le chlorhydrate de métochloramide sont conservés entre 15 et 30 C° à l'abri de la lumière, l'acétate de sandostatine et la solution de famotidine (Precid® I.V. injection) sont conservées entre 2 et 8 C° à l'abri de la lumière. Diménhydrinate, sulfate de morphine et midazolam sont conservés entre 15 et 30 C°, aucune spécification n'était mentionnée quant à la protection de la lumière. Ces produits ont donc été conservés à l'abri de la lumière par précaution. En ce qui concerne le bromhydrate de scopolamine la conservation doit se faire à l'abri de la lumière mais aucune spécification sur la température n'est rapportée.

II-1 La stabilité des médicaments seuls :

La stabilité des médicaments seuls a été rapportée par plusieurs auteurs [25, 27-34, 43, 47, 49].

II-1-1 Morphine :

La stabilité de la morphine sans agent de conservation a été étudiée et comparée à la stabilité de la morphine lorsqu'on y ajoute un agent de conservation comme le métabisulfite en présence de la lumière. Il a été montré que pour la morphine aux concentrations de 2.50 et 5.00 mg.mL⁻¹, sans conservateur, il se formait respectivement 0.205% et 2.035% de pseudomorphine après 6 jours de conservation à lumière et il qu'y avait formation de 1.50% et 0.94% respectivement de pseudomorphine après 30 jours de conservation dans les mêmes conditions. La meilleure stabilité a été obtenue lorsque la solution contenait du métabisulfite [25].

La stabilité du sulfate de morphine à (1.0 et 5.0 mg.mL⁻¹) a été étudiée dans des seringues en plastique pendant 12 semaines avec et sans l'influence de la lumière, de la température (-20, 4 et 23°C), et de l'agent diluant (5% dextrose ou un sérum physiologique de chlorure de sodium). La morphine, ayant été exposée à la lumière et à

l'oxygène, se dégrade selon une cinétique de premier ordre pour donner la pseudomorphine et la morphine N-oxide dans un rapport (9 :1). De plus la morphine forme des produits mineurs comme l'apomorphine. Il a été démontré aussi que la morphine est plus stable dans une solution saline que dans une solution contenant 5% de dextrose. Il a aussi été montré que la morphine était stable au moins pendant 6 semaines lorsqu'elle était protégée de la lumière [28].

La réaction de dimerisation de la morphine pour former la pseudomorphine est favorisée en milieu basique et elle dépend de la présence d'oxygène[27-29]. La stabilité de la morphine a été étudiée à haute concentration 40mg.mL^{-1} (des concentrations proches de la limite de solubilité dans l'eau) et l'influence de l'oxygène et du chauffage a été étudiée [29]. La stabilité du sulfate de morphine a été étudiée dans une solution saline pendant 61 jours à 32°C dans un lieu dont l'humidité était comprise entre 36% et 38%. La morphine était stable dans ces conditions pendant au moins 16 jours [27].

II-1-2 Diménhydrinate

Dans la littérature, il n'y a pas de publications traitant de la stabilité du dimenhydrinate.

II-1-3 Midazolam

La stabilité du midazolam.HCl (2 mg.mL^{-1}) en solution dans le chlorure de sodium à 0.9% a été examinée dans des seringues de polypropylènes de 3mL. La solution était stable pendant 10 jours à 30°C et 5°C avec une perte inférieure à 6% de la quantité initiale de midazolam [30].

II-1-4 Halopéridol

La stabilité de l'halopéridol (0.1mg.mL^{-1}) à 22°C a été étudiée dans une solution de 5% dextrose. L'halopéridol était stable au moins 38 jours dans ces conditions [31].

II-1-5 Métoclopramide

La stabilité du métoclopramide a été examinée dans les seringues en polypropylène de 3 mL et à différentes températures 32 , 23 , 4 et -20°C . Le métoclopramide.HCl à 5mg.mL^{-1} était stable jusqu'à 90 jours à 4°C , 60 jours à 23°C et 7 jours à 32°C . La solution

congelée à -20°C a produit une précipitation inacceptable, invisible à l'œil nu, mais accessible par mesure turbidimétrique. [32]

II-1-6 Famotidine

La dégradation de la famotidine a été étudiée par LC-APCI-MS [33]. La stabilité de la famotidine congelée [34], dans une solution nutritive parentérale à 0.020 et 0.040 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ [49] a été aussi étudiée. De plus, la stabilité de la famotidine 200 à $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ a été déterminée pour une période de 15 jours dans des solutions de dextrose 5% et de chlorure de sodium 0.9%, dans les mini sacs de chlorure de polyvinyle et des seringues de polypropylène, à la température de la pièce, protégés et non protégés de la lumière. Les solutions étaient stables pendant la période de l'étude qui était de 15 jours [43].

II-1-7 Dexaméthasone

La stabilité de la dexaméthasone ($1.00\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) dans une solution saline à 0.9% a été évaluée durant une période de 28 jours à 4°C et 22°C . La solution était stable pendant 28 jours [47].

II-1-8 Hydromorphone

L'hydromorphone.HCl (0.10 et $10.00\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) dans une solution de 0.9% de chlorure de sodium est restée stable pendant 30 jours à 30°C avec une perte inférieure à 1% de sa quantité initiale [30].

II-1-9 Kétorolac

Le kétorolac trométhamine 5% est stable pendant trois mois dans sa formulation nasale contenant 0.3% de glycolate de sodium [50]. De plus, le kétorolac trométhamine $0.6\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ injectable est stable dans une solution 0.9% pendant au moins 48 heures [52].

II-1-10 Octréotide

La stabilité de l'octréotide en solution a été étudiée. La dégradation de l'octréotide (sandostatine) suit une cinétique d'ordre un. Une bonne stabilité a été montrée dans un

tampon glutamate et phosphate à pH 4.0. L'octréotide est stable pendant 84.1 jours à 20 degrés dans un tampon d'acétate (0.01M, pH4.0) [26].

II-2 Stabilité de combinaisons binaires et de mélanges contenant plus que deux ingrédients actifs impliquant les produits étudiés :

La plus part des études a été réalisée sur les mélanges binaires [18, 35-43].

La stabilité des mélanges binaires contenant de la morphine mélangée avec l'halopéridol, le midazolam, ou la dexaméthasone a été étudiée. Le chlorhydrate de morphine (50mg.mL^{-1}) a été mélangé à l'Haldol® (5mg.mL^{-1}) ou au Decadron® (5mg.mL^{-1}) dans les proportions 5/10, 1/10 (v/v) respectivement. Dans ces conditions les mélanges étaient compatibles. La stabilité et la compatibilité d'autres combinaisons impliquant les mêmes médicaments mais à différentes concentrations ont aussi été étudiées [18].

La compatibilité de mélanges binaires constitués de sulfate de morphine mélangé avec le midazolam ou l'halopéridol a été étudié [39]. La compatibilité des mélanges binaires contenant la famotidine mélangée avec différents autres médicaments a été testée [43]. La famotidine (2.0 mg.mL^{-1}) était compatible avec beaucoup de médicaments qui sont impliqués dans notre recherche:

[hydromorphone (0.5 mg.mL^{-1}), morphine (1.0 mg.mL^{-1}), dexaméthasone (1.0 mg.mL^{-1}), halopéridol (0.2 mg.mL^{-1}), métoclopramide (5.0 mg.mL^{-1}) et midazolam (1.5 mg.mL^{-1})].

Par contre, peu d'études ont été mises en place pour étudier la stabilité et la compatibilité des mélanges médicamenteux contenant plus de deux médicaments [38, 44]. La comptabilité et la stabilité des mélanges tertiaires contenant la morphine mélangée avec (halopéridol ou midazolam) et (dexaméthasone ou méthylprednisolone) ont été étudiées [44]. Le mélange (morphine, halopéridol, dexaméthasone) était incompatible. Le mélange a été compatible à des concentrations situées au-dessous des concentrations thérapeutiques. **En conclusion, la stabilité et la compatibilité des**

mélanges médicamenteux aux doses journalière maximales, objectif de notre projet n'ont pas été étudiées auparavant.

II-3 Méthodes de dosage

L'examen de la littérature montre qu'il n'y a pas de méthode disponible permettant la séparation simultanée de la morphine, la dexaméthasone, l'halopéridol, le midazolam, la famotidine, le métoprolol, le diméhydrinate et des conservateurs présents dans leurs préparations pharmaceutiques.

La seule référence faisant état d'une étude semblable à la nôtre est celle de A. Vermeire et al . [18]

Ces auteurs ont développé une méthode pour séparer les mélanges binaires contenant de la morphine: morphine-midazolam, morphine-halopéridol et leur produits de dégradation. Par contre leur méthode ne permet pas la séparation simultanée de tous les médicaments impliqués dans la présente étude, en effet, dans leur travail, une méthode de séparation différente a dû être utilisée pour chacun des mélanges.

De plus, il n'y a aucune méthode publiée qui permette la séparation les constituants des mélanges MH1 ou MH2 ou MH3 ou MH4 ou MH5.

CHAPITRE III
MÉTHODOLOGIE D'ANALYSE

CHAPITRE III : MÉTHODOLOGIE D'ANALYSE

La méthodologie générale mise en œuvre pour conduire le projet comporte les étapes suivantes :

- ◆ Préparation des solutions thérapeutiques et mise aux conditions requises de conservation
- ◆ Mise au point et validation des méthodes de dosage des constituants des mélanges thérapeutiques par HPLC-DAD
- ◆ Étude de compatibilité
- ◆ Étude de stabilité par dosage de tous les constituants des mélanges sur une période de 96 heures

III-1 - Principe et impératifs

Étant donné que les mélanges étudiés sont destinés à être utilisés dans le service de soins palliatifs, **le protocole de la préparation des mélanges étudiés et le matériel sont les mêmes que lors de leur utilisation normale en clinique.** Les mélanges sont donc conservés dans des seringues de polypropylène à différentes températures (25°C et 4°C et -20 °C) durant 96 heures. Tout de suite après le mélange (au temps $t=0$) et aux temps (4,8,12,24,48,72, 96 heures) la compatibilité et la stabilité sont examinées.

Les mélanges étudiés contiennent la **dose journalière maximale de chaque médicament.** La méthode de séparation doit donc être capable de séparer les médicaments entre eux et aussi de les séparer des conservateurs utilisés dans leurs préparations pharmaceutiques: créatinine, alcool benzylique, méthylparabène, propylparabène. De plus, la méthode doit être assez rapide pour permettre l'analyse de nombreux échantillons dans un temps limité (20 échantillons en 4 heures). Finalement, la méthode analytique doit être reproductible, précise et robuste pour que les résultats soient fiables dans le domaine de concentrations étudiées.

Cas particulier de l'étude de stabilité des solutions médicamenteuses congelées. Pour l'étude de conservation des solutions congelées, celles-ci ont été préparées comme pour les études de stabilité aux deux autres températures (25°C et 4°C). Si l'on avait voulu étudier la stabilité des solutions congelées à tous les temps (0, 4, 8, 12, 24, 36, 72, 96 heures) comme pour les solutions conservées à 4°C et à 25°C, il aurait fallu préparer en 5 exemplaires autant de seringues que de temps de mesure pour chacun des échantillons, et les décongeler juste avant de les analyser. Cette façon de faire aurait été très coûteuse en

médicament. Aussi, avons nous préféré congeler les solutions médicamenteuses à -20°C et les analyser au temps zéro (avant congélation) et en point final après un intervalle de conservation plus long. Les solutions (M1 à M5) et (MH1 à MH4) ont donc été préparées, elles ont été analysées au temps (0) au moment de la préparation et congelées à -20°C jusqu'au moment de l'analyse. Avant l'analyse les seringues ont été dégelées à la température ordinaire sous agitation. L'échantillon analytique a été préparé dans les mêmes conditions que pour les essais à 4°C et 25°C , la théophylline a été utilisée comme standard interne. Les mesures ont été réalisées en duplicata.

III-2- Combinaisons des solutions médicamenteuses étudiées

Les mélanges médicamenteux contenant la morphine sont les suivant :

- M1 : Morphine 10.00 mg.mL^{-1} , dexaméthasone 0.40 mg.mL^{-1} , octréotide 0.01 mg.mL^{-1} .
- M2 : Morphine 10.00 mg.mL^{-1} , halopéridol 0.50 mg.mL^{-1} , dexaméthasone 0.40 mg.mL^{-1} .
- M3 : Morphine 10.00 mg.mL^{-1} , halopéridol 0.50 mg.mL^{-1} , midazolam 1.00 mg.mL^{-1} , famotidine 0.40 mg.mL^{-1} , octréotide 0.01 mg.mL^{-1} , .
- M4 : Morphine 10.00 mg.mL^{-1} , halopéridol 0.50 mg.mL^{-1} , métoclopramide 0.50 mg.mL^{-1} , famotidine 0.40 mg.mL^{-1} .
- M5 : Morphine 10.00 mg.mL^{-1} , halopéridol 0.50 mg.mL^{-1} , métoclopramide 0.50 mg.mL^{-1} , diménhydrinate 5.00 mg.mL^{-1} , famotidine 0.40 mg.mL^{-1} , octréotide 0.01 mg.mL^{-1} .

Les mélanges médicamenteux contenant de l'hydromorphone sont les suivant :

- MH1 : Hydromorphone 10.00 mg.mL^{-1} , midazolam 1.00 mg.mL^{-1} , famotidine 0.40 mg.mL^{-1}
- MH2 : Hydromorphone 10.00 mg.mL^{-1} , métoclopramide 0.50 mg.mL^{-1} , halopéridol 0.50 mg.mL^{-1}

- MH3 : Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, kétorolac 1.50 mg.mL⁻¹, métoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹, famotidine 0.40 mg.mL⁻¹;
- MH4 : Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, dimenhhydrinate 5.00 mg.mL⁻¹, halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹, famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, scopolamine 0.04 mg.mL⁻¹.

III – 3- Méthodologie d'analyse

La compatibilité et la stabilité des solutions ont été vérifiées au temps $t = 0$ (au moment du mélange) et aux temps $t = 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96$ heures.

III-3- 1 Compatibilité :

La compatibilité a été vérifiée en observant les seringues à l'aide d'une loupe, sur un fond blanc puis noir, pour mettre en évidence une éventuelle formation de précipité ou de cristaux. La production de gaz et les changements de couleur éventuels étaient aussi observés.

III -3-2 Stabilité :

III-3-2-1 Choix de technique d'analyse

Le choix de la technique d'analyse est basé sur plusieurs facteurs :

- La faisabilité de la technique qui tient compte des caractéristiques physico-chimiques des substances analysées.
- Les équipements disponibles.

Le choix de la méthode de séparation des constituants des mélanges thérapeutiques pouvait se faire entre la chromatographie en phase gazeuse et la chromatographie liquide. Le défaut de la chromatographie en phase gazeuse (GC) réside dans le fait qu'elle ne permet pas d'analyser les produits dont la température d'ébullition est élevée ou qui se dégradent à haute température. Ces conditions limitent l'usage de la chromatographie en phase gazeuse pour analyser les molécules prises en compte dans ce projet.

La chromatographie liquide est une méthode facile à opérer qui permet maintenant de séparer de très nombreuses molécules dont les propriétés physico-chimiques présentent des différences notables. Le grand choix des phases stationnaires disponibles et les grandes possibilités de choix de phases mobiles et les bonnes performances analytiques

en font de la chromatographie liquide un outil de choix pour mener à bien ces études de stabilité. Nous avons donc opté pour une technique d'analyse par chromatographie liquide.

III-3-2-2 Choix du détecteur

Une des faiblesses de la chromatographie liquide est attribuée au manque de sensibilité des détecteurs usuels. En effet, les détecteurs équipant les systèmes de HPLC utilisés pour les analyses sont basés sur l'absorption UV/visible, l'électrochimie, la fluorescence ou la spectrométrie de masse. Les détecteurs UV/visible sont très populaires car ils sont presque universels et leur sensibilité est suffisante pour résoudre la plupart des problèmes d'analyse. Les détecteurs photométriques peuvent être des systèmes mono-longueur d'onde ou des systèmes à barrette de photodiodes (Diode Array Detector : DAD). Dans ce projet nous avons utilisé un détecteur DAD. L'avantage de celui-ci est de pouvoir enregistrer simultanément l'absorbance à toutes les longueurs d'ondes et de générer des chromatogrammes à trois dimensions dans lesquels l'axe des X représente le temps, l'axe des Y est l'intensité du signal et celui des Z représente la longueur d'onde. En fait un spectre UV/visible complet est enregistré et mis en mémoire à chaque mesure. Ce dispositif permet :

- ◆ De **choisir convenablement les longueurs d'ondes** optimales de détection de chacun des constituants des mélanges séparés.
- ◆ De **caractériser chaque composé** constituant un pic chromatographique par son spectre d'absorption comparé au spectre d'un produit de référence ou à un spectre enregistré dans une librairie de spectres.
- ◆ De pratiquer des tests de pureté de pic chromatographique et ainsi de **s'assurer qu'il y a un produit par pic**. Aussi, pour minimiser l'interférence de l'impureté, on peut choisir une longueur d'onde d'analyse à laquelle l'impureté n'absorbe presque pas mais à laquelle le produit cible absorbe à son maximum.

Contrairement à la détection par le DAD qui permet l'analyse simultanée à toutes les longueurs d'onde, la détection UV/visible mono – longueur d'onde traditionnelle permet

l'analyse à une seule longueur d'onde à la fois [51] et donc, n'offre pas la possibilité de faire une analyse de pureté avec une seule injection.

III-3-2-3 Médicaments standards (référence)

Les médicaments ont été fournis par le département de pharmaceutique de l'Hôpital Royal Victoria. Ce sont :

- ❖ Sulfate de **morphine** - 50 mg.mL⁻¹ (Morphine HP® Injection, Sabex).
- ❖ **Halopéridol** - 5.0 mg.mL⁻¹ (Halopéridol Injection USP, Sabex).
- ❖ Phosphate du **dexaméthasone** - 4.0 mg.mL⁻¹ (Dexaméthasone sodium phosphate injection USP, Sabex).
- ❖ **Dimenhydrinate** - 50 mg.mL⁻¹ (Dimenhydrinate IM injection USP, Sabex).
- ❖ **Famotidine** - 10 mg.mL⁻¹ (Pepcid®IV, Merck).
- ❖ **Midazolam** - 5 mg.mL⁻¹ (Versed®, Roche).
- ❖ Chlorhydrate de **métoclopramide** - 30 mg.mL⁻¹ (Chlorhydrate de Métoclopramide injection, Sabex).
- ❖ **Acétate d'octréotide** - 100 µg.mL⁻¹ (Sandostatin®, Novartis).
- ❖ **Kétorolac** trométhamine - 30 mg.mL⁻¹ (Toradol®, Roche).
- ❖ Bromhydrate de **scopolamine** - 0.4 mg.mL⁻¹ (Bromhydrate de Scopolamine injection, About).
- ❖ Chlorhydrate d'**hydromorphone** - 50 mg.mL⁻¹ (Dihydromorphone Dilaudid-XP® Injection, Infu-Pac).

Le tableau (III-1) présente les caractéristiques des préparations pharmaceutiques utilisées dans cette étude : DCI, nom du commerce, volume, fabricant et conservateurs.

DCI	Nom de spécialité	Dosage mg/mL	Volume mL	Labo	Conservateurs et adjuvants pour 1 mL
Sulfate de morphine	Morphine HP® Injection	50	1	Sabex	- chlorure de sodium - ac. Sulfurique
Halopéridol	Halopéridol Injection USP	5	1	Sabex	- ac. Lactique
Dexaméthasone phosphate	Dexaméthasone sodium phosphate injection USP	4	5	Sabex	- créatinine 8 mg - citrate de sodium 9.9 mg - méthylparabène 0.15% - propylparabène 0.02% - métabisulfite de sodium 0.1% - hydroxyde de sodium
Dimenhydrinate	Dimenhydrinate IM injection USP	50	5	Sabex	- propylène glycol 50% - alcool benzylique 5% - eau pour injection
Famotidine	Pepcid® IV	10	2	Merck	- ac. L-aspartique 4 mg - mannitol 20 mg - eau pour injection
Midazolam	Versed®	5	1	Roche	- chlorure de sodium - édétate disodique - alcool benzylique - ac. Chlorhydrique ou hydroxyde de sodium
Métoclopramide	Chlorhydrate de métoclopramide injection	5	2	Sabex	- chlorure de sodium 8.5 mg - eau pour injection - ac. Chlorhydrique ou hydroxyde de sodium

Tableau (III-1.1) Les médicaments utilisés dans cette étude et leurs préparations pharmaceutiques

DCI	Nom de spécialité	Dosage mg/mL	Volume mL	Labo	Conservateurs et adjuvants pour 1 mL
Acétate d'octréotide	Sandostatin®	0,100	1	Novartis	- ac. Lactique - mannitol - carbonate de sodium hydrogéné
Chlorhydrate d' hydromorphone	Dialaudid-XP® Infu-Pac*	50 mg/mL	50 mL	Knoll Pharma	- citrate de sodium - ac. Citrique
Kétorolac trométhamine	Toradol®	30 mg/mL	1 mL	Roche	- alcool USP 10% (p/v) - chlorure de sodium 4.35 mg - eau stérile - ac. Chlorhydrique ou hydroxyde de sodium
Scopolamine	Bromhydrate de scopolamine	0.4 mg/mL	1 mL	Abbott	- ac. Hydrobromique

Tableau (III.1.2) Les médicaments utilisés dans cette étude et leurs préparations pharmaceutiques (suite)

III-3-2-4 Appareillages et réactifs

- ❖ Le **chromatographe liquide haute performance** utilisée est un appareil Hewlett Packard® Séries 1100, équipé d'un système de pompage, d'un dégazeur, d'un compartiment thermostaté pour les colonnes et d'un injecteur automatique.
- ❖ Le contrôle des instruments, l'acquisition et le traitement des données se font grâce à la ChemStation HP.
- ❖ La séparation a été réalisée sur une colonne Zorbax® Eclipse XDB C₁₈ (3.5 µm, 4.6×75mm).
- ❖ Le détecteur utilisé est un spectrophotomètre à barrette de photodiodes (HP 1100 Series - Diode Array Detector).

Réactifs nécessaires à la préparation de la phase mobile

La phase mobile est préparée à partir de :

- ❖ Acétonitrile (qualité HPLC, Burdick & Jackson),
- ❖ Eau HPLC (J.T.Baker)
- ❖ Dihydrogène-orthophosphate de potassium (BDH).

Le tampon phosphate 0.05M est préparé en dissolvant 13,609 g de dihydrogène-orthophosphate de potassium dans 2.00 L d'eau de qualité pour HPLC : le pH de la solution est ajustée à la valeur 4,6 en utilisant de l'acide phosphorique et de l'hydroxyde de sodium. Tous les solvants sont filtrés sur un filtre (0,45µm) (Gelman Sciences).

Autres réactifs et matériels

- ❖ Chlorure de sodium 0.9% injectable 50 mL (Baxter),
- ❖ **Théophylline** anhydre (Sigma) utilisée comme standard interne analytique. Une solution-mère de théophylline à 1 mg.mL⁻¹ est préparée.
- ❖ Les mélanges de médicaments à analyser sont conservés dans des seringues en polypropylène de 5 mL (Becton Dickinson & Co).

III -4 - PROTOCOLE EXPERIMENTAL

III -4 – 1 Préparation du mélange

La quantité maximale administrable par jour de chacun des médicaments est préparée dans une grande seringue de 100 mL à partir des vials de chaque spécialité. Le volume est complété à 100 mL avec du NaCl 0.9%. Pour des raisons de mesure précise des volumes, le mélange est préparé dans une fiole jaugée de 100 mL.

Lorsque les études aux températures de l'air ambiant et du réfrigérateur ne peuvent être conduites au cours de la même semaine, seul un mélange de 50 mL est préparé, utilisant la demi-dose journalière maximale.

L'ordre du mélange choisi est le suivant : on met en premier le médicament qui sera le plus concentré dans le mélange final et en dernier celui qui sera le moins concentré. La

compatibilité est observée à chaque ajout. En fonction de l'apparition de précipitation ou de trouble, les recommandations nécessaires doivent être faites.

Préparation :

La fiole jaugée est rincée plusieurs fois avec NaCl 0.9%. Le contenu du vial est transféré à l'aide de la seringue dans la fiole jaugée et le vial est rincé plusieurs fois avec NaCl 0.9%. Une seringue neuve est utilisée pour chaque médicament. L'ordre de mélange établi est suivi en observant l'apparition de précipitation ou de trouble. On agite et complète à 50 ou 100 mL avec nacelle 0.9%.

Chaque mélange est réparti dans 15 seringues en plastique de 5 mL :

- 5 sont placées au congélateur à -20°C ,
- 5 sont placées au réfrigérateur à 4°C ,
- 5 sont conservées à température ambiante à 25°C .

Sur chaque seringue, sont notés :

- Le nom du mélange → MELANGE M1 à M5 pour la morphine et MH1 à MH4 pour l'hydromorphone.
- le numéro de la seringue → S1 à S5
- la température de conservation → -20°C , 4°C ou 25°C
- La date et l'heure.

Pour reproduire les conditions d'utilisation à l'hôpital, le mélange passe dans un papillon de polypropylène avant le transfert dans la seringue.

III -4 – 2 Analyse des constituants des mélanges

La stabilité des mélanges est étudiée en mesurant par HPLC la concentration des divers constituants. Un mélange est jugé stable si plus de 90% de la concentration initiale des médicaments sont encore présents après 96 heures dans les conditions définies de conservation. Les médicaments à doser dans les mélanges incluant la morphine sont les suivants :

- La morphine
- Le dimenhydrinate
- Le midazolam
- L'halopéridol
- Le métopropramide
- La famotidine
- La dexaméthasone

Conditions analytiques :

Les 5 mélanges sont analysés dans les conditions analytiques suivantes :

Gradient d'élution et longueurs d'onde de détection

Le profil d'élution pour l'analyse des mélanges à base de morphine est illustré dans le tableau (III-2). La phase mobile utilisée est composée d'un mélange de deux solvants :

A : 100% acétonitrile

B : Tampon phosphate pH = 4.6 (KHPO_4 0.05 mol.L⁻¹).

Tableau (III-2) Le profil d'élution pour l'analyse des constituants des mélanges à base de morphine (M1 à M5)

Temps	%A	% B	Flux (mL.min.⁻¹)
0.00	10.00	90.00	1.00
0.50	10.00	90.00	1.00
3.00	35.00	65.00	1.00
4.50	40.00	60.00	1.00

Compte tenu des caractéristiques spectrales de chacune des molécules analysées la détection est effectuée en utilisant les longueurs d'ondes de 285 nm et de 250 nm

Les médicaments à doser dans les mélanges incluant l'hydromorphone sont les suivants :

- L'hydromorphone (la dihydromorphone)
- Le dimenhydrinate
- Le kétorolac
- Le midazolam
- L'halopéridol
- Le métoclopramide
- La famotidine.

L'analyse des mélanges à base d'hydromorphone est réalisée selon les profils d'élution suivants :

Le mélange MH1 contenait de l'hydromorphone, du midazolam et de la famotidine. Le Profil d'élution pour l'analyse des constituants du mélange MH1 est décrit dans le tableau (III-3). La midazolam possède un caractère lipophile à pH = 4 et donc son temps de rétention est long comparativement à celui de l'hydromorphone ou à celui du midazolam. Pour séparer l'hydromorphone de la famotidine, il a été nécessaire d'éluer les analytes avec 5% d'acétonitrile pendant 3.5 minutes avec un flux de 1 mL.min⁻¹. Par contre, cela a augmenté considérablement le temps de rétention du midazolam. Pour accélérer le processus de l'élution et diminuer le temps d'analyse, il a été nécessaire d'augmenter le flux à 1.25 mL.min⁻¹ et de procéder à la séparation de la famotidine et l'hydromorphone dans des conditions d'élution comportant 5% d'acétonitrile et 95% du tampon phosphate (KHPO₄ 0.05 mol.L⁻¹). En suite, le pourcentage d'acétonitrile a été augmenté pour éluer rapidement le midazolam. Il ne faut pas oublier que le pourcentage d'acétonitrile ne peut pas être augmenté à plus de 60%, car, au-delà de 70% d'acétonitrile et 30 % Tampon phosphate (KHPO₄ 0.05 mol.L⁻¹) on remarque à l'œil nu une précipitation de couleur blanche.

Tableau (III-3) : Le profil d'élution pour l'analyse des constituants du mélange MH1 (Hydromorphone, Midazolam et Famotidine)

Temps	%A	% B	Flux (mL.min. ⁻¹)
0.00	5.00	95.00	1.25
3.00	5.00	95.00	1.25
3.50	35.00	65.00	1.25
5.00	43.00	57.00	1.25

Le mélange MH2 contenait de l'hydromorphone, du métoclopramide et de l'halopéridol. Le profil d'élution pour l'analyse des constituants du mélange MH2 est décrit dans le tableau (III-4). Ce mélange ne contenait pas de famotidine ni de midazolam, ce qui a rendu les conditions d'élution plus simples et plus rapide (Tr HA= 5.9 min).

Tableau (III-4): Le profil d'élution pour l'analyse des constituants du mélange MH2 (Hydromorphone, Métoclopramide et Halopéridol)

Temps	%A	% B	Flux (mL.min. ⁻¹)
0.00	10.00	90.00	1.00
2.00	10.00	90.00	1.00
5.00	50.00	50.00	1.00

Tableau (III-5): Le profil d'élution pour l'analyse des constituants du mélange MH3 (Hydromorphone, Kétorolac, Métoclopramide, Famotidine)

Temps	%A	% B	Flux (mL.min. ⁻¹)
0.00	5.00	95.00	1.00
3.50	5.00	95.00	1.00
4.20	14.00	86.00	1.00
4.70	40.00	60.00	1.00

Tableau (III-6): Le profil d'élution pour l'analyse des constituants du mélange MH4 (Hydromorphone, diménhydrinate, halopéridol et famotidine)

Temps	%A	% B	Flux (mL.min. ⁻¹)
0.00	5.00	95.00	1.00
3.50	5.00	95.00	1.00
6.00	50.00	50.00	1.00

Pour chaque mélange la détection est effectuée aux longueurs d'ondes spécifiques mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau (III-7): Les longueurs d'onde de détection pour les mélanges à base d'hydromorphone

Produits	MH 1	MH 2	MH 3	MH 4
DHMO	281 nm	285 nm	281 nm	285 nm
DH				285 nm
ME		285 nm	271 nm	
KE			318 nm	
HA		250 nm		250 nm
MI	219 nm			
FA	267 nm		267nm	270 nm
SCO				non analysé

Préparation des échantillons analytiques :

Pour l'analyse les solutions médicamenteuses sont diluées de la façon suivante :

Une fiole jaugée de 5 mL est rincée avec de l'eau distillée puis on introduit :

- 200 μL prélevé de la solution mère de mélange contenue dans la seringue.
- 500 μL prélevé de la solution mère d'étalon interne à $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

On complète à 5 mL avec de l'eau distillée et on remplit un vial d'injection.

Pour chaque temps, chaque température et chaque mélange les analyses sont effectuées en duplicata.

CHAPITRE IV
RÉSULTATS DES MÉLANGES
À BASE DE MORPHINE

CHAPITRE IV: RÉSULTATS DES MÉLANGES À BASE DE MORPHINE

IV-1 Paramètres de la séparation chromatographique dans les conditions définitives

IV -1 - 1 Tracé chromatographique

Les figures (4-1) et (4-2) montrent les tracés chromatographiques typiques correspondant à la séparation des différentes molécules à analyser dans les conditions définitives avec détection respectivement à 285 nm et 250 nm. La séparation des médicaments et des conservateurs est obtenue en moins de 8 minutes. Selon ces conditions, la méthode présente donc un temps d'analyse total de moins de 12 minutes et permet d'analyser 20 échantillons en 4 heures, en comptant 4 minutes pour le rééquilibrage de la colonne.

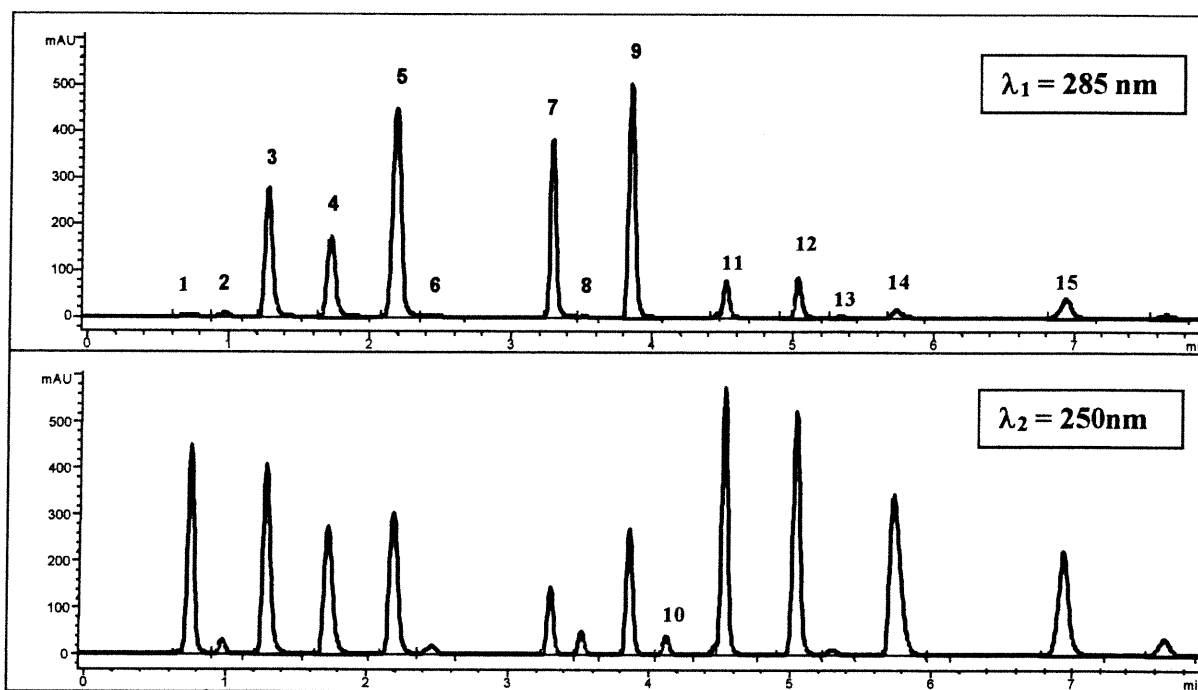


Figure (4-1) Tracé chromatographique dans les conditions définitives de séparation.

Cadre supérieur : détection à 285 nm.

Cadre inférieur : détection à 250 nm

Pour identification des pics voir tableau (II-5).

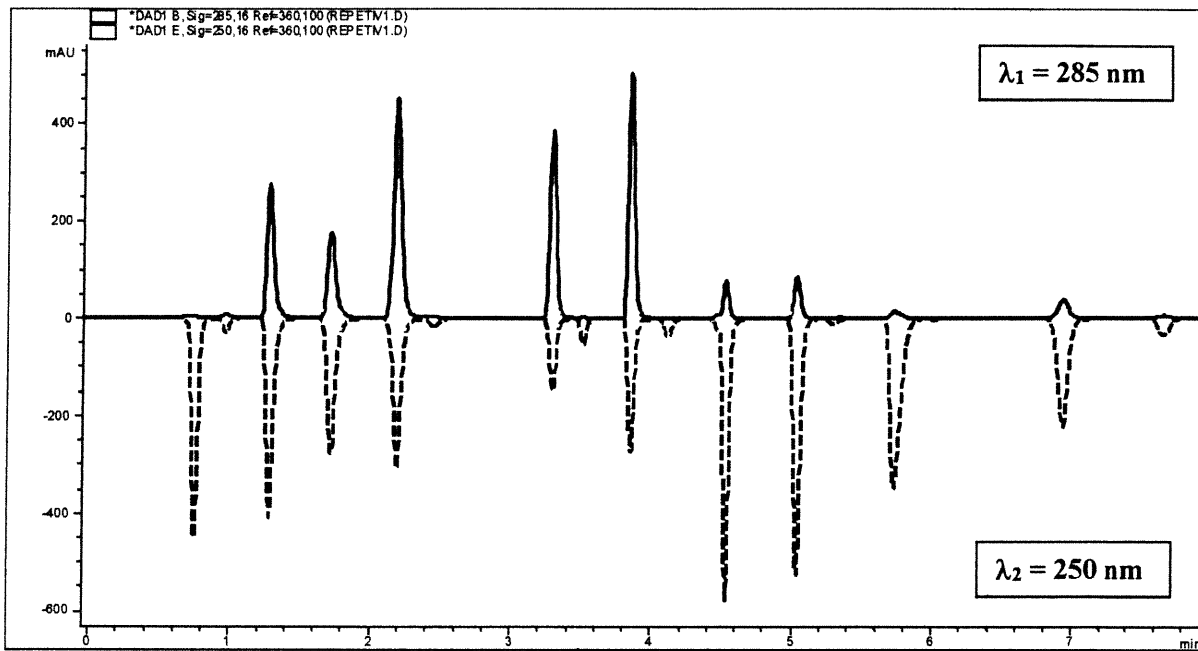


Figure (4-2) Tracé chromatographique dans les conditions définitives.
Cadre supérieur : détection à 285 nm
Cadre inférieur : détection à 250 nm
Pour identification des pics voir tableau II-5

IV -1 - 2 Temps de rétention

Le tableau (IV-1) rassemble les valeurs des temps de rétention absolus des différentes molécules analysées avec la moyenne (n = 5 analyses) et la déviation standard.

Identité	Temps de rétention moyen (min) n = 5	S.D.	C.V.%
#1	0,76	0,005	0,66
#2	0,99	0,012	1,21
#3	1,31	0,021	1,61
#4	1,75	0,046	2,65
#5	2,22	0,021	0,97
#6	2,49	0,020	0,80
#7	3,32	0,010	0,30
#8	3,53	0,008	0,23
#9	3,87	0,007	0,17
#10	4,13	0,007	0,17
#11	4,54	0,006	0,12
#12	5,05	0,007	0,13
#13	5,30	0,008	0,15
#14	5,75	0,009	0,16
#15	6,96	0,012	0,17
#16	7,68	0,014	0,19

Tableau (IV-1) : Temps de rétention moyens des différentes molécules (n = 5).

Ces valeurs démontrent que la séparation est très reproductible puisque le C.V.% sur les temps de rétention absolus est pratiquement toujours inférieur à 1%. Pour la famotidine, il est de 2.6% , valeur très acceptable compte tenu du faible temps de rétention (Tr = 1.75 min).

IV -1 - 3 Facteurs de résolution

La qualité de la séparation chromatographique est documentée par la mesure des facteurs de résolution. Ceux-ci ont été calculés en utilisant la relation suivante :

$$R = \frac{1.18(Trb - Tra)}{W50b + W50a}$$

où : Tra et Trb sont respectivement les temps de rétention de deux pics a et b successifs, W50a et W50b sont les largeurs de pic à mi-hauteur.

Le tableau (IV-2) rassemble les valeurs des facteurs de résolution calculés pour chaque groupe de deux pics successifs avec la moyenne (n=5) et la déviation standard.

Résolution entre les pics	R moyen n = 5	S.D	C.V. (%)
1-2	4,60	0,02	0,52
2-3	5,51	0,13	2,35
3-4	7,51	0,40	5,36
4-5	7,42	0,17	2,26
5-6	3,79	0,10	2,58
6-7	13,39	0,13	1,00
7-8	4,57	0,10	2,21
8-9	7,21	0,06	0,77
9-10	5,13	0,03	0,53
10-11	8,28	0,12	1,46
11-12	10,14	0,09	0,85
12-13	4,00	0,07	1,81
13-14	6,07	0,08	1,39
14-15	3,66	0,05	1,35
15-16	11,83	0,04	0,35
16-17	8,42	0,05	0,62

Tableau (IV-2) : Facteurs de résolution R moyens des pics chromatographiques (n=5).

1-2 : conservateur-conservateur, 2-3 : conservateur-Morphine, 3-4 : Morphine-Famotidine, 4-5 : Famotidine-Théophylline, 5-6 : Théophylline-conservateur, 6-7 : conservateur-Dimenhydrinate, 7-8 : Dimenhydrinate-conservateur, 8-9 : conservateur-Métoclopramide, 9-10 : Métoclopramide-conservateur, 10-11 : conservateur-Dexaméthasone, 11-12 : Dexaméthasone-conservateur, 12-13 : conservateur-conservateur, 13-14 : conservateur-Halopéridol, 15-15 : Halopéridol-conservateur, 15-16 : conservateur-Midazolam, 16-17 : Midazolam-conservateur

Le facteur de résolution est toujours supérieur à R = 1.5 pour tous les couples successifs de composés élués. En conséquence tous les pics sont parfaitement résolus avec retour à la ligne de base. Il n'y a aucune interférence entre les molécules à analyser et les différents conservateurs présents dans les préparations pharmaceutiques d'origine.

IV -1 - 4 Facteur d'asymétrie

La qualité d'un pic chromatographique est documentée par le facteur d'asymétrie de ce pic. Celui-ci est automatiquement calculé en ligne par le logiciel de pilotage et de traitement des données du chromatographe en utilisant la relation :

$$t = \frac{W5.0}{tw^2}$$

où W 5.0 est la largeur de pic à 5% de la hauteur,

tw est la distance entre le front de pic et le temps de rétention correspondant au point situé à 5% de la hauteur du pic.

Le tableau (IV-3) rassemble les valeurs des facteurs d'asymétrie calculées pour tous les pics avec la moyenne (n=5) et la déviation standard.

Les valeurs des facteurs d'asymétrie montrent que tous les pics sont symétriques et que les conditions de l'intégration pour l'analyse quantitative sont tout à fait satisfaisantes.

Identité	Tr (min)	Facteur de symétrie	S.D.	C.V.%
#	0,76	0,95	0,006	0,63
#	0,99	0,92	0,036	3,93
MO	1,31	0,71	0,015	2,16
FA	1,75	0,76	0,015	1,95
THE	2,22	0,85	0,007	0,87
#	2,49	1,01	0,063	6,23
DH	3,32	0,88	0,006	0,70
#	3,53	0,90	0,008	0,92
ME	3,87	0,83	0,004	0,52
DH2	4,13	0,85	0,013	1,56
DX	4,54	0,91	0,013	1,38
#	5,05	0,88	0,007	0,77
DH3	5,30	0,58	0,009	1,56
HA	5,75	0,53	0,004	0,81
MI	6,96	1,04	0,004	0,39
#	7,68	0,90	0,003	0,33

Tableau (IV-3) : Facteurs de symétrie moyens des pics chromatographiques (n=5).

MO : Morphine, FA : Famotidine, DH : Dimenhydrinate, ME : Métoclopramide, DX : Dexaméthasone, HA : Halopéridol, MI : Midazolam. [THP : Théophylline, standard interne], (#) conservateurs.

IV -1 - 5 Critère de pureté des pics chromatographique – sélectivité

Le critère de pureté des pics chromatographiques basé sur l'identité spectrale des spectres ultra-violettes enregistrés tout au long de l'élution d'un pic permet de s'assurer que seul le produit à mesurer est bien présent dans ce pic, c'est-à-dire que deux pics consécutifs ne se superposent pas.

Le tableau (IV-4) rassemble les résultats des tests de pureté chromatographique, dont le détail complet figure en annexe B : tous les pics détectés à 250 nm et 285 nm sont chromatographiquement purs, la valeur de leur facteur de pureté étant supérieure à la limite de 990.

Temps de rétention (min)	Facteur de pureté de pic	Composé
1.287	997.420	Morphine
1.725	999.999	Famotidine
2.191	999.969	Théophylline
3.300	999.999	Dimenhhydrinate
3.860	999.989	Métoclopramide
5.735	1000.000	Halopéridol
6.941	1000.000	Midazolam

Tableau (IV-4) : Facteurs de pureté des pics chromatographiques correspondant aux molécules à analyser.

Identification des pics chromatographiques

Les composés analysés ont été identifiés à partir de solutions standards (références) par leur temps de rétention et leur spectre ultraviolet enregistré à l'apex du pic chromatographique. Les solutions standards étaient constituées des préparations pharmaceutiques unitaires utilisées pour préparer les mélanges. Lorsque plusieurs pics apparaissaient suite à la présence des conservateurs, la molécule médicamenteuse était identifiée en analysant des échantillons de conservateur pur.

Le tableau (IV-5) rappelle les temps de rétention des principales molécules ainsi que les abréviations utilisées pour les nommer et la figure (4-3) montre un chromatogramme obtenu dans les conditions de séparation définitives et l'identification des principaux pics.

L'ordre d'élution est le suivant : créatinine, morphine, famotidine, théophylline, 1^{er} pic de dimenhydrinate, métoclopramide, alcool benzylique, dexaméthasone, méthylparabène, 2^e pic de dimenhydrinate, halopéridol, midazolam puis propylparabène.

Identité	Abréviation	Temps de rétention moyen (min)
CREATININE	CRE	0,76
MORPHINE	MO	1,31
FAMOTIDINE	FA	1,75
THEOPHYLLINE	THP	2,22
DIMENHYDRINATE PIC 1	DH1	3,32
METOCLOPRAMIDE	ME	3,87
ALCOOL BENZYLIQUE	BAL	4,13
DEXAMETHASONE	DX	4,54
METHYLPARABENE	MPB	5,05
DIMENHYDRINATE PIC 2	DH2	5,30
HALOPERIDOL	HA	5,75
MIDAZOLAM	MI	6,96
PROPYLPARABENE	PPB	7,68

Tableau (IV-5) : Identification des différents pics du chromatogramme.

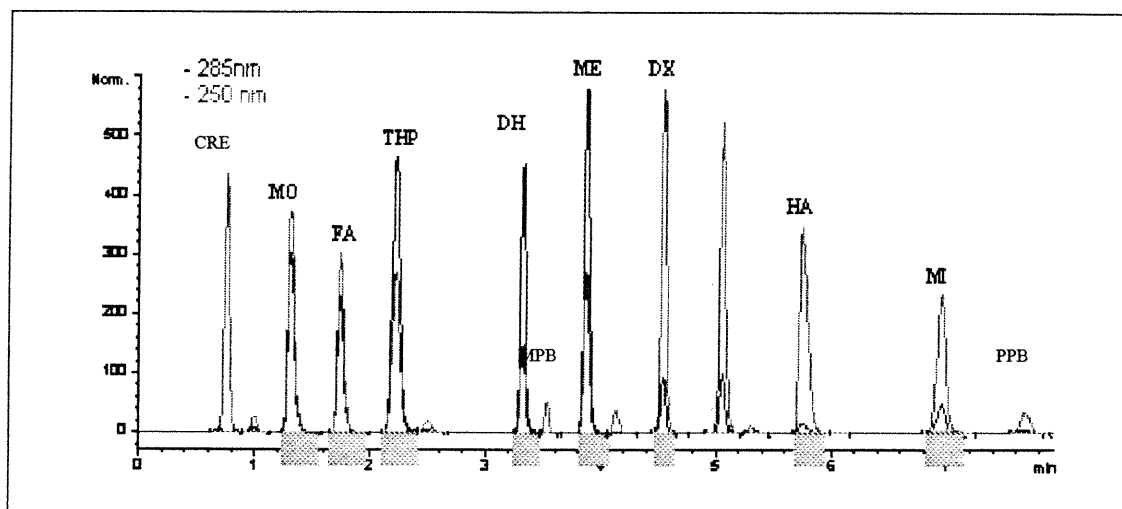


Figure (4-3) Chromatogramme du mélange médicamenteux obtenu dans les conditions de séparation définitives.

MO : Morphine, FA : Famotidine, THP : Théophylline (étalon interne), DH : Dimenhydrinate, ME : Métoclopramide, DX : Dexaméthasone, HA : Halopéridol, MI : Midazolam.

IV - 2 - Paramètres de l'analyse quantitative dans les conditions définitives

IV - 2 - 1 Analyse des surfaces et hauteurs des pics chromatographiques

Le tableau (IV-6) rassemble les valeurs des moyennes (n=5), les déviations standards et les coefficients de variation, exprimés en pourcentage, des surfaces des pics chromatographiques, des rapports des surfaces des pics chromatographiques par rapport à la surface du pic d'étalon interne (THP) et des hauteurs des pics chromatographiques, mesurés dans les conditions de séparation définitives. Ces trois séries de mesures montrent que les surfaces de pics, les rapports de surfaces et les hauteurs de pics chromatographiques sont parfaitement répétables.

Identité	Surface des pics	S.D.	C.V.%	Rapport des surfaces M/SI	S.D.	C.V.%	Hauteur moyenne des pics	S.D.	C.V.%
CRE	1391,83	32,693	2,35	1,14	0,030	2,61	444,88	8,912	2,00
MO	1488,98	5,963	0,40	1,21	0,002	0,17	395,86	9,876	2,49
FA	1162,11	3,082	0,27	0,95	0,002	0,19	298,33	12,746	4,27
THP	1226,19	5,254	0,43	1,00	0,000	0,00	284,78	17,891	6,28
DH1	444,97	1,263	0,28	0,36	0,002	0,64	148,51	0,679	0,46
ME	853,52	3,063	0,36	0,70	0,005	0,69	272,61	1,216	0,45
BAL	133,91	1,937	1,45	0,11	0,002	1,83	38,96	0,137	0,35
DX	1721,90	6,707	0,39	1,40	0,008	0,54	580,55	1,207	0,21
MEBEN	1798,42	3,151	0,18	1,47	0,006	0,43	525,21	0,739	0,14
DH2	49,34	0,488	0,99	0,04	0,000	1,11	10,46	0,048	0,46
HA	1785,80	4,561	0,26	1,46	0,009	0,62	347,77	0,470	0,14
MI	1228,47	28,934	2,36	1,00	0,020	1,98	231,09	4,640	2,01
PRBEN	202,70	0,341	0,17	0,17	0,001	0,49	34,47	0,074	0,22

Tableau (IV-6) : Répétabilité des surfaces des pics chromatographiques, des rapports des surfaces et des hauteurs des pics (n=5).

CRE: Créatinine, MO: Morphine, FA: Famotidine, DH: Dimenhydrinate, ME: Métoclopramide, BAL: Alcool benzylique, DX: Dexaméthasone, MPB: Methylparabène, HA: Halopéridol, MI: Midazolam. THP: Théophylline (étalon interne), PPB: Propylparabène.

IV - 2 - 2 Répétabilité des mesures de rapports de surfaces de pics

Le tableau (IV-6) rassemble les valeurs des moyennes ($n=5$), S.D. et CV% des rapports des surfaces des pics chromatographiques mesurées dans les conditions définitives par rapport à la surface du pic d'étalon interne (THP). Le coefficient de variation moyen sur les rapports de surfaces de pics est inférieur à 1% pour la plupart des produits analysés. L'utilisation du standard interne a permis de réduire l'erreur due au volume de l'injection et aux variations pouvant intervenir au niveau du détecteur.

IV - 2 - 3 Répétabilité des mesures de hauteurs des pics

Le tableau (IV-6) rassemble les valeurs des moyennes ($n=5$), S.D. et CV% des rapports des hauteurs des pics chromatographiques mesurées dans les conditions définitives. La variation de la hauteur des pic est grande surtout pour le standard interne (la théophylline) ($CV\%_{\text{THP}} = 6.28\%$), la famotidine ($CV\%_{\text{FA}} = 4.27\%$) et la morphine ($CV\%_{\text{FA}} = 2.49\%$). Donc, ce paramètre de mesure est moins répétable que celui des rapports des aires des pics. Par conséquent, les rapports des aires des pics seront utilisés pour l'analyse quantitative de tous les produits de cette étude.

IV - 2 - 4 Fonctions d'étalonnage

Lors de cette étude, chaque médicament est considéré comme stable dans le mélange jusqu'au moment où il a perdu 10% de sa concentration initiale.

Ainsi, les fonctions d'étalonnage, pour tous les composés analysés, ont été calculées en utilisant 3 concentrations correspondant à la concentration initiale (à $t = 0$) et à cette concentration plus et moins 10%. La théophylline est utilisée comme étalon interne et a été ajoutée aux échantillons à la concentration de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Chaque échantillon a été analysé 3 fois. Le tableau (IV-7) récapitule les concentrations des solutions analytiques utilisées pour la calibration.

Produit	Concentration initiale dans la seringue (mg/mL)	Concentration initiale après dilution ($\mu\text{g/mL}$)	Concentration initiale après dilution -10% ($\mu\text{g/mL}$)	Concentration initiale après dilution +10% ($\mu\text{g/mL}$)
Morphine	10	400	360	440
Dimenhydrinate	5	200	180	220
Halopéridol	0,5	20	18	22
Métoclopramide	0,5	20	18	22
Dexaméthasone	0.4	16	14.4	17.6

Tableau (IV-7) : Concentrations utilisées pour le test de linéarité.

Comme on peut le voir dans le tableau (IV-8), la valeur des coefficients de régression indique une excellente linéarité pour tous les composés dans la zone visée de 90 – 110%.

PRODUIT	FONCTION	R
Morphine	$0.0011x - 0.0004$	0.9999
Dexaméthasone	$0.0283x + 0.0005$	0.9999
Dimenhydrinate	$0.0067x + 0.0027$	0.9998
Halopéridol	$0.0218x - 0.0004$	0.9999
Métoclopramide	$0.0084x + 3.10^{-5}$	0.9989

Tableau (IV-8) : Fonctions d'étalonnage (R : coefficient de régression linéaire).

IV - 3 – Résultats de l'étude de stabilité

Les tableaux suivants (IV-9) et (IV-10) rassemblent les résultats des mesures de concentrations exprimées en pourcentage restant aux différents temps de mesure par rapport au temps zéro pour les différents mélanges médicamenteux et dans les conditions de température de 4 et 25°C.

Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
Mélange 1 - 4 degrés								
Morphine	100	99,19	100,25	98,11	100,72	99,59	**	100,89
Dexaméthasone	100	99,16	100,52	98,49	100,28	99,62	**	100,75
Mélange 2 - 4 degrés								
Morphine	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP
Dexaméthasone	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP
Halopéridol	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP
Mélange 3 - 4 degrés								
Morphine	100,00	100,70	100,28	100,70	100,69	99,80	100,88	101,09
Famotidine	100,00	99,85	100,77	100,58	100,93	100,39	101,08	101,06
Halopéridol	100,00	100,01	100,06	99,99	97,96	86,47	63,99	52,48
Midazolam	100,00	100,96	99,56	100,48	99,84	99,25	101,08	101,31
Mélange 4 - 4 degrés								
Morphine	100,00	99,54	100,27	100,38	99,71	101,65	99,87	99,44
Famotidine	100,00	99,63	100,44	100,09	99,34	99,91	98,91	98,63
Métoclopramide	100,00	99,66	100,41	100,38	99,78	101,08	99,79	99,62
Halopéridol	100,00	99,53	100,30	100,27	99,62	100,57	96,55	94,60
Mélange 5 - 4 degrés								
Morphine	100,00	100,46	99,00	99,14	97,95	98,15	99,45	100,80
Famotidine	100,00	100,37	99,26	99,06	99,26	99,49	100,43	101,37
Dimenhydrinate	100,00	100,52	99,25	99,23	98,07	98,36	99,45	100,69
Métoclopramide	100,00	100,46	99,33	99,29	98,37	98,68	99,76	100,98
Halopéridol	100,00	100,57	100,35	99,58	99,75	99,74	100,62	101,29

Tableau (IV-9) : Pourcentages restant de chacun des médicaments dans les mélanges étudiés à 4°C.

(INCOMP = incompatible).

(**) Par suite d'une panne du système analytique la détermination à 72 heures n'a pas été faite, celle portée à la colonne 96 heures correspond à une mesure effectuée après 11 jours de conservation.

Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
Mélange 1 - 25 degrés								
Morphine	100,00	100,02	99,85	98,73	101,74	99,77	100,61	100,00
Dexaméthasone	100,00	100,13	102,14	100,87	99,80	99,13	100,57	99,45
Mélange 2 - 25 degrés								
Morphine	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP
Dexaméthasone	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP
Halopéridol	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP
Mélange 3 - 25 degrés								
Morphine	100,00	101,33	100,56	101,44	100,56	100,38	100,65	100,31
Famotidine	100,00	102,33	100,74	101,32	99,60	98,38	97,62	96,27
Halopéridol	100,00	100,74	100,32	100,16	100,62	99,70	99,86	100,45
Midazolam	100,00	99,50	98,23	101,09	101,09	100,73	101,00	100,29
Mélange 4 - 25 degrés								
Morphine	100,00	100,17	99,41	100,17	99,78	101,23	99,78	99,02
Famotidine	100,00	100,29	99,07	99,40	98,93	98,35	96,24	95,60
Métoclopramide	100,00	100,23	99,39	100,06	99,94	100,58	99,61	99,21
Halopéridol	100,00	100,19	99,23	99,99	99,42	100,45	98,86	100,18
Mélange 5 - 25 degrés								
Morphine	100,00	99,91	99,11	98,08	97,49	97,47	100,55	100,09
Famotidine	100,00	99,94	99,74	97,86	98,90	98,90	100,84	100,04
Dimenhydrinate	100,00	100,02	99,21	98,10	99,37	97,60	100,31	99,83
Métoclopramide	100,00	100,03	99,39	98,13	99,66	97,97	100,83	100,30
Halopéridol	100,00	100,24	100,25	98,53	100,90	99,26	101,70	100,81

Tableau (IV-10) : Pourcentages restant de chacun des médicaments dans les mélanges étudiés à 25°C.

(INCOMP = incompatible).

CONSERVATION DES SOLUTIONS CONGELÉES

Pour l'étude de conservation des seringues congelées, les solutions ont été préparées comme pour les études de stabilité aux deux autres températures.

Si l'on avait voulu étudier à tous les temps (0, 4, 8, 12, 24, 36, 72, 96 heures), il aurait fallu préparer en 5 exemplaires autant de seringues que de temps de mesure pour chacun des échantillons, et les dégeler juste avant de les analyser. Cette façon de faire aurait été très coûteuse en médicaments. Aussi nous avons préféré congeler les solutions médicamenteuses à -20°C et les analyser au temps zéro (avant congélation) et en point final après un intervalle de conservation plus long.

Les solutions 1, 3, 4, et 5 ont donc été préparées puis congelées à -20°C jusqu'au moment de l'analyse. Avant l'analyse, les seringues ont été dégelées à la température ordinaire sous agitation. L'échantillon analytique a été préparé dans les conditions décrites précédemment pour les essais à 4°C et 25°C et la théophylline a été utilisée comme standard interne. Les mesures ont été réalisées en duplicata.

Les résultats, exprimés en pourcentage de la concentration initiale, sont regroupés dans le tableau (IV-11).

Mélange M1 – à (-20°)

Temps (jours)	0	50	57
Morphine	100	98.67	98.44
Dexaméthasone	100	83.30	78.91

Mélange M3 - à (-20°)

Temps (jours)	0	99
Morphine	100	94.80
Famotidine	100	93.38
Halopéridol	100	92.68
Midazolam	100	89.45

Mélange M4 - à (-20°)

Temps (jours)	0	29
Morphine	100	101.15
Famotidine	100	94.64
Métoclopramide	100	95.60
Halopéridol	100	93.03

Mélange M5 - à (-20°)

Temps (jours)	0	36
Morphine	100	96.26
Famotidine	100	98.65
Dimenhydrinate	100	93.16
Métoclopramide	100	97.74
Halopéridol	100	99.43

Tableau (IV-11) : Pourcentages restant de chacun des médicaments dans les mélanges congelés au temps final.

Remarque :

Lors du dégel des solutions à la température ordinaire un louche apparaît dans les seringues. Il disparaît à l'agitation.

CONCLUSIONS

Le mélange M3 contenant de la morphine 10.00 mg/mL, du midazolam 1.00 mg/mL, de l'halopéridol 0.50 mg/mL, de la famotidine 0.40 mg/mL et de l'octréotide 0.01 mg/mL est stable pendant 96 heures à la température ordinaire. Par contre la stabilité n'est que de 24 heures à la température de 4°C. En effet la concentration en halopéridol décroît régulièrement entre 24 heures (97.96%) et 96 heures (52.48%) alors que des cristaux transparents, de forme irrégulière apparaissent sur les parois des seringues. Ces cristaux ont été récupérés et analysés. A 25°C, on observe un faible décroissance de la concentration de famotidine, mais cette dernière reste au-dessus de la valeur limite de 90% après 96 heures de conservation. Lors de la conservation des seringues au congélateur à -20°C, le mélange demeure stable pendant 99 jours.

Le mélange M2 contenant de la morphine 10.00 mg/mL, de l'halopéridol 0.50 mg/mL et de la dexaméthasone 0.40 mg/mL est incompatible. L'analyse de cette incompatibilité est présentée dans la section suivante.

Tous les autres mélanges testés étaient stables et compatibles pendant 96 heures aux trois températures de conservation (4, 25 et -20°C). La Sandostatin® n'a pas été analysé car la concentration utilisée, de l'ordre du microgramme par millilitre, se trouvait sous la limite de détection.

Le mélange M1 contenant de la morphine 10.00 mg/mL, de la dexaméthasone 0.40 mg/mL et de l'octréotide 0.01 mg/mL est stable pendant 96 heures à la température ordinaire, les mesures effectuées sur 11 jours à 4°C montrent que le mélange est aussi stable dans ces conditions de conservation. Lors de la conservation des seringues au congélateur à -20°C, la morphine est stable pendant au moins 57 jours, par contre la dexaméthasone se dégrade progressivement puisqu'il ne reste que 78.91 % après 57 jours.

Le mélange M4 contenant de la morphine 10.00 mg/mL, de l'halopéridol 0.50 mg/mL, du métopropramide 0.50 mg/mL et de la famotidine 0.40 mg/mL est stable pendant 96 heures à 25 et à 4°C. Lors de la conservation des seringues au congélateur à -20°C, le mélange demeure stable pendant 29 jours.

Le mélange M5 contenant de la morphine 10.00 mg/mL, du dimenhydrinate 5.00 mg/mL, du métopropramide 0.50 mg/mL, de l'halopéridol 0.50 mg/mL, de la famotidine 0.40 mg/mL et de l'octréotide 0.01 mg/mL est stable pendant 96 heures aux températures de 25 et 4°C. Lors de la conservation des seringues au congélateur à -20°C, le mélange demeure stable pendant 36 jours.

IV - 4 - Résultats de l'étude de compatibilité

Les résultats comprennent successivement, pour chaque mélange, les observations faites lors de la préparation du mélange dans l'ordre décroissant de concentration des médicaments impliqués à l'intérieur d'une fiole jaugée de 100 mL suivie de l'observation du contenu des seringues au cours des 96 heures de conservation.

- **Mélange M1 : morphine + dexaméthasone + octréotide**

La morphine injectable se présente sous la forme d'une solution jaune transparente, limpide et la dexaméthasone injectable sous la forme d'une solution incolore limpide. Le mélange des deux solutions conduit à une solution jaune et limpide, ne présentant aucune incompatibilité.

L'octréotide injectable se présente en solution limpide incolore, qui forme une solution jaune et limpide, lors de son mélange avec la morphine injectable et la dexaméthasone injectable, sans aucune incompatibilité.

La conservation pendant 96 heures à 4 et 25°C a donné les résultats de compatibilité présentés dans le tableau (IV-12). La compatibilité est observée sur toutes les seringues à tous les temps, à 4 et 25°C.

Mélange 1 à 25 degrés

Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
Morphine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Dexaméthasone	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP

Mélange 1 à 4 degrés

Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
Morphine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Dexaméthasone	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP

Tableau (IV-12) : Résultats de compatibilité du mélange M1.

- Mélange M2 : morphine + dexaméthasone + halopéridol

La morphine injectable se présente sous la forme d'une solution jaune transparente, limpide et l'halopéridol injectable sous la forme d'une solution incolore limpide. Le mélange des deux solutions conduit à une solution jaune et limpide, ne présentant aucune incompatibilité.

La dexaméthasone injectable est une solution limpide incolore. Lors de son mélange avec la morphine injectable et l'halopéridol injectable, on observe la formation d'un nuage blanc opaque puis après agitation d'un mélange jaune opaque d'aspect laiteux avec une mousse abondante à la surface du liquide. En laissant reposer, on obtient une solution jaune avec des particules blanches en suspension et en surface ainsi que collées sur la paroi de la fiole. Après récupération des particules en suspension, celles-ci se dissolvent difficilement dans l'eau. Elles sont un peu plus solubles dans NaCl 0.9% et solubles dans le méthanol. Après 10 minutes de sonication, on obtient de nouveau un soluté limpide. Par contre une agitation manuelle ou au vortex ne permet pas de retrouver une solution limpide.

Lors de la tentative d'autres essais de préparation avec un nouvel ordre de mélange, on observe que l'ajout d'halopéridol dans la dexaméthasone entraîne la formation d'un précipité blanc, signe d'incompatibilité, tandis que l'ajout de dexaméthasone dans la morphine donne une solution limpide incolore, sans incompatibilité. L'incompatibilité présente dans le mélange M2 a donc lieu entre l'halopéridol et la dexaméthasone.

- Mélange M3 : morphine + octréotide + halopéridol + midazolam + famotidine

La morphine injectable se présente en solution jaune transparente, limpide et le midazolam injectable sous la forme d'une solution incolore limpide. Le mélange des deux solutions conduit à une solution jaune et limpide, ne présentant aucune incompatibilité.

L'halopéridol injectable est une solution limpide incolore, qui forme une solution jaune et limpide, lors de son mélange avec la morphine injectable et le midazolam injectable, sans aucune incompatibilité.

La famotidine injectable se présente en solution limpide incolore. Elle forme une solution jaune et limpide, lors de son mélange avec la morphine injectable, le midazolam injectable et l'halopéridol injectable, sans aucune incompatibilité.

La solution d'octréotide injectable est limpide incolore. Elle forme une solution jaune et limpide, lors de son mélange avec la morphine injectable, le midazolam injectable, l'halopéridol injectable et la famotidine injectable, sans aucune incompatibilité.

La conservation pendant 96 heures à 25°C a donné les résultats de compatibilité présentés dans le tableau (IV-13). La compatibilité est observée sur toutes les seringues à tous les temps.

Mélange 3 à 25 degrés								
Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
Morphine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Famotidine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Halopéridol	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Midazolam	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP

Tableau (IV-13) : Résultats de compatibilité du mélange M3 à 25 °C.

Lors de la conservation des seringues au réfrigérateur à 4°C, on observe, à partir de 48 heures, l'apparition de cristaux collés sur les parois. L'abondance des cristaux est notée en (+) sur les observations de chacune des 5 seringues rassemblées dans le tableau II-18.

Mélange 3 à 4 degrés								
Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
seringue 1	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	(+)	(++)	(+++)
seringue 2	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	(++)	(+++)	(+++)
seringue 3	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	(+)	(++)	(++)
seringue 4	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	(++)	(+++)	(++++)
seringue 5	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	(+)	(++)	(++)

Tableau (IV-14) : Résultats de compatibilité du mélange M3 à 4 °C.

Les cristaux qui se forment sont transparents de forme irrégulière. Ils se fixent sur les parois de la seringue. Si on laisse revenir la seringue à la température ordinaire sous agitation, les cristaux ne se redissolvent pas totalement.

Les cristaux ont été récupérés pour une analyse ultérieure.

Le mélange M3 est donc compatible à 25°C mais incompatible après 24 heures à 4°C par formation de cristaux se traduisant par une diminution de 50% de la concentration en halopéridol.

- Mélange 4 : morphine + famotidine + métoclopramide + halopéridol

La solution de morphine injectable est jaune transparente, limpide et l'halopéridol sous la forme d'une solution incolore limpide. Le mélange des deux solutions conduit à une solution jaune et limpide, ne présentant aucune incompatibilité.

La solution du métoclopramide injectable est limpide incolore. Elle forme une solution jaune et limpide, lors de son mélange avec la morphine et l'halopéridol, sans aucune incompatibilité.

La famotidine injectable se présente en solution limpide incolore. Elle forme une solution jaune et limpide lors de son mélange avec la morphine injectable, l'halopéridol injectable et le métoclopramide injectable, sans aucune incompatibilité.

La conservation pendant 96 heures à 25 et 4°C a donné les résultats de compatibilité présentés dans le tableau (IV-15). La compatibilité est observée sur toutes les seringues à tous les temps, aux deux températures.

Mélange 4 à 25 degrés								
Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
Morphine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Famotidine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Métoclopramide	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Halopéridol	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP

Mélange 4 à 4 degrés								
Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
Morphine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Famotidine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Métoclopramide	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Halopéridol	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP

Tableau (IV-15) : Résultats de compatibilité du mélange M4.

- Mélange 5 : morphine + famotidine + dimenhydrinate + métoclopramide + halopéridol + octréotide

La solution de morphine injectable est jaune transparente, limpide et la solution de dimenhydrinate injectable est une solution incolore limpide. Le mélange des deux solutions conduit à une solution jaune et limpide, ne présentant aucune incompatibilité après agitation.

La solution d'halopéridol injectable est limpide incolore. Elle forme une solution jaune et limpide, lors de son mélange avec la morphine injectable et le dimenhydrinate injectable, sans aucune incompatibilité.

La solution de métoclopramide injectable est limpide incolore. Elle forme une solution jaune et limpide, lors de son mélange avec la morphine injectable, le dimenhydrinate injectable et l'halopéridol injectable, sans aucune incompatibilité.

La solution de famotidine injectable est limpide incolore. Elle forme une solution jaune et limpide, lors de son mélange avec la morphine injectable, le dimenhydrinate injectable, l'halopéridol injectable et le métoclopramide injectable, sans aucune incompatibilité.

La solution d'octréotide injectable est limpide incolore. Elle forme une solution jaune et limpide, lors de son mélange avec la morphine injectable, le dimenhydrinate injectable, l'halopéridol injectable, le métoclopramide injectable et la famotidine injectable, sans aucune incompatibilité.

La conservation pendant 96 heures à 25 et 4°C a donné les résultats de compatibilité présentés dans le tableau (IV-16). La compatibilité est observée sur toutes les seringues à tous les temps, aux deux températures.

Mélange 5 à 25 degrés

Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
Morphine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Famotidine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Dimenhydrinate	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Métoclopramide	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Halopéridol	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP

Mélange 5 à 4 degrés

Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
Morphine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Famotidine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Dimenhydrinate	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Métoclopramide	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Halopéridol	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP

Tableau (IV-16) : Résultats de compatibilité du mélange M5.

IV - 5 - Étude des cristaux apparaissant dans la solution (MH2) dihydromorphone, métoclopramide, halopéridol conservée à 4 degrésC.

Les cristaux apparus lors de la conservation du mélange 3 : morphine + somatostatine + halopéridol + midazolam + famotidine, conservé à 4°C ont été récupérés par grattage de la paroi des seringues. Les cristaux ne sont pas solubles dans le méthanol. Ils ont été solubilisés dans l'eau dans un bain à ultrasons. La solution résultante a été analysée dans les conditions de séparation habituelles.

La figure (4-4) montre le tracé chromatographique obtenu.

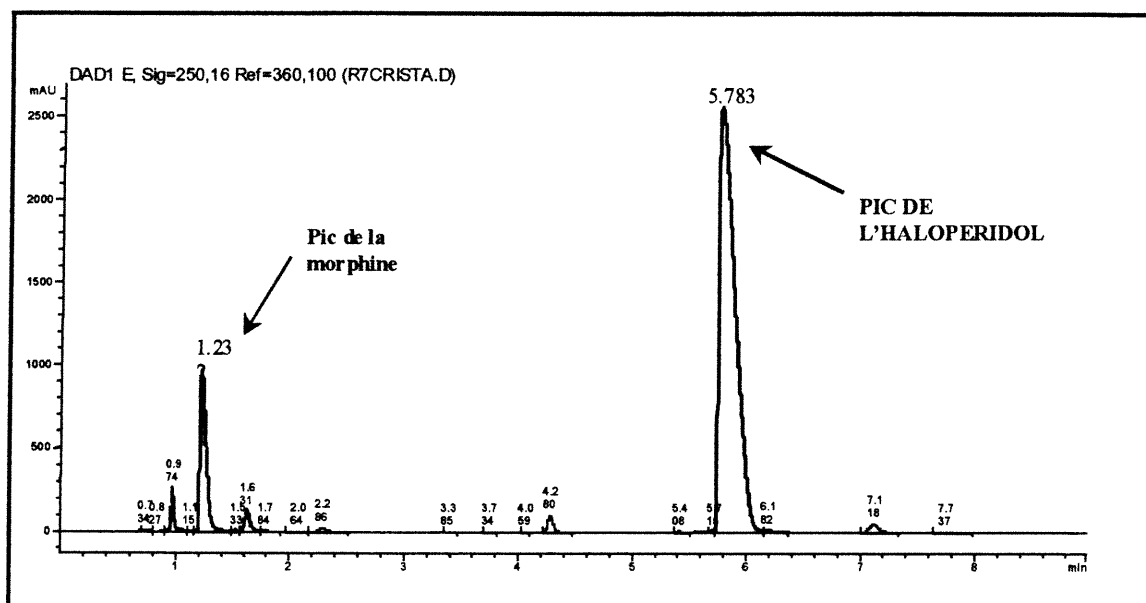


Figure (4-4) Tracé chromatographique de la solution obtenue à partir des cristaux apparus à 4°C dans le mélange M3.

Sur ce chromatogramme, on peut observer la présence d'un pic chromatographique extrêmement intense correspondant au temps de rétention de l'halopéridol ainsi que des traces des autres constituants du mélange provenant de la seringue car les cristaux n'ont pas été rincés avant leur dissolution.

Le spectre UV enregistré dans le pic chromatographique est présenté sur la figure (4-5) avec celui d'un échantillon de référence d'halopéridol. On peut constater que ces deux spectres sont identiques ce qui valide l'identification de l'halopéridol dans les cristaux analysés.

En conséquence, après 24 heures de conservation à 4°C dans le mélange M3 contenant : morphine + octréotide + halopéridol + midazolam + famotidine, l'halopéridol cristallise et les cristaux se fixent sur les parois. Ce phénomène est responsable de la diminution de concentration de 50% de l'halopéridol constatée entre 24 et 96 heures de conservation dans ces conditions de température.

La stabilité et la compatibilité de mélanges similaires contenant de la morphine et de l'halopéridol dans du NaCl 0.9% et du dextrose ont été étudiées (29). Une formation de cristaux a eu lieu après 24 heures de conservation dans un vial en verre de 20 mL à température ambiante. L'analyse de ces cristaux par chromatographie gazeuse associée à un spectrographe de masse a montré que les cristaux contenaient de l'halopéridol, du méthylparabène et du propylparabène sans aucune trace de morphine (29).

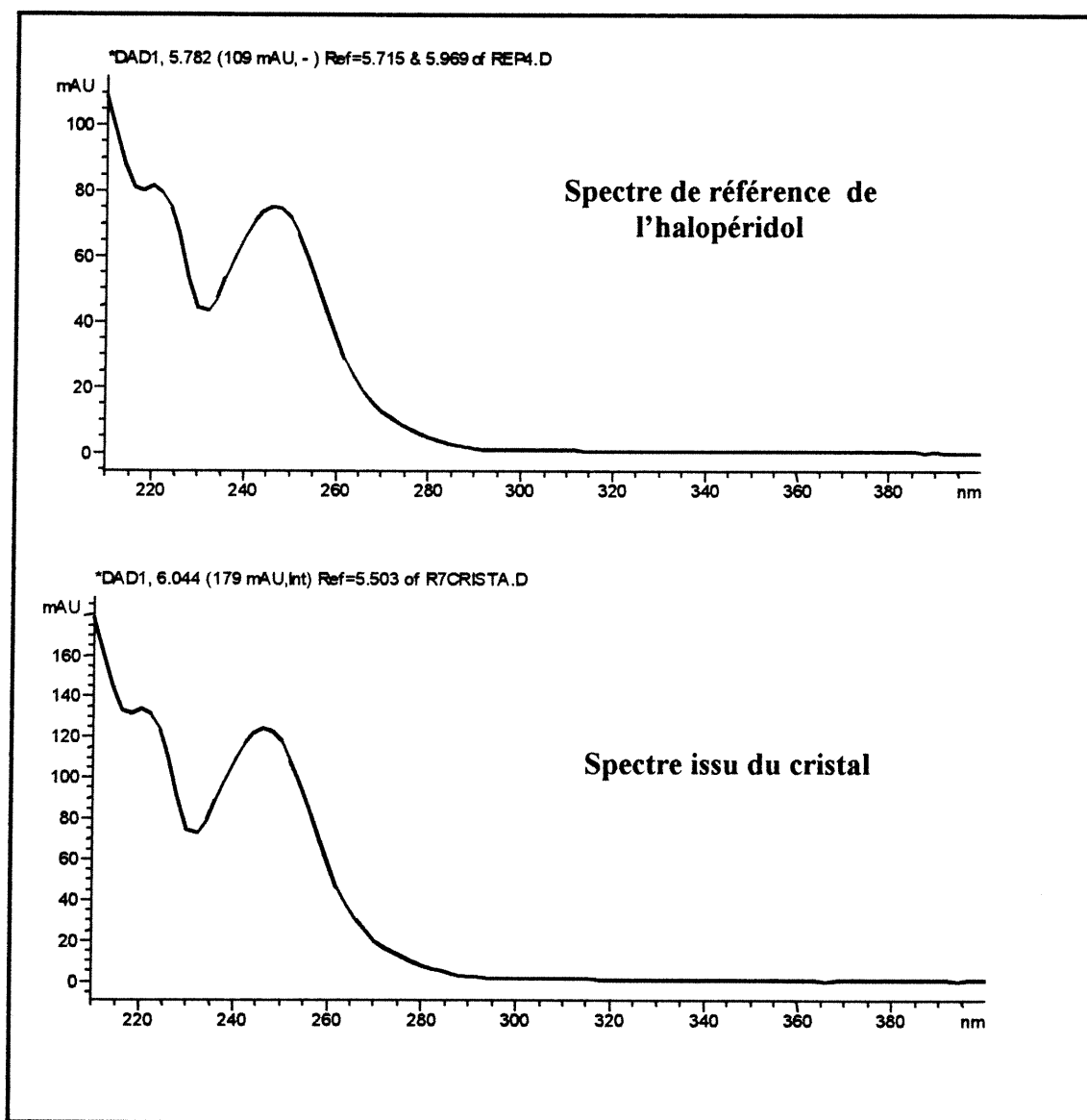


Figure (4-5) Spectres UV de l'halopéridol pur en solution (référence) et issu des cristaux formés dans le mélange M3.

CONCLUSION GENERALE :

Des solutions médicamenteuses contenant de la morphine associée à plusieurs autres médicaments utilisés pour les soins palliatifs ont été étudiées quant à leur compatibilité et leur stabilité. L'étude a nécessité la mise au point d'une méthode d'analyse par chromatographie liquide utilisant un gradient d'élution avec détection simultanée à 250 et 285 nm à l'aide d'un détecteur à barrette de photodiodes.

Les solutions médicamenteuses ont été préparées dans les mêmes conditions que lors de leur utilisation thérapeutique. Le solvant d'élution utilisé était un mélange de tampon phosphate à pH 4.6 et d'acétonitrile selon un gradient d'élution.

Dans les conditions définitives déterminées, le coefficient de variation moyen sur les temps de rétention est inférieur à 1%. Les facteurs de résolution entre chaque couple de deux pics chromatographiques successifs sont toujours supérieurs à 1,5. Ainsi tous les pics chromatographiques reviennent à la ligne de base. Les facteurs d'asymétrie des pics montrent que les pics sont tous symétriques et que les conditions d'intégration sont excellentes. Les facteurs de pureté des pics sont tous inférieurs à la limite : tous les pics sont chromatographiquement purs. La répétabilité des mesures de surface des pics, la répétabilité des mesures des rapports de surface des pics et la répétabilité des mesures de hauteurs des pics sont en moyenne inférieures à 1% (coefficient de variation exprimé en pour-cent). Les fonctions d'étalonnage montrent une excellente linéarité ($r > 0.999$) pour tous les produits analysés dans la zone 90% -110% de la valeur de concentration au temps zéro.

L'analyse de stabilité et de compatibilité des cinq mélanges étudiés conduit aux résultats suivants :

1. Le mélange M1, contenant **la morphine, la dexaméthasone et l'octréotide**, est stable pendant 96 heures à 25°C et à 4°C ; la morphine est stable pendant au moins 57 jours à -20°C mais la dexaméthasone se dégrade puisqu'il ne reste que 78.91% après 57 jours.
2. Le mélange M2, contenant **la morphine, la dexaméthasone et l'halopéridol**, est immédiatement incompatible.
3. Le mélange M3, contenant **la morphine, la famotidine, l'halopéridol, le midazolam et l'octréotide**, est stable pendant 96 heures à la température de 25°C et pendant 99 jours à -20°C. Par contre la stabilité n'est que de 24 heures à la température de 4°C car la concentration en halopéridol décroît régulièrement de 24 heures (97.96%) à 96 heures (52.48%). Ceci s'explique par la formation de cristaux d'halopéridol qui se collent à la paroi des seringues.
4. Le mélange M4, contenant **la morphine, la famotidine, le métoprolol et l'halopéridol**, est stable pendant 96 heures à 25°C et à 4°C, ainsi que sur 29 jours à -20°C.
5. Le mélange M5, contenant **la morphine, la famotidine, le dimenhydrinate, le métoprolol, l'halopéridol et l'octréotide**, est stable pendant 96 heures à 25°C et à 4°C, ainsi que sur 36 jours à -20°C.

Les mélanges ci-dessus considérés comme stables, c'est-à-dire quand la concentration médicamenteuse demeure supérieure à 90% de la concentration initiale, peuvent être conservés dans les seringues en polypropylène utilisées avec les pompes portables pour les perfusions sous-cutanées continues, en supposant que l'extrapolation de 5 mL à 100 mL ne modifie pas les résultats. Ces mélanges doivent être préparés dans des conditions

de stérilité et selon l'ordre établi lors de l'étude, les autres combinaisons n'ayant pas été testées.

Le mélange incompatible, contenant de la morphine, de la dexaméthasone et de l'halopéridol, ne doit pas être fabriqué. Tous les autres mélanges peuvent être fabriqués et conservés pendant 96 heures à l'abri de la lumière à 4°C et à 25°C, à l'exception du mélange contenant de la morphine, de la famotidine, de l'halopéridol, du midazolam et de l'octréotide dont la stabilité n'est que de 24 heures à 4°C.

CHAPITRE V
RÉSULTATS DES MÉLANGES
À BASE D'HYDROMORPHONE

CHAPITRE V : RÉSULTATS DES MÉLANGES À BASE D'HYDROMORPHONE

V-1 Paramètres de la séparation chromatographique dans les conditions définitives

V-1-1 Tracé chromatographique

Mélange 1

La figure (5-1), la figure (5-2), la figure (5-3), et la figure (5-4) montrent les tracés chromatographiques correspondant à la séparation des différentes molécules à analyser dans les conditions définitives avec détection respectivement à 281 nm, 271 nm, 267nm et 219nm.

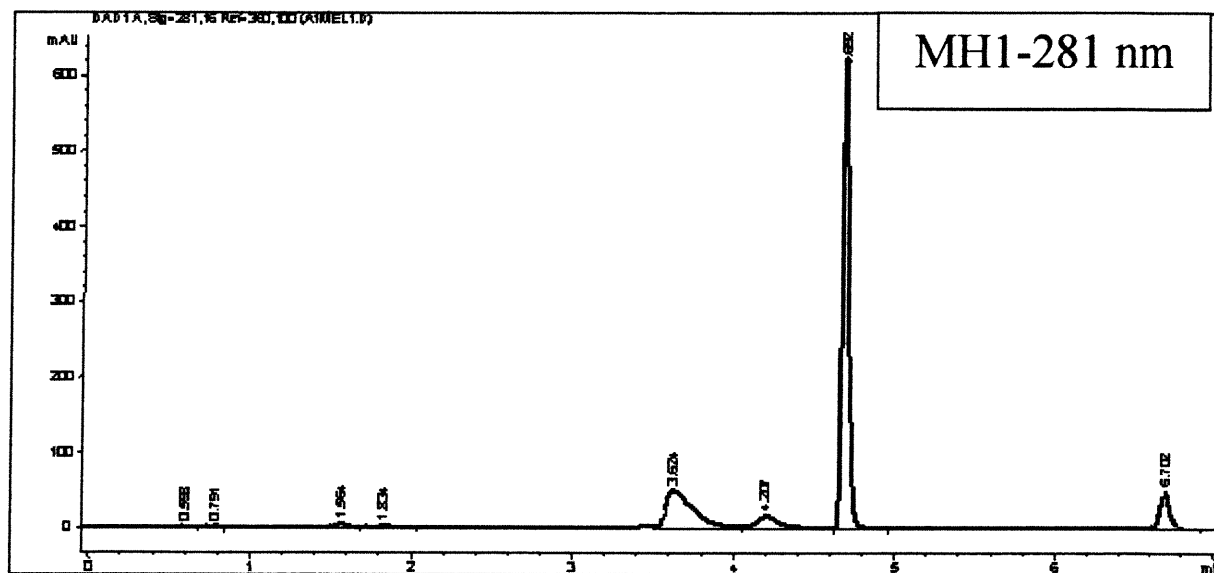


Figure (5-1) Chromatogramme du mélange MH1 - 281 nm

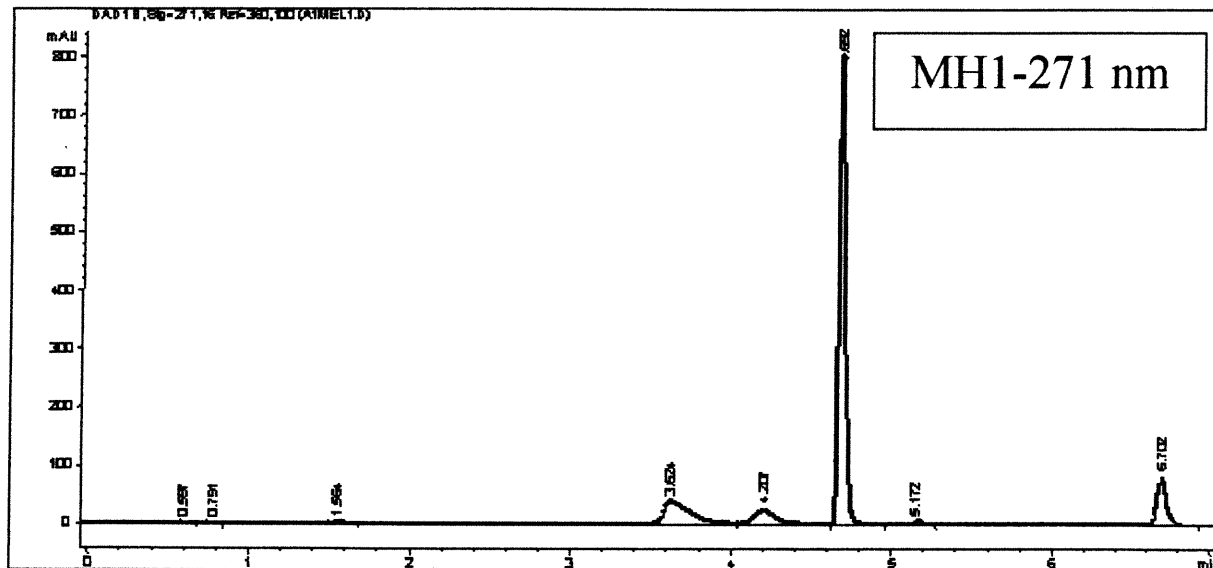


Figure (5-2) Chromatogramme du mélange MH1 - 271 nm

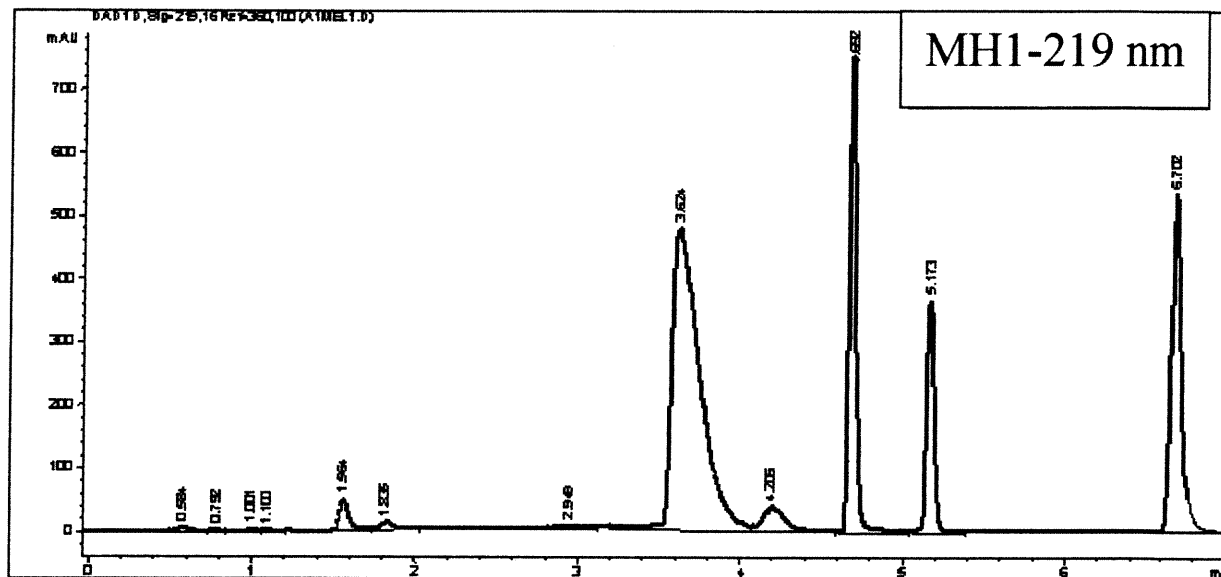


Figure (5-3) Chromatogramme du mélange MH1 - 219 nm

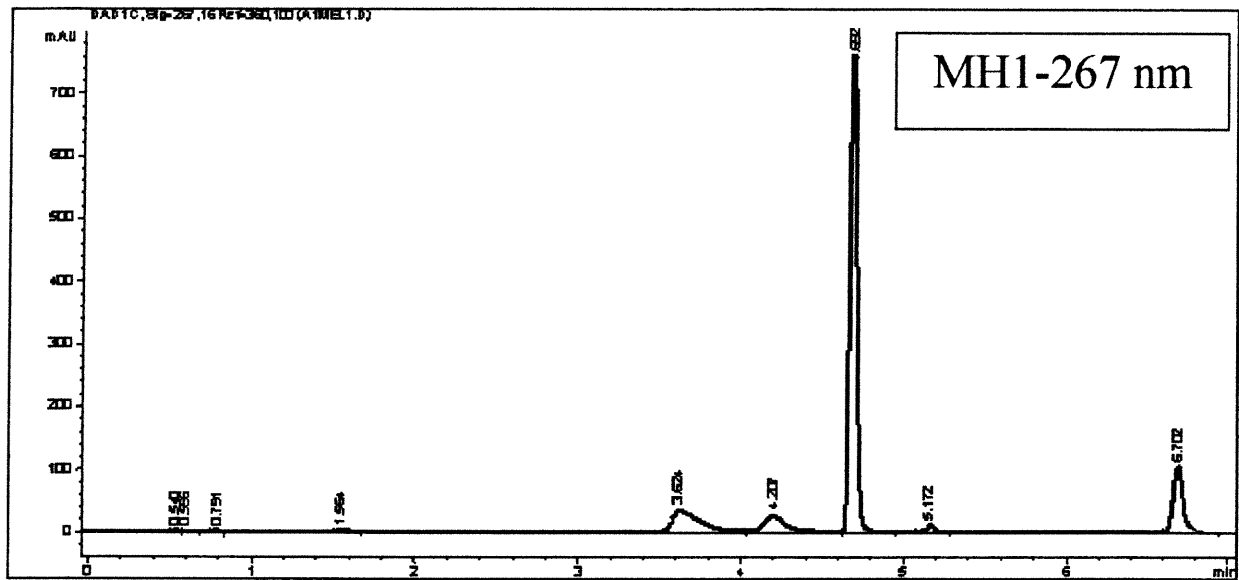


Figure (5-4) Chromatogramme du mélange MH1 - 267 nm

Mélange 2

La figure (5-5) et la figure (5-6) montrent les tracés chromatographiques correspondant à la séparation des différentes molécules à analyser dans les conditions définitives avec détection respectivement à 285 nm et 250 nm.

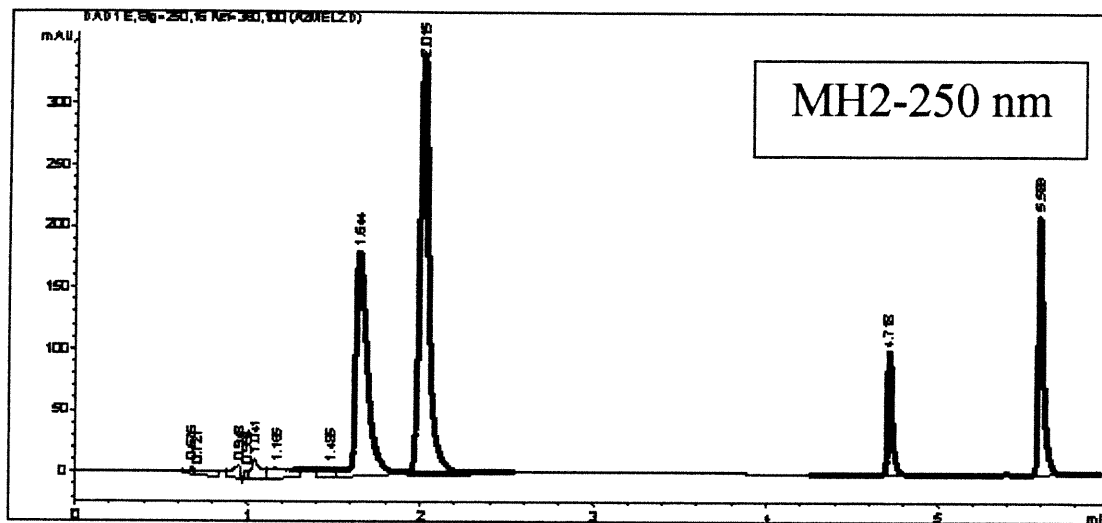


Figure (5-5) Chromatogramme du mélange MH2 - 250 nm

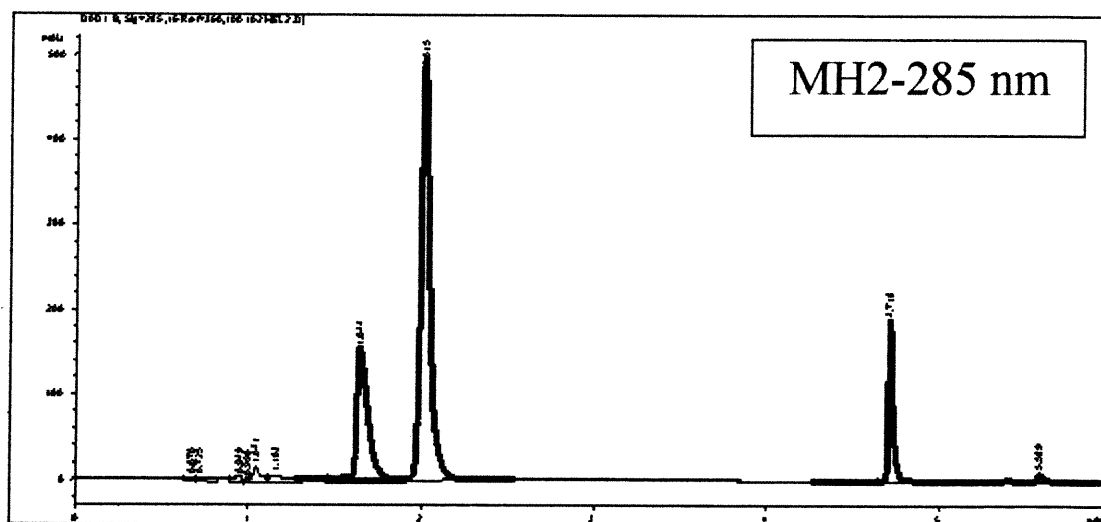


Figure (5-6) Chromatogramme du mélange MH2 - 285 nm

Mélange 3

La figure (5-7) et la figure (5-8) montrent les tracés chromatographiques correspondant à la séparation des différentes molécules à analyser dans les conditions définitives avec détection respectivement à 318nm et 271nm.

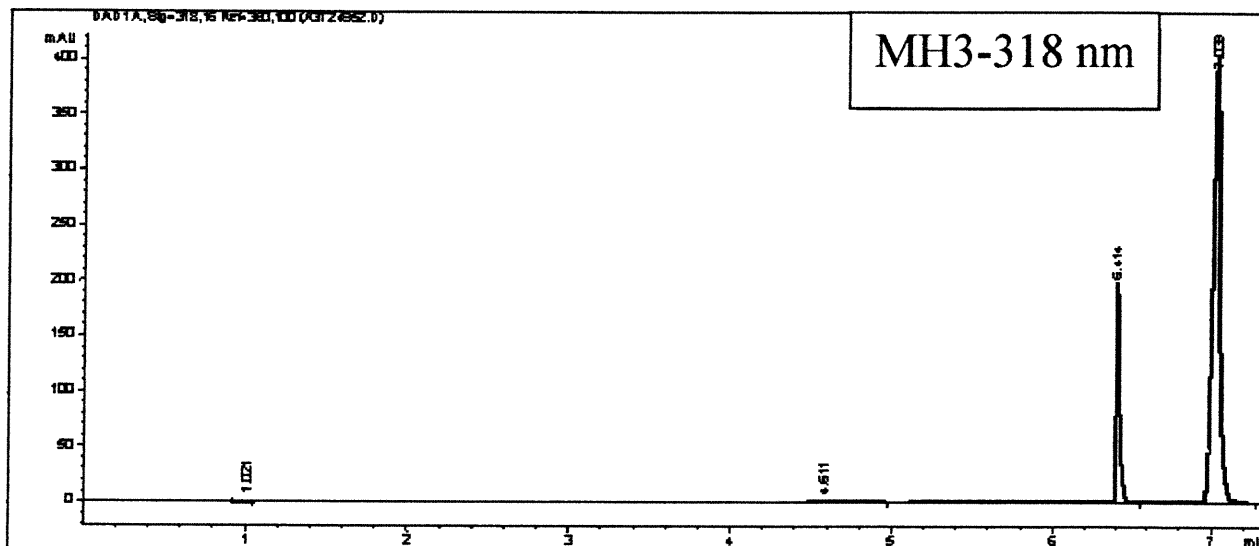


Figure (5-7) Chromatogramme du mélange MH3 - 318 nm

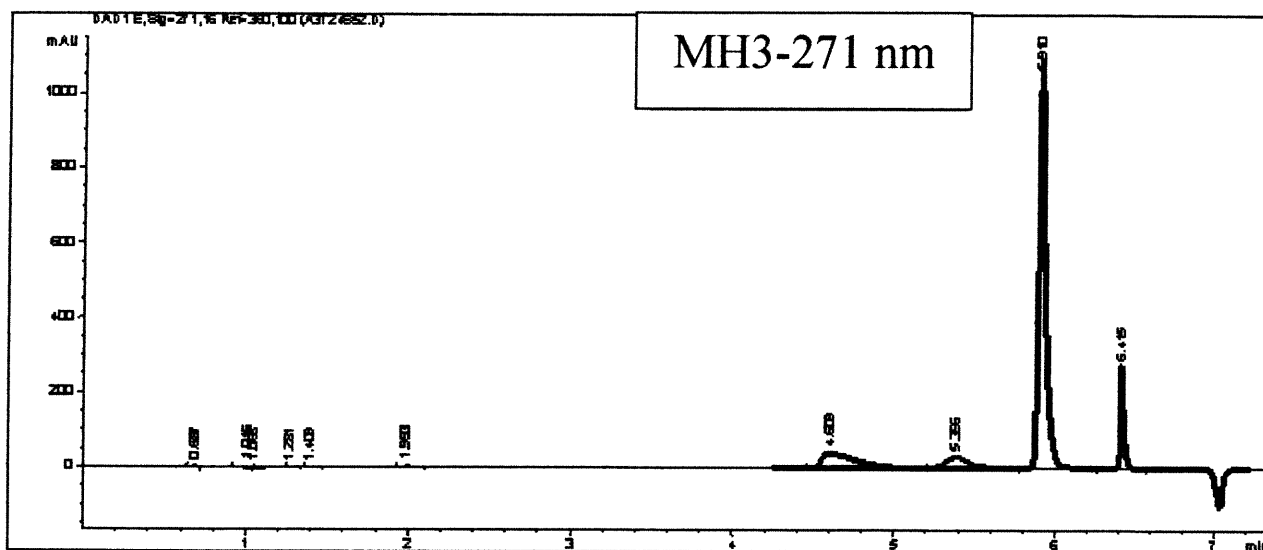


Figure (5-8) Chromatogramme du mélange MH3 - 271 nm

Mélange 4

La figure (5-9) et la figure (5-10) montrent les tracés chromatographiques correspondant à la séparation des différentes molécules à analyser dans les conditions définitives avec détection respectivement à 285 nm et 250 nm.

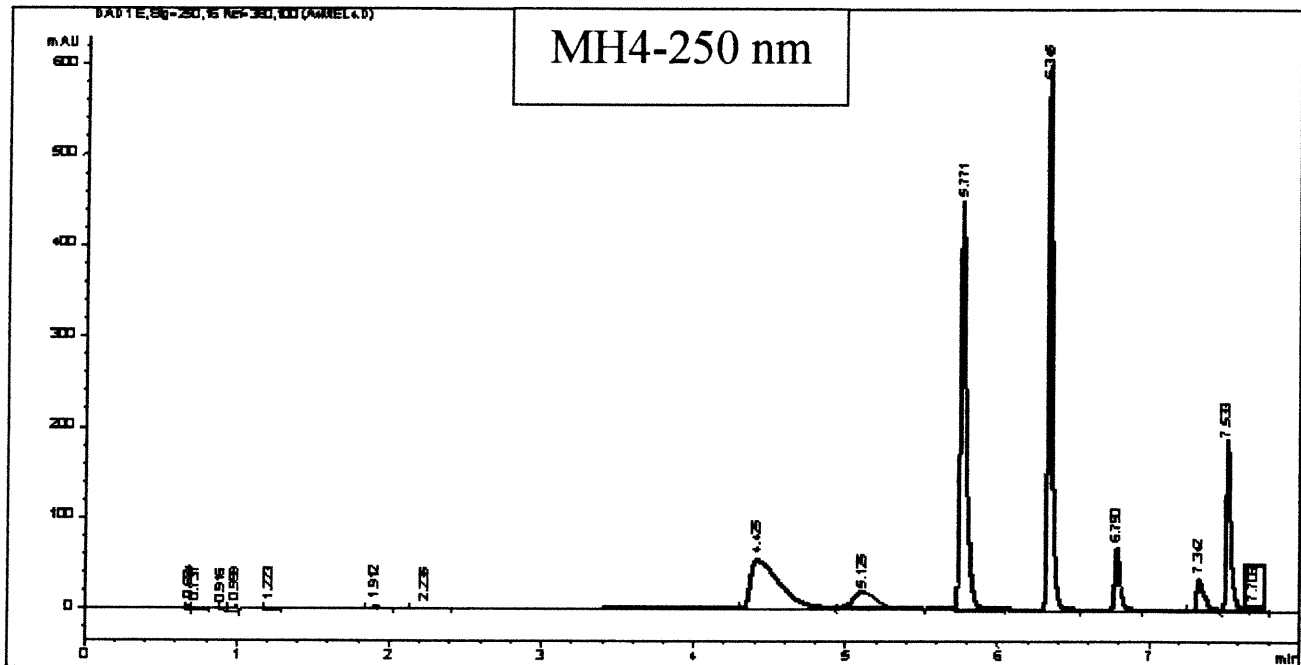


Figure (5-9) Chromatogramme du mélange MH4 - 250 nm

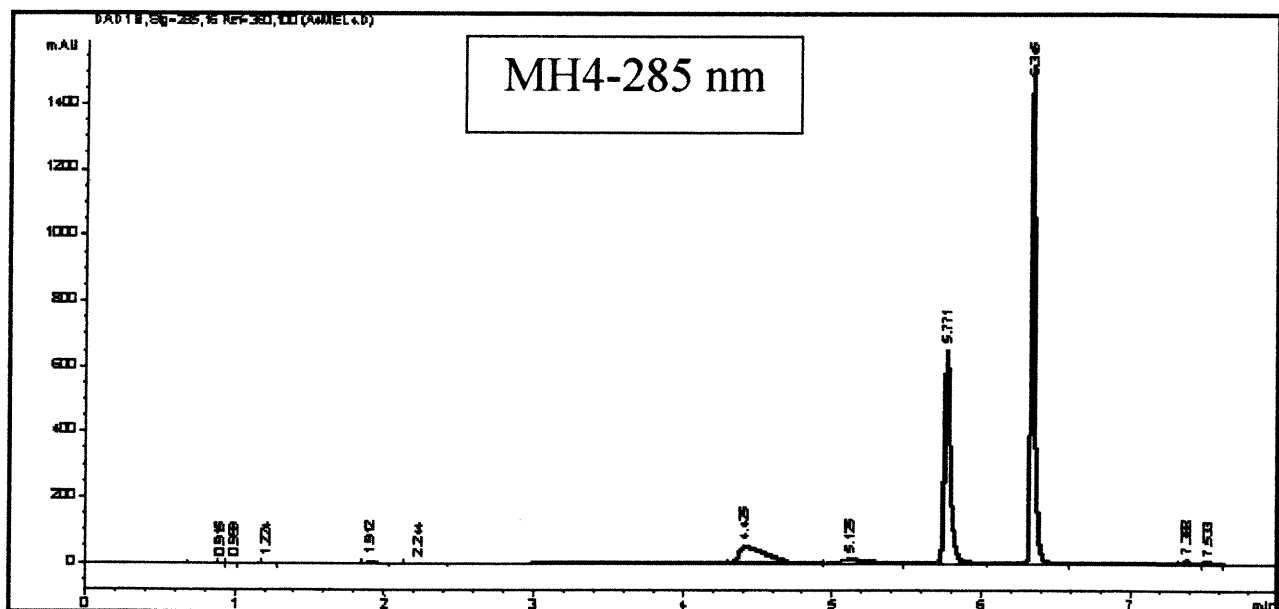


Figure (5-10) Chromatogramme du mélange MH4 - 285nm

V-1 – 2 Temps de rétention

Mélange (MH1)

Le tableau (V-1) rassemble les valeurs des temps de rétention absolus des différentes molécules analysées avec la moyenne (n = 5 analyses) et la déviation standard.

Identité	Tr Moyen (min)	S.D.	C.V. %
#1	1,58	0,0077	0,49
DHMO	3,68	0,0060	0,16
FA	4,28	0,0047	0,11
THP	4,70	0,0016	0,03
#2	5,17	0,0016	0,03
MI	6,70	0,0023	0,03

Tableau (V-1) : Temps de rétention moyens (minutes), déviation standard, coefficient de variation du mélange MH1

DHMO : Dihydromorphe, FA : Famotidine, MI : Midazolam. [THP : Théophylline, standard interne], (#) conservateurs.

Mélange (MH2)

Le tableau (V-2) rassemble les valeurs des temps de rétention absolus des différentes molécules analysées avec la moyenne (n = 5 analyses) et la déviation standard.

Identité	Tr Moyen (min)	S.D.	C.V. %
DHMO	1,65	0,0028	0,17
THP	2,02	0,0019	0,09
ME	4,72	0,0005	0,01
HA	5,59	0,0016	0,03

Tableau (V-2) : Temps de rétention moyens (minutes), déviation standard, coefficient de variation, du mélange MH2

DHMO : Dihydromorphe, ME : Métoclopramide, HA : Halopéridol, [THP : Théophylline, standard interne].

Mélange (MH3)

Le tableau (V-3) rassemble les valeurs des temps de rétention absolus des différentes molécules analysées avec la moyenne (n = 5 analyses) et la déviation standard.

Identité	Tr Moyen (min)	S.D.	C.V. %
DHMO	4,43	0,003	0,06
FA	5,14	0,005	0,09
THP	5,85	0,002	0,03
ME	6,41	0,001	0,01
KE	7,02	0,001	0,01

Tableau (V-3) : Temps de rétention moyens (minutes), déviation standard, coefficient de variation, du mélange MH3.

DHMO : Dihydromorphone, FA : Famotidine, ME : Métoprolamide, KE : Ketorolac, [THP : Théophylline, standard interne].

Mélange (MH4)

Le tableau (V-4) rassemble les valeurs des temps de rétention absolus des différentes molécules analysées avec la moyenne (n = 5 analyses) et la déviation standard.

Identité	Tr Moyen (min)	S.D.	C.V. %
DHMO	4,44	0,011	0,24
FA	5,14	0,016	0,30
THP	5,78	0,004	0,06
DH	6,35	0,002	0,04
#	6,79	0,002	0,03
#	7,35	0,004	0,05
#	7,39	0,004	0,05
HA	7,54	0,004	0,05

Tableau (V-4) : Temps de rétention moyens (minutes), déviation standard, coefficient de variation du mélange MH4

, DHMO : Dihydromorphone, HA : Halopéridol, DH : dimenhydrinate, [THP : Théophylline, standard interne], # conservateurs.

Ces valeurs démontrent que la séparation est **très reproductible** puisque le CV% sur les temps de rétention absolus est pratiquement toujours inférieur à 1%.

V - 1 - 3 Facteurs de résolution

Les tableaux (V-5, V-6, V-7, V-8) rassemblent les valeurs des facteurs de résolution calculés pour chaque groupe de deux pics successifs avec la moyenne (n=5) et la déviation standard.

Mélange (MH1)

Pics	Moyenne n=5	S.D.	C.V. (%)
1-2	17,0211	0,182	1,07
2-3	3,6376	0,026	0,72
3-4	4,2544	0,077	1,81
4-5	9,8126	0,043	0,44
5-6	26,0062	0,197	0,76

# Pic	Identité
1	#1
2	DHMO
3	FA
4	THP
5	#2
6	MI

Tableau (V-5) : Facteur de résolution R moyen, Écart type et C.V.% du mélange MH1

Mélange (MH2)

Résolution entre les pics	Moyenne n=5	S.D.	C.V. (%)
1-2	5,82	0,04	0,75
2-3	66,47	0,79	1,18
3-4	30,02	0,32	1,07

# du pic	Identité
1	DHMO
2	THP
3	ME
4	HA

Tableau (V-6) : Facteur de résolution R moyen, Ecart type et C.V.% du mélange MH2

Mélange (MH3)

Pics	Moyenne n=5	S.D.	C.V. (%)
1-2	4,32	0,064	1,47
2-3	7,45	0,205	2,75
3-4	15,59	0,071	0,45
4-5	18,80	0,156	0,83

# du pic	Identité
1	DHMO
2	FA
3	THP
4	ME
5	KE

Tableau (V-7) : Facteur de résolution R moyen, Ecart type et C.V.% du mélange MH3**Mélange (MH4)**

Pics	Moyenne n=5	S.D.	C.V. (%)
1-2	3,93	0,046	1,18
2-3	6,13	0,124	2,02
3-4	16,86	0,108	0,64
4-5	14,11	0,090	0,64
5-6	15,77	0,127	0,81
6-7	1,35	0,013	0,99
7-8	4,61	0,056	1,22

# du pic	Identité
1	DHMO
2	FA
3	THP
4	DH
5	#
6	#
7	#
8	HA

Tableau (V-8) : Facteur de résolution R moyen, Ecart type et C.V.% du mélange MH4

Le facteur de résolution est toujours supérieur à $R = 1.5$. En conséquence **tous les pics sont parfaitement résolus** avec retour à la ligne de base. Il n'y a **aucune interférence** entre les molécules à analyser et les différents conservateurs présents dans les préparations pharmaceutiques d'origine.

V -1 - 4 Facteur d'asymétrie

Les tableaux (V-9, V-10, V-11 et V-12) rassemblent les valeurs des facteurs d'asymétrie calculées pour tous les pics avec la moyenne (n=5) et la déviation standard.

Mélange (MH1)

Identité	Tr (min)	Facteur d'asymétrie	S. D.	C.V. (%)
#1	1,58	0,6611	0,0064	0,97
DHMO	3,68	0,3191	0,0034	1,07
FA	4,28	0,7291	0,0043	0,58
THP	4,70	0,8773	0,0039	0,44
#2	5,17	1,1158	0,0106	0,95
MI	6,70	0,8024	0,0046	0,57

Tableau (V-9) : Facteur d'asymétrie, déviation standard et C.V.% du mélange MH1

DHMO : Dihydromorphone, FA : Famotidine, MI : Midazolam. [THP : Théophylline, standard interne] (#) conservateurs.

Mélange (MH2)

Identité	Tr (min)	Facteur d'asymétrie	S. D.	C.V. (%)
DHMO	1,65	0,430	0,026	5,93
THP	2,02	0,669	0,004	0,56
ME	4,72	0,545	0,006	1,18
HA	5,59	0,491	0,005	1,06

Tableau (V-10) : Facteur d'asymétrie, déviation standard et C.V.% du mélange MH2

DHMO : Dihydromorphone, ME : Métoprolamide, HA : Halopéridol, [THP : Théophylline, standard interne]

Mélange (MH3)

Identité	Tr (min)	Facteur d'asymétrie	S. D.	C.V. (%)
DHMO	4,43	0,274	0,0028	1,02
FA	5,14	0,728	0,0173	2,38
THP	5,85	0,646	0,0022	0,35
ME	6,41	0,517	0,0014	0,28
KE	7,02	1,105	0,0111	1,01

Tableau (V-11) : Facteur d'asymétrie, déviation standard et C.V.% du mélange MH3

DHMO : Dihydromorphone, FA : Famotidine, ME : Métoclopramide, KE : Ketorolac, [THP : Théophylline, standard interne]

Mélange (MH4)

Identité	Tr (min)	Facteur d'asymétrie	S. D.	C.V. (%)
DHMO	4,44	0,273	0,0017	0,63
FA	5,14	0,705	0,0025	0,35
THP	5,78	0,612	0,0007	0,12
DH	6,35	0,638	0,0032	0,50
#	6,79	0,592	0,0008	0,14
#	7,35	0,722	0,0095	1,32
#	7,39	0,681	0,0125	1,83
HA	7,54	0,481	0,0078	1,62

Tableau (V-12) : Facteur d'asymétrie, déviation standard et C.V.% du mélange MH4

DHMO : Dihydromorphone, HA : Halopéridol, DH : dimenhydrinate, [THP : Théophylline, standard interne], # conservateurs.

Les valeurs des facteurs d'asymétrie montrent que tous les pics sont symétriques et que les conditions de l'intégration pour l'analyse quantitative sont tout à fait satisfaisantes.

V -1 - 5 Critère de pureté des pics chromatographique – sélectivité

Le critère de pureté des pics chromatographiques basé sur l'identité spectrale des spectres ultra-violet enregistrés tout au long de l'élution d'un pic permet de s'assurer que seul le produit à mesurer est bien présent dans ce pic. Tableau (V-13)

Temps de rétention (min)	Facteur de pureté de pic	Composé
3.624 MH1	998.342	Dihydromorphone
4.206 MH1	999.357	Famotidine
4.692 MH1	999.784	Théophylline
5.173 MH 1	999.997	Alcool benzylique (MI)
6.702 MH 1	999.999	Midazolam
1.644 MH2	997.725	Dihydromorphone
2.015 MH 2	999.971	Théophylline
4.718 MH 2	999.999	Métoclopramide
5.589 MH 2	999.998	Halopéridol
4.609 MH 3	999.961	Dihydromorphone
5.396 MH 3	999.602	Famotidine
6.414 MH 3	999.996	Métoclopramide
7.039 MH 3	999.996	Kétorolac
4.425 MH 4	999.758	Dihydromorphone
5.125 MH4	999.535	Famotidine
5.770 MH 4	999.817	Théophylline
6.345 MH 4	997.538	Dimenhydrinate
7.532 MH4	999.993	Halopéridol

Tableau (V-13) : Facteurs de pureté des pics chromatographiques correspondant aux molécules à analyser

En outre, les composés analysés ont été **identifiés** à partir de solutions standard (référence) par leur temps de rétention et leur spectre ultra-violet enregistré à l'apex du pic chromatographique.

V - 2 – Paramètres de l'analyse quantitative dans les conditions définitives

V - 2 - 1 Répétabilité des mesures de surfaces de pics

Les tableaux (V-14, V-15, V-16, V-17) rassemblent les valeurs des moyennes (n=5) , S.D. et CV% des surfaces des pics chromatographiques mesurées dans les conditions définitives.

Mélange (MH1)

Identité	Tr (min)	Surfaces des pics	S.D.	C.V. (%)
#1	1,58	10,79	0,1655	1,53
DHMO	3,68	396,88	0,2659	0,07
FA	4,28	226,12	0,4126	0,18
THP	4,70	1124,77	0,7913	0,07
#2	5,17	43,25	0,3943	0,91
MI	6,70	377,45	0,3655	0,10

Tableau (V-14): Surfaces absolues des pics chromatographiques n=5 du mélange MH1

Mélange (MH2)

Identité	Tr (min)	Surfaces des pics	S.D.	C.V. (%)
DHMO	1,65	882,23	13,1	1,49
THP	2,02	1247,19	1,5	0,12
ME	4,72	175,67	0,3	0,17
HA	5,59	434,86	0,7	0,16

Tableau (V-15): Surfaces absolues des pics chromatographiques n=5 du mélange MH2

Mélange (MH3)

Identité	Tr (min)	Surfaces des pics	S.D.	C.V. (%)
DHMO	4,43	919,2	1,09	0,12
FA	5,14	163,9	0,41	0,25
THP	5,85	1045,7	0,43	0,04
ME	6,41	189,7	0,16	0,08
KE	7,02	32,5	0,23	0,71

Tableau (V-16): Surfaces absolues des pics chromatographiques n=5 du mélange MH3

Mélange (MH4)

Identité	Tr (min)	Surfaces des pics	S.D.	C.V. (%)
DHMO	4,44	510,98	0,47	0,09
FA	5,14	292,11	0,47	0,16
THP	5,78	3173,98	3,02	0,10
DH	6,35	1968,39	2,78	0,14
#	6,79	85,23	0,08	0,09
#	7,35	39,50	0,22	0,55
#	7,39	41,74	0,42	1,00
HA	7,54	82,49	1,63	1,98

Tableau (V-17): Surfaces absolues des pics chromatographiques n=5 du mélange MH4

V - 2 - 2 Répétabilité des mesures de rapports de surfaces de pics

Les tableaux (V-18, V-19, V-20 et V-21) rassemblent les valeurs des moyennes (n=5) , S.D. et CV% des rapports des surfaces des pics chromatographiques mesurées dans les conditions définitives par rapport à la surface du pic d'étalon interne (THP).

Mélange (MH1)

Identité	Tr (min)	Rapport des surfaces M/SI	S.D.	C.V. (%)
#1	1,58	0,0096	0,00015	1,54
DHMO	3,68	0,3529	0,00029	0,08
FA	4,28	0,2010	0,00044	0,22
THP	4,70	1,0000	0,00000	0,00
#2	5,17	0,0384	0,00035	0,90
MI	6,70	0,3356	0,00013	0,04

Tableau (V-18): Rapports de surfaces des pics chromatographiques n=5 du mélange MH1

Mélange (MH2)

Identité	Tr (min)	Rapport des surfaces M/SI	S.D.	C.V. (%)
DHMO	1,65	0,707	0,00980	1,38
THP	2,02	1,000	0,00000	0,00
ME	4,72	0,141	0,00009	0,06
HA	5,59	0,349	0,00035	0,10

Tableau (V-19): Rapports de surfaces des pics chromatographiques n=5 du mélange MH2

Mélange (MH3)

Identité	Tr (min)	Rapport des surfaces M/SI	S.D.	C.V. (%)
DHMO	4,43	0,8790	0,0008	0,09
FA	5,14	0,1567	0,0004	0,23
THP	5,85	1,0000	0,0000	0,00
ME	6,41	0,1814	0,0001	0,04
KE	7,02	0,0311	0,0002	0,74

Tableau (V-20): Rapports de surfaces des pics chromatographiques n=5 du mélange MH3**Mélange (MH4)**

Identité	Tr (min)	Rapport des surfaces M/SI	S.D.	C.V. (%)
DHMO	4,44	0,1610	0,000072	0,04
FA	5,14	0,0920	0,000214	0,23
THP	5,78	1,0000	0,000000	0,00
DH	6,35	0,6202	0,001080	0,17
#	6,79	0,0269	0,000022	0,08
#	7,35	0,0124	0,000058	0,47
#	7,39	0,0132	0,000119	0,90
HA	7,54	0,0260	0,000495	1,91

Tableau (V-21): Rapports de surfaces des pics chromatographiques n=5 du mélange MH4**V - 2 - 3 Répétabilité des mesures de hauteurs des pics**

Les tableaux (V-22, V-23, V-24 et V-25) rassemblent les valeurs des moyennes (n=5), S.D. et CV% des hauteurs des pics chromatographiques mesurées dans les conditions définitives.

Mélange (MH1)

Identité	Tr (min)	Hauteur	S.D.	C.V. (%)
#1	1,58	2,47	0,027	1,11
DHMO	3,68	33,59	0,360	1,07
FA	4,28	22,74	0,286	1,26
THP	4,70	394,17	0,783	0,20
#2	5,17	12,75	0,025	0,20
MI	6,70	87,72	0,097	0,11

Tableau (V-22): Hauteurs des pics chromatographiques n=5 du mélange MH1

Mélange (MH2)

Identité	Tr (min)	Moyenne	S.D.	C.V. (%)
DHMO	1,65	182,05	0,84	0,46
THP	2,02	340,90	0,99	0,29
ME	4,72	98,39	0,44	0,44
HA	5,59	207,46	1,46	0,70

Tableau (V-23): Hauteurs des pics chromatographiques n=5 du mélange MH2**Mélange (MH3)**

Identité	Tr (min)	Moyenne	S.D.	C.V. (%)
DHMO	4,43	67,04	0,41	0,60
FA	5,14	15,03	0,04	0,29
THP	5,85	315,32	1,40	0,44
ME	6,41	122,52	0,37	0,30
KE	7,02	10,89	0,09	0,81

Tableau (V-24): Hauteurs des pics chromatographiques n=5 du mélange MH3**Mélange (MH4)**

Identité	Tr (min)	Hauteur	S.D.	C.V. (%)
DHMO	4,44	37,3	0,17	0,45
FA	5,14	26,3	0,17	0,65
THP	5,78	1151,5	6,24	0,54
DH	6,35	1086,8	1,86	0,17
#	6,79	34,5	0,08	0,23
#	7,35	18,2	0,13	0,70
#	7,39	19,4	0,09	0,48
HA	7,54	37,4	0,21	0,56

Tableau (V-25): Hauteurs des pics chromatographiques n=5 du mélange MH4

Ces quatre séries de mesures montrent que les surfaces de pics, rapports de surfaces et hauteurs de pics chromatographiques sont parfaitement répétables.

V - 2 - 4 Fonctions d'étalonnage

Les normes permettant d'établir la stabilité des composés étudiés, correspondent à une décroissance inférieure à 10% de la concentration initiale à la fin de l'intervalle de conservation.

Ainsi, les fonctions d'étalonnage ont été calculées en utilisant 3 points correspondant à la concentration initiale (à T=0) et cette concentration plus et moins 10%. Chaque concentration a été mesurée 3 fois. Le tableau (V-26) récapitule les concentrations utilisées :

Produit	Concentration initiale dans la seringue (mg/mL)	Concentration initiale après dilution ($\mu\text{g/mL}$)	Concentration initiale après dilution -10% ($\mu\text{g/mL}$)	Concentration initiale après dilution +10% ($\mu\text{g/mL}$)
Dihydromorphone	10,00	400,00	440,00	360,00
Dimenhydrinate	5,00	200,00	220,00	180,00
Kétorolac	1,50	60,00	66,00	54,00
Midazolam	1,00	40,00	44,00	36,00
Métoclopramide	0,50	20,00	22,00	18,00
Halopéridol	0,50	20,00	22,00	18,00
Famotidine	0,40	16,00	17,60	14,40

Tableau (V-26) - Concentrations utilisées pour le test de linéarité

La théophylline a été utilisée comme étalon interne et introduite dans les échantillons à la concentration de 80 $\mu\text{g/mL}$.

Le tableau (V-27) rassemble les valeurs de fonctions d'étalonnage du mélange MH1.

PRODUIT	FONCTION	r
Dihydromorphone	$0,0012x - 0,0076$	0,9985
Midazolam	$0,0400x + 0,0339$	0,9998
Famotidine	$0,0109x + 0,0151$	0,9991

Tableau (V-27) Fonctions d'étalonnage du mélange MH1

Le tableau (V-28) rassemble les valeurs de fonctions d'étalonnage du mélange MH2.

PRODUIT	FONCTION	r
Dihydromorphone	$0,0016x + 0,031$	0,9933
Métoclopramide	$0,0151x - 0,0031$	0,9998
Halopéridol	$0,0084x + 0,0056$	0,9979

Tableau (V-28) Fonctions d'étalonnage du mélange MH2

La théophylline a été utilisée comme étalon interne et introduite dans les échantillons à la concentration de 100 µg/mL.

Le tableau (V-29) rassemble les valeurs de fonctions d'étalonnage du mélange MH3.

PRODUIT	FONCTION	r
Dihydromorphone	$0,0009x - 0,0049$	0,9999
Kétorolac	$0,0147x + 0,0008$	0,9999
Métoclopramide	$0,0058x - 0,0063$	0,9999
Famotidine	$0,0097x - 0,0033$	0,9968

Tableau (V-29) Fonctions d'étalonnage du mélange MH3

La théophylline a été utilisée comme étalon interne et introduite dans les échantillons à la concentration de 100 µg/mL.

Le tableau (V-30) rassemble les valeurs de fonctions d'étalonnage du mélange MH4.

PRODUIT	FONCTION	r
Dihydromorphone	$0,0006x - 0,0007$	0,9996
Dimenhydrinate	$0,0112x + 0,0107$	0,9993
Halopéridol	$0,0250x - 0,0090$	0,9979
Famotidine	$0,0086x + 0,0097$	0,9940

Tableau (V-30) Fonctions d'étalonnage du mélange MH4

La valeur des coefficients de régression indique une excellente linéarité dans la zone +/- 10%.

V - 3 – Résultats de l'étude de stabilité

Les tableaux suivants (V-31) et (V-32) rassemblent les résultats des mesures de concentrations exprimées en pourcentage restant aux différents temps de mesure pour les différentes solutions médicamenteuses et dans les conditions de température de 4 et 25 degrés C.

Temps (heures)	0	4	7	12	24	48	72	96
Mélange MH1 – 4 degrés								
Dihydromorphone	100	**	101,27	100,57	100,32	101,23	101,40	100,78
Midazolam	100	**	100,88	99,93	99,29	100,92	100,51	99,88
Famotidine	100	**	100,94	100,60	100,67	98,88	101,94	100,17
Mélange MH2 – 4 degrés								
Dihydromorphone	100,00	100,63	101,14	101,27	100,58	102,03	102,84	100,94
Métoclopramide	100,00	100,91	101,49	101,77	100,69	102,19	102,83	101,19
Halopéridol	100,00	100,44	100,93	100,52	87,00	69,14	59,55	54,72
Mélange MH3 – 4 degrés								
Dihydromorphone	100,00	99,96	99,73	99,76	100,60	100,47	100,23	101,56
Kétorolac	100,00	99,89	99,76	99,62	99,71	99,71	99,43	100,58
Métoclopramide	100,00	100,04	99,93	99,83	100,18	100,17	100,11	101,21
Famotidine	100,00	99,93	99,65	99,92	99,90	100,05	99,73	101,48
Mélange MH4 – 4 degrés								
Dihydromorphone	100,00	100,43	100,40	100,53	101,28	100,59	99,79	100,44
Diménhydrinate	100,00	99,97	100,65	100,66	91,02	82,28	81,33	87,71
Halopéridol	100,00	99,59	100,35	100,39	100,83	99,54	98,58	98,17
Famotidine	100,00	100,11	100,99	101,39	101,94	101,04	99,84	100,93

Tableau (V-31) : Pourcentages restant de chacun des médicaments dans les mélanges étudiés à 4 °C.

(nd = non déterminé)

(**) Par suite d'une panne du système analytique la détermination à 4 heures n'a pas été faite.

Temps (heures)	0	4	7	12	24	48	72	96
Mélange MH1 – 25 degrés								
Dihydromorphone	100	**	100,23	99,91	100,30	101,79	101,14	99,94
Midazolam	100	**	100,23	99,91	100,30	101,79	101,14	99,94
Famotidine	100	**	99,67	99,54	100,61	97,57	99,70	97,78
Mélange MH2 – 25 degrés								
Dihydromorphone	100,00	99,63	99,93	99,83	100,44	100,85	100,83	101,76
Métoclopramide	100,00	100,56	100,00	99,98	100,17	100,66	100,48	101,50
Halopéridol	100,00	100,19	99,63	99,60	99,99	100,28	100,37	101,41
Mélange MH3 - 25 degrés								
Dihydromorphone	100,00	99,66	99,63	99,74	100,37	100,55	100,21	100,74
Kétorolac	100,00	99,44	99,11	99,11	98,28	98,36	97,33	97,46
Métoclopramide	100,00	100,73	99,67	99,79	100,10	100,17	99,84	100,93
Famotidine	100,00	99,56	99,29	99,86	99,57	99,54	99,34	100,12
Mélange MH4 - 25 degrés								
Dihydromorphone	100,00	99,93	100,12	100,01	99,40	99,33	100,02	99,59
Diménhydrinate	100,00	99,83	99,74	99,26	87,72	92,87	90,28	94,46
Halopéridol	100,00	99,89	99,99	99,88	99,04	98,93	99,60	99,40
Famotidine	100,00	100,54	101,18	101,24	100,13	100,39	100,64	100,46

Tableau (V-32) : Pourcentages restant de chacun des médicaments dans les mélanges étudiés à 25 °C.

CONSERVATION DES SOLUTIONS CONGELÉES

Pour l'étude de conservation des solutions congelées, les solutions ont été préparées comme pour les études de stabilité aux autres températures.

Les solutions ont été préparées, congelées à -20°C . Une analyse a eu lieu au temps zéro, avant congélation et une en point final après plusieurs jours de congélation. Avant l'analyse, les seringues ont été dégelées à la température ordinaire sous agitation. L'échantillon analytique a été préparé dans les conditions décrites précédemment pour les essais à 4°C et 25°C . La théophylline a été utilisée comme standard interne. Les mesures ont été réalisées en duplicata.

Le tableau (V-33) rassemble les résultats des mesures de concentrations exprimées en pourcentage restant au temps zéro et en point final de l'étude pour les différentes solutions médicamenteuses conservées à -20 °C.

Mélange MH1 – à (-20°)		
Temps (jours)	0	7
Dihydromorphone	100.00	99.85
Famotidine	100.00	98.65
Miodazolam	100.00	99.85

Mélange MH2– à (-20°)		
Temps (jours)	0	36
Dihydromorphone	100.00	78.23
Métoclopramide	100.00	82.16
Haloperidol	100.00	37.28

Mélange MH3– à (-20°)		
Temps (jours)	0	9
Dihydromorphone	100.00	74.94
Famotodone	100.00	79.06
Métoclopramide	100.00	78.24
Ketorolac	100.00	77.75

Mélange MH4– à (-20°)		
Temps (jours)	0	23
Dihydromorphone	100.00	86.19
Famotidine	100.00	87.31
Dimenhydrinate	100.00	90.99
Haloperidol	100.00	86.88

Tableau (V-33) : Pourcentages restant de chacun des médicaments dans les mélanges congelés contenant de l'hydromorphone au temps final.

CONCLUSIONS

- Le mélange (MH1) contenant **la Dihydromorphone, Midazolam, Famotidine** est stable pendant 96 heures à 25 et à 4 degrés C.
- Le mélange (MH2) : **Dihydromorphone, Métopropramide, Halopéridol** est stable pendant 96 heures à températures de 25 degrés. Par contre la stabilité n'est que de 12 heures à la température de 4 degrés. En effet la concentration en Halopéridol décroît régulièrement à partir de 12 heures (100,52 %) et passe en dessous de la limite de stabilité à 24 heures (87,00%), elle diminue de façon considérable à 48 heures (69,14%) alors que des cristaux apparaissent sur les parois des seringues. Les autres constituants sont stables aux températures 4 et 25 degrés jusqu'à 96 heures.
- Le mélange (MH3) : **Dihydromorphone, Métopropramide, Kétorolac, Famotidine** est stable pendant 96 heures à 25 et à 4 degrés C.
- Le mélange (MH4) : **Dihydromorphone, Dimenhydrinate, Halopéridol, Famotidine, Scopolamine** est stable pendant 12 heures à 25 et à 4 degrés et incompatible après 24 heures aux températures 4 et 25 degrés. En effet la concentration en Dimenhydrinate décroît régulièrement à partir de 12 heures (100,66%) et diminue jusqu'à la limite de stabilité à 24 heures (90,65%), elle diminue ensuite à 48 heures (82,28%) alors que des cristaux apparaissent en suspension et sur les parois des seringues. Les autres constituants sont stables aux températures 4 et 25 degrés jusqu'à 96 heures.

V - 4 - Résultats de l'étude de compatibilité

- Préparation de la solution (MH1): **Dihydromorphone(DHMO) + Midazolam (MI)**
+ Famotidine (FA)

DHMO = solution jaune transparente, limpide

MI = solution limpide incolore

DHMO + MI = solution jaune limpide = pas d'incompatibilité

FA = Famotidine = solution limpide incolore

DHMO + MI + FA = solution jaune limpide = pas d'incompatibilité

Conservation :

Mélange MH1 à 25 degrés

Temps (heures)	0	4	7	12	24	48	72	96
Dihydromorphone	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Midazolam	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Famotidine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP

Mélange MH1 à 4 degrés

Temps (heures)	0	4	7	12	24	48	72	96
Dihydromorphone	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Midazolam	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Famotidine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP

Tableau (V-34) : Résultats de compatibilité du mélange MH1.

Conclusion : compatibilité observée sur toutes les seringues à tous les temps, à 4 et 25 degrés

- Préparation du mélange (MH2) : **Dihydromorphone (DHMO) + Métoclopramide (ME) + Halopéridol (HA).**

DHMO = solution jaune transparente, limpide

ME = solution limpide incolore

MO + ME = solution jaune limpide = pas d'incompatibilité

HA = solution limpide incolore

DHMO + ME + HA = solution jaune limpide = pas d'incompatibilité

Mélange MH2 à 25 degrés								
Temps (heures)	0	4	7	12	24	48	72	96
Dihydromorphone	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Métoclopramide	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Halopéridol	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP

Mélange MH2 à 4 degrés								
Temps (heures)	0	4	7	12	24	48	72	96
Dihydromorphone	COMP	COMP	COMP	COMP	INC	INC	INC	INC
Métoclopramide	COMP	COMP	COMP	COMP	INC	INC	INC	INC
Halopéridol	COMP	COMP	COMP	COMP	INC	INC	INC	INC

Tableau (V-35) : Résultats de compatibilité du mélange MH2.

A partir de 24 heures, il y a l'apparition de cristaux collés sur les parois des seringues. Les cristaux qui se forment sont transparents et de la taille d'un grain de sel, de forme irrégulière. Ils se fixent sur les parois de la seringue.

Si on laisse revenir la seringue à la température ordinaire sous agitation, les cristaux ne se redissolvent pas totalement.

Les cristaux ont été récupérés pour analyse ultérieure.

Conclusion : solution compatible à 25 degrés , incompatible après 24 heures à 4 degrés par formation de cristaux et diminution de 47 % de la concentration en Halopéridol.

- Préparation du mélange (MH3): **Dihydromorphone (DHMO) + Kétorolac (KE) + Métoclopramide (ME) + Famotidine (FA).**

DHMO = solution jaune transparente, limpide

KE = solution limpide incolore

DHMO + KE = solution jaune limpide = pas d'incompatibilité

ME = solution limpide incolore

DHMO + KE + ME = solution jaune limpide = pas d'incompatibilité

FA = solution limpide incolore

MO + KE + ME + FA = solution jaune limpide = pas d'incompatibilité

Mélange MH3 à 25 degrés

Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
Dihydromorphone	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Kétorolac	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Métoclopramide	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Famotidine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP

Mélange MH3 à 4 degrés

Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
Dihydromorphone	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Kétorolac	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Métoclopramide	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP
Famotidine	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP	COMP

Tableau (V-36) : Résultats de compatibilité du mélange MH3.

Conclusion : compatibilité observée sur toutes les seringues à tous les temps , à 4 et 25 degrés

➤ Préparation de la solution (MH4): **Dihydromorphone (DHMO) + Diménhydrinate (DH) + Halopéridol (HA) + Famotidine (FA) + Scopolamine (SCO).**

DHMO = solution jaune transparente, limpide

DH = solution limpide incolore

DHMO + DH = solution jaune limpide = pas d'incompatibilité

HA = solution limpide incolore

MO + DH + HA = solution jaune limpide = pas d'incompatibilité

FA = solution limpide incolore

DHMO + DH + HA + FA = solution jaune limpide = pas d'incompatibilité

SCO = solution limpide incolore

DHMO + DH + HA + FA + SCO = solution jaune limpide = pas d'incompatibilité

Mélange MH4 à 25 degrés

Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
Dihydromorphone	COMP	COMP	COMP	COMP	INC	INC	INC	INC
Famotidine	COMP	COMP	COMP	COMP	INC	INC	INC	INC
Diménhydrinate	COMP	COMP	COMP	COMP	INC	INC	INC	INC
Halopéridol	COMP	COMP	COMP	COMP	INC	INC	INC	INC

Mélange MH4 à 4 degrés

Temps (heures)	0	4	8	12	24	48	72	96
Dihydromorphone	COMP	COMP	COMP	COMP	INC	INC	INC	INC
Famotidine	COMP	COMP	COMP	COMP	INC	INC	INC	INC
Diménhydrinate	COMP	COMP	COMP	COMP	INC	INC	INC	INC
Halopéridol	COMP	COMP	COMP	COMP	INC	INC	INC	INC

Tableau (V-37) : Résultats de compatibilité du mélange MH4.

Conclusion : compatibilité observée sur toutes les seringues jusqu'à 12 heures , à 24 heures le mélange est incompatible aux températures 4 et 25 degrés

**V -5 - Étude des cristaux apparaissant dans la solution (2) :
Dihydromorphone, Métopropramide, Halopéridol conservée à 4 degrés**
C.

- Les cristaux apparus lors de la conservation du mélange 2 : Dihydromorphone (DHMO) , Métopropramide (ME), Halopéridol (HA) conservée à 4°C ont été récupérés par grattage de la paroi des seringues. Les cristaux ne sont pas solubles dans le méthanol. Ils ont été solubilisés dans l'eau dans un bain à ultrasons. La solution résultante a été analysée dans les conditions habituelles.

La figure (5-11) montre le tracé chromatographique obtenu.

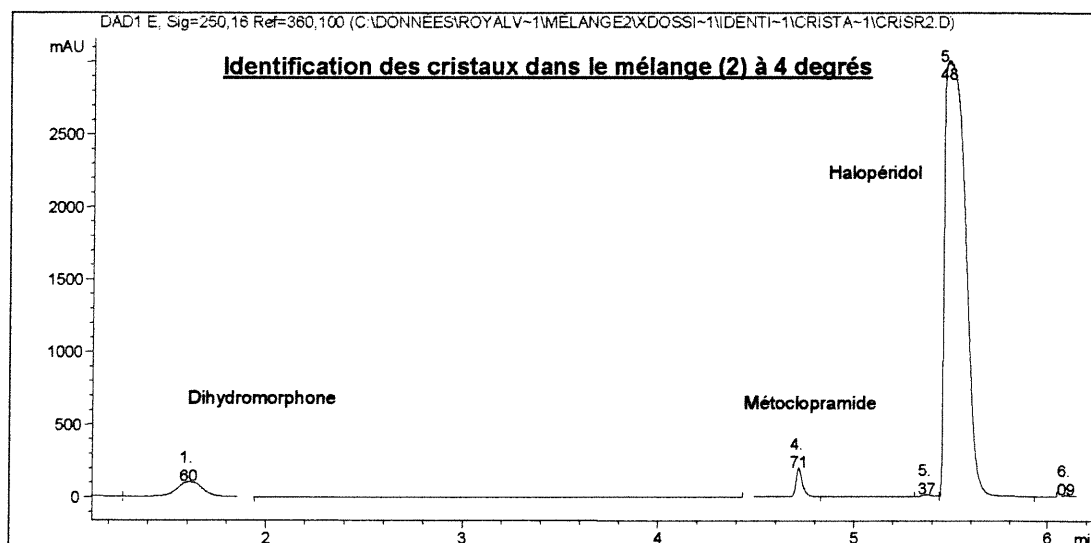


Figure (5-11) Tracé chromatographique de la solution obtenue à partir des cristaux apparus à 4°C dans le mélange 2.

On peut observer sur ce chromatogramme la présence d'un pic chromatographique extrêmement intense correspondant à l'halopéridol. (et des traces des autres constituants du mélange provenant de la seringue car les cristaux n'ont pas été rincés avant leur dissolution).

Le spectre UV enregistré dans le pic chromatographique est présenté sur la figure (5-12) avec celui d'un échantillon de référence d'halopéridol. On peut constater que ces deux spectres sont identiques ce qui valide l'identification de l'halopéridol dans les cristaux analysés.

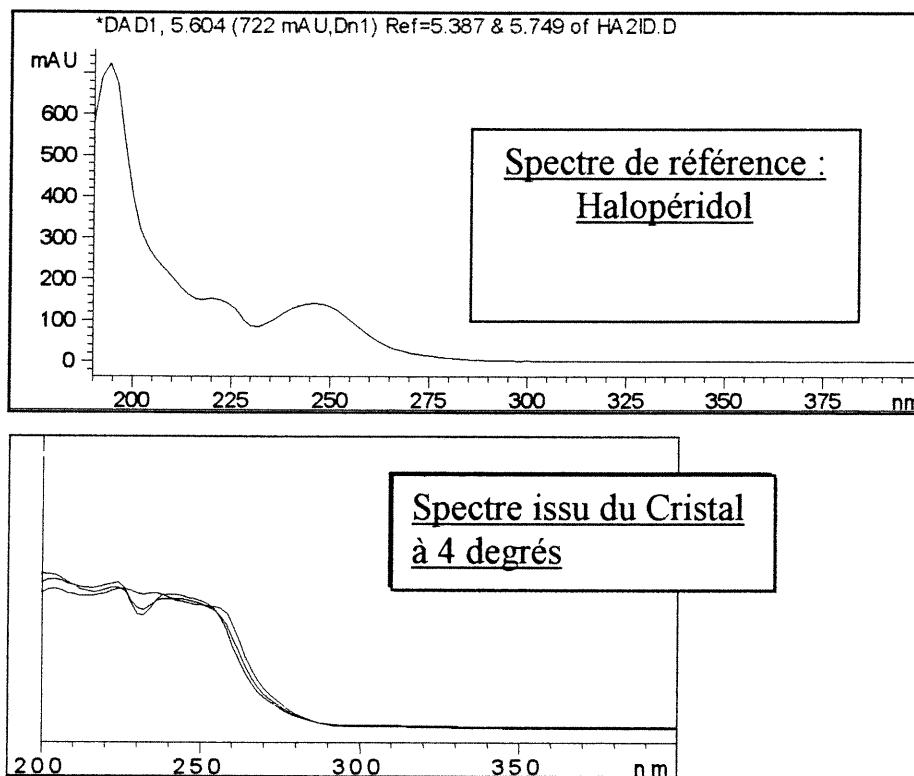


Figure (5-12) Spectres UV de l'halopéridol en solution pure (référence) et issu du cristal formé dans le mélange 2

- En conséquence, après 24 heures de conservation à 4°C dans un mélange contenant : Dihydromorphone (DHMO), Métoclopramide (ME), Halopéridol (HA), l'halopéridol cristallise et les cristaux de fixent sur les parois. Ce phénomène est responsable de la diminution de concentration de 47 % de l'halopéridol constatée entre 12 et 96 heures de conservation dans ces conditions de température.

CONCLUSION GENERALE :

Des solutions médicamenteuses contenant de la Dihydromorphone associée à plusieurs autres médicaments utilisés pour les soins palliatifs ont été étudiées quant à leur **compatibilité et leur stabilité**. L'étude a nécessité la mise au point d'une méthode d'analyse par chromatographie liquide et gradient d'élution avec détection simultanée à plusieurs longueurs d'onde à l'aide d'un détecteur à barrette de photodiodes pour obtenir un maximum de sensibilité et de spécificité.

Les solutions médicamenteuses ont été préparées dans les conditions mêmes de leur utilisation. Le solvant d'élution utilisé était un mélange de tampon phosphate à pH 4.6 et d'acétonitrile utilisé en gradient.

Dans ces conditions :

- le coefficient de variation moyen sur les **temps de rétention** est inférieur à 1%
- Les **facteurs de résolution** entre chaque couple de deux pics chromatographiques successifs est toujours supérieur à 1.5. Ainsi tous les pics chromatographiques reviennent à la ligne de base.
- Les **facteurs d'asymétrie** des pics, montrent que les pics sont tous symétriques et que les conditions d'intégration sont excellentes.
- Les **facteurs de pureté** des pics sont tous inférieurs à la limite : tous les pics sont chromatographiquement purs.
- **La répétitivité des mesures de surface** des pics est en moyenne inférieure à 1% (CV%)
- **La répétitivité des mesures des rapports de surface** des pics est en moyenne inférieure à 1% (CV%)
- **La répétitivité des mesures de hauteurs** des pics est en moyenne inférieure à 1% (CV%)

- Les fonctions d'étalonnage montrent une **excellente linéarité ($r > 0.99$)** pour tous les produits analysés dans la zone (90% -110% de la valeur de concentration au temps zéro)

Dans ces conditions :

- Le mélange (1) contenant **la Dihydromorphone, Midazolam, Famotidine** est stable pendant 96 heures à 25 et à 4 degrés C.
- Le mélange (2) : **Dihydromorphone, Métopropramide, Halopéridol** est stable pendant 96 heures à températures de 25 degrés. Par contre la stabilité n'est que de 12 heures à la température de 4 degrés. En effet la concentration en Halopéridol décroît régulièrement à partir de 12 heures (100,52 %) et passe en dessous de la limite de stabilité à 24 heures (87,00%) , elle diminue de façon considérable à 48 heures (69,14%) alors que des cristaux apparaissent sur les parois des seringues. Les autres constituants sont stables aux températures 4 et 25 degrés jusqu'à 96 heures.
- Le mélange (3) : **Dihydromorphone, Métopropramide, Kétorolac, Famotidine** est stable pendant 96 heures à 25 et à 4 degrés C.
- Le mélange (4) : **Dihydromorphone, Dimenhydrinate, Halopéridol, Famotidine, Scopolamine** est stable pendant 12 heures à 25 et à 4 degrés et incompatible après 24 heures aux températures 4 et 25 degrés. En effet la concentration en Dimenhydrinate décroît régulièrement à partir de 12 heures (100,66%) et diminue jusqu'à la limite de stabilité à 24 heures (90,65%) , elle diminue ensuite à 48 heures (82,28%) alors que des cristaux apparaissent en suspension et sur les parois des seringues. Les autres constituants sont stables aux températures 4 et 25 degrés jusqu'à 96 heures.

CONCLUSION DISCUSSION

DISCUSSION CONCLUSION

Pour atteindre les objectifs de l'étude, nous avons mis en œuvre une méthodologie qui comporte les étapes suivantes :

- Mise au point et validation des méthodes de dosage des constituants des mélanges thérapeutiques par HPLC-DAD.
- Préparation des solutions thérapeutiques et mise aux conditions requises de conservation.
- Étude de compatibilité.
- Étude de stabilité par dosage de tous les constituants des mélanges sur une période de 96 heures.

En suivant cette méthodologie, nous avons réalisé tous les objectifs de ce projet qui étaient répartis en deux phases d'étude. Dans la première phase nous avons étudié la compatibilité et stabilité des mélanges thérapeutiques à base de morphine et la deuxième phase nous avons étudié la compatibilité et stabilité des mélanges thérapeutiques à base d'hydromorphone.

Phase I : Étude de mélanges thérapeutiques à base de Morphine

Pour l'évaluation de la **compatibilité et de la stabilité** de mélanges thérapeutiques en solution, contenant de la morphine (M1 à M5) dans une seringue de polypropylène dans différentes conditions de conservation et en fonction du temps (durant une période de 96 heures), **nous avons développé et validé une méthode unique rapide, robuste et répétable**, capable de séparer et quantifier simultanément tous les médicaments et les conservateurs contenus dans les mélanges (M1, M2, M3, M4, M5) (Voir les sections IV-1 et IV-2).

Nos résultats montrent que :

Les mélanges : **(M1)** Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Dexaméthasone 0.40 mg.mL⁻¹, Octréotide 0.01 mg.mL⁻¹, **(M4)** Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹,

Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, Métopropramide 0.50 mg mL⁻¹ et (M5) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Octréotide 0.01 mg mL⁻¹, Halopéridol 0.50 mg mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, Métopropramide 0.50 mg.mL⁻¹, Diménhydrinate 5.00 mg.mL⁻¹ sont **stables et compatibles** durant **96 heures à 25°C et à 4°C**.

Le mélange (M3) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Octréotide 0.01 mg.mL⁻¹, Halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹, Midazolam 1.00 mg.mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹ est **stable à 25°C**. Par contre, (M3) est **incompatible après 24 heures** lorsqu'il est conservé à **4°C**.

Le mélange (M2) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Dexaméthasone 0.40 mg.mL⁻¹, Halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹ est **incompatible au moment du mélange** quel que soit l'ordre des médicaments mélangés (Voir la section IV-3, pages 60 et 61).

Les mélanges (M3) et (M5) sont **stables**, respectivement, après **99 et 36 jours** de congélation. Le mélange (M3) est stable lorsqu'il est congelé tandis qu'il ne l'est pas dans le réfrigérateur à 4°C parce que le phénomène de la congélation de la solution est plus rapide que celui de la cristallisation de l'halopéridol.

Les mélanges (M1) et (M4) sont **instables**, respectivement, après **57 et 29 jours** de congélation à -20°C. (Voir la section IV-3, pages 62 à 65)

Pour assurer la stabilité et la compatibilité des mélanges contenant de la morphine mélangée avec les différents médicaments utilisés pour les soins palliatifs, **nous recommandons** de **conserver** le mélange (M3) **uniquement à la température ambiante** afin d'éviter le phénomène de la **cristallisation** de l'halopéridol qui se produit à 4°C (Voir section IV-5, page 71). De plus, nous ne recommandons pas la préparation du mélange (M2) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Dexaméthasone 0.40 mg.mL⁻¹, Halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹ parce qu'il est **incompatible** au moment du mélange dû à l'incompatibilité de l'halopéridol avec de la dexaméthasone. On a **le choix** de conserver les mélanges (M1), (M4) et (M5) à 4°C ou à 25°C.

On conseille de conserver les mélanges (M1) et (M5) à 4°C parce qu'ils contiennent de l'octréotide qui doit être réfrigéré, selon les recommandations du fabricant, pour assurer sa stabilité. De plus, la conservation à 4°C des produits injectables diminue le risque de la prolifération bactérienne [53]. **La congélation n'est pas recommandée** pour la conservation des médicaments pour éviter que les médicaments ne soit pas homogènes au moment de leur administration et pour éviter que les médicaments soient décongelés en utilisant une source de chaleur comme le soleil, ce qui peut dégrader les produits sensibles à la lumière, ou le micro-onde qui pourra provoquer des réactions chimiques entre les constituants du mélange.

Phase II : Étude des mélanges thérapeutiques à base d'Hydromorphone

On a développé et validé quatre méthodes rapides, robustes et répétables, permettant la séparation et la quantification des constituants des mélanges contenant de l'hydromorphone pour évaluer leur **compatibilité et leur stabilité** en solution, dans des seringues de polypropylène, dans différentes conditions de conservation et en fonction du temps (durant une période de 96 heures). Chaque méthode est conçue pour séparer et quantifier les médicaments et les conservateurs contenus dans un des quatre mélanges en particulier. Ces méthodes ont permis de séparer et quantifier les médicaments et les conservateurs contenus dans les mélanges (MH1, MH2, MH3 et MH4). (Voir les sections V-1 et V-2).

Nos résultats montrent que :

Les mélanges (MH1) et (MH3) sont **stables** durant **96 heures à 25°C et à 4°C** où (MH1) contient Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, midazolam 1.00 mg.mL⁻¹, famotidine 0.40 mg.mL⁻¹ et (MH3) contient Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, kétorolac 1.50 mg.mL⁻¹, métoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹, famotidine 0.40 mg.mL⁻¹.

Le mélange (MH2) est stable et compatible durant 96h à 25 °C mais il n'est ni stable, ni compatible après 12 h à 4 °C où (MH2) contient Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, métoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹, halopéridol 0.50 mg.mL⁻¹.

Le mélange (MH4) est stable pendant 12 heures à 4 °C et à 25 °C et incompatible après 24h aux deux températures 25 °C et 4 °C où (MH4) contient Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, diménhydrinate 5.00 mg.mL⁻¹, halopéridol, famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, scopolamine 0.04 mg.mL⁻¹.

Le mélange (MH1) est stable après 7 jours au congélateur à -20°C.

Les mélanges (MH2), (MH3), (MH4) sont instables, respectivement, après 36, 9, 23 jours de congélation à -20°C (Voir la section V-3, pages 97 à 100).

Pour assurer la stabilité et la compatibilité des mélanges contenant de la morphine mélangée avec les différents médicaments utilisés pour les soins palliatifs, **nous recommandons** de conserver le mélange (MH2) **uniquement à la température ambiante** afin d'éviter le phénomène de la **crystallisation** de l'halopéridol qui se produit à 4°C (Voir section V-5, page 105). De plus, nous ne recommandons pas la conservation du mélange (MH4), aussi bien à 4°C qu' à 25°C, pour une durée excédant 12 heures en raison de la formation des cristaux au bout de 24 heures. Pour la conservation des mélanges (MH1) et (MH3), on a le **choix** de les conserver à **4°C ou à 25°C**.

On conseille de les conserver à 4°C pour diminuer le risque de la prolifération bactérienne. **La congélation n'est pas recommandée** pour la conservation des médicaments.

➤ Justification des méthodes employées :

Nous avons opté pour une technique d'analyse par chromatographie liquide parce que la chromatographie liquide est une méthode facile à opérer qui permet maintenant de séparer de très nombreuses molécules. Nous n'avons pas utilisé la chromatographie

gazeuse (GC) parce qu'elle est désavantagée par le fait qu'elle ne permet pas d'analyser les produits dont la température d'ébullition est élevée ou qui se dégradent à haute température. Ces conditions limitent l'usage de la chromatographie en phase gazeuse pour analyser les molécules prises en compte dans ce projet.

Nous avons utilisé un détecteur DAD qui possède des avantages aux systèmes mono-longueur d'onde, par le biais de pouvoir enregistrer simultanément l'absorbance à toutes les longueurs d'ondes, cela permet de **choisir les longueurs d'ondes** optimales de détection de chacun des constituants des mélanges séparés, de **caractériser chaque composé** constituant un pic chromatographique par son spectre d'absorption comparé au spectre d'un produit de référence ou à un spectre enregistré dans une librairie de spectres et de pratiquer **des tests de pureté de pic chromatographique** et ainsi de **s'assurer qu'il y a un produit par pic**. Aussi, pour minimiser l'interférence de l'impureté, on peut choisir une longueur d'onde d'analyse à laquelle l'impureté n'absorbe presque pas mais à laquelle le produit cible absorbe à son maximum.

➤ La pertinence de la recherche par rapport aux travaux antérieurs.

Si l'on compare cette étude aux travaux antérieurs [18, 25, 27-43, 47, 49], cette étude est unique puisqu'elle a porté sur la stabilité et la compatibilité de 9 mélanges dont 5 contiennent de la morphine et les 4 autres mélanges contiennent de l'hydromorphone. Il y avait quatre mélanges tertiaires (M1, M2, MH1, MH2), deux mélanges quaternaires (M4, MH3), deux mélanges contenant cinq médicaments (M3, MH4) et un mélange contenant **six médicaments** (M5). Les mélanges contenaient **la dose journalière maximale** de chaque constituant.

Puisqu'on a démontré que certains mélanges médicamenteux destinés aux soins palliatifs sont stables et compatibles durant 96 heures, dans des seringues de polypropylène, désormais, on est capable de préparer à l'avance des seringues contenant ces mélanges et de les garder pendant une période de 4 jours aux conditions de conservation suggérées

par cette étude. Cela **réglera certains problèmes** des soins palliatifs à domicile au point de vue pratique, **économique** et au point de vue de **disponibilité des infirmières**.

La préparation des mélanges médicamenteux dans l'hôpital, dans une salle propre, va diminuer le risque de contamination bactérienne de ces mélanges.

De plus, notre étude donnera le choix aux patients de se faire soigner dans l'unité des soins palliatifs ou bien chez lui. Par contre, aux soins à domicile, il faut faire attention de garder les médicaments loin de la portée des enfants.

Après qu'on a démontré que les mélanges de solutions thérapeutiques (M1 à M5) et (MH1 à MH5) sont chimiquement stables et compatibles, il sera intéressant d'étudier leurs comportements et leurs effets chez l'homme : étude de pharmacocinétique et pharmacodynamie.

L'étude de pharmacocinétique constitue un grand déficit à cause des problèmes d'éthiques. En travaillant avec des personnes mourantes, on a plusieurs limites: la quantité de sang prélevé, la fréquence et nombre des prélèvements, l'obtention du consentement du patient et celui de sa famille pour la participation à l'étude, et l'obtention de l'approbation des comités d'éthiques. Malgré ces obstacles, une étude de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamie des mélanges (M1 à M5 et MH1 à MH5) constituerait un avancement important dans la maîtrise de la douleur et des symptômes des patients aux soins palliatifs.

LISTE DES RÉFÉRENCES

LISTE DES RÉFÉRENCES

1. Mathieu, A-M.M., *Soins Palliatifs*. 2^{ème} éd. , Les Presses de l'Université de Montréal., Montréal, 1989, pp 219.
2. West, T., *Un travail pluridisciplinaire.*, dans *Soins palliatifs une approche multidisciplinaire*, Cicely Saunders, Lamarre: Paris., 1990, 11-18.
3. Balfour M. Mount, A. Jones, A.Patterson, *Death and dying*. Urology, 1974. **4**, 27.
4. Organisation Mondiale de la Santé, *Traitement de la douleur cancéreuse : complété par une analyse des problèmes liés à la mise à disposition des opioïdes*. 2^{ème} éd., Genève., 1997, 78.
5. Twycross, R., *Pain relief in advanced cancer*. , Churchill Livingstone: New York., 1994, 577.
6. Ashbrun, M.A., A.G. Lipman, *Management of pain in the cancer patient*. Anesth. Analg., (1993), **76**, 402-416.
7. Protenory, R.K., P. Lesage, *Management of cancer pain*. The Lancet, (1999), **353**, 1695-1700.
8. Albanesi-Melandri, E., *Des douleurs et des symptômes.*, dans *Soins Palliatifs: Réflexions et pratiques*, F. Développement, Formation et Développement: Montpellier. 1993, 61-89.
9. Walsh, W., *Pharmacological management of cancer pain*. Sem in Oncol, (2000), **27**, 45-63.
10. Lepage-Savary, D., *La pharmacothérapie des algie (première partie)*. Québec Pharmacie, (1990), **37**, 91-98.
11. Vree, T.B., C.P. Verwey-van Wissen, *Pharmacokinetics and metabolism of codeine in humans*. Biopharmaceutics & Drug Disposition., (1992), **13**(6), 445-460.
12. Beaver W.T., *Management of cancer pain with parental medication*. J.A.M.A., (1980), **244**, 2653-2657.
13. Zheng, M., K.M. Mcerlane, M.C. Ong, *High-performance liquid chromatography mass spectrometry analysis of morphine methabolites and its application to a pharmacokinetic study in male sprague-dawley rats*. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, (1998), **16**(6), 971-980.
14. Tyrefors, N., B. Hyllbrant, L. Ekman, M. Johansson, B. Langstrom, *Determination of morphine, morphine-3-glucuronide and morphine-6-glucuronide in human serum by solid-phase extraction and liquid chromatography mass spectrometry with electrospray ionisation*. Journal of Chromatography., (1996), **729**(1-2), 279-285.
15. Levy, M.H. *Pharmacologic Treatment of Cancer Pain*. N. Engl. J. Med., (1996) **335**(15), 1124-1132.
16. Rapp, S.E., K.J. Egan, B.K. Ross, L.M. Wild, G.W. Terman, J.M. Ching *Multidimensional comparison of morphine and hydromorphone patient-controlled analgesia*. Anesth. Analg., (1996), **82**, 1043-1048.
17. Krogh, C.M.E. et al., *Compendium des produits et spécialités pharmaceutiques (CPS)*. 29^{ème} éd, Association pharmaceutique canadienne, Ottawa, 1994, p.1703.

18. Vermeire, A., J.P. Remon, *Compatibility and stability of morphine in binary admixtures with haloperidol, midazolam, dexamethasone or methylprednisolone*. Int. J. Pharm., (1998), **174**, 157-177.
19. Walsh, D., M. Doona, M. Molnar, V. Lipnickey, *Symptom control in advanced cancer : important drugs and routes of administration*. Sem. in Oncol., (2000), **27**, 69-83.
20. Venkateshwaran, T.G., J.T. Stewart, D.T. King, *HPLC determination of ondansetron with Selected medications in 0.9-percent sodium chloride injection USP*. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies., (1996), **19**(20), 3355-3367.
21. Scott, R.J., J. Palmer, I.A.S. Lewis, Pleasance, S., *Determination of a 'GW cocktail' of cytochrome P450 probe substrates and their metabolites in plasma and urine using automated solid phase extraction and fast gradient liquid chromatography tandem mass spectrometry.*, Rapid Commun. Mass Spectrom., (1999), **13**(23), 2305-2319.
22. Doyle, D., G.W.C. Hanks, N. MacDonald, *Oxford textbook of palliative care*. 1993, New York: Oxford Medical publications. p 845.
23. Malenfant, J., *Le traitement des nausées et des vomissements en soins palliatifs (Ire. partie)*. Québec Pharmacie, 2000, **47**(8), 622-672.
24. Markman, M., A. Kennedy, K. Webster, G. Peterson, B. Kulp, J. Belinson, *The antiemetic efficacy of oral ondansetron plus Intravenous dexamethasone in patients with gynecologic malignancies receiving carboplatin based chemotherapy*. Gynecologic Oncology, (2000), **78**(1), 43-46.
25. Oustric-Mendes, A. C., B. Huart, M.D. Le Hoang, M. Perrin-Rosset, F. M. Paillet, J. C. Darbord, P. Prognont, C. Gard, D. Pradeau, *Study protocol: stability of morphine injected without preservative, delivered with a disposable infusion device*. J. Clin. Pharm., (1997), **22**, 283-290.
26. Jang, S.W., B.H. Woo, J.T. Lee, S.C. Moon, K.C. Lee, P.P. DeLuca, *Stability of octastatine, a somatostatin analog cyclic octapeptide in aqueous solution*. Pharmaceutical Development & Technology, (1997), **2**(4), 409-414.
27. Hor, M.M.S., S.Y. Chan, K.L. Yow, L.Y. Lim, E. Chan, P.C. Ho, *Stability of morphine sulphate in saline under simulated patient administration conditions*. J. Clin. Pharm. Ther., 1997, **22**, 405-410.
28. Strong, M.L., L.J. Schaaf, M.C. Pankaskie, D.H. Robinson, *Shelf lives and factors affecting the stability of morphine sulphate and mepiridine (pethidine) hydrochloride in plastic syringes for use in patient-controlled analgesic devices*. J. Clin. Pharm. ther., (1994), **19**, 361-369.
29. Steger, P.J.K., E.F. Martinelli, S.F. Muhlebach, *Stability of high-dose morphine chloride injection upon heat sterilization: comparison of UV-spectrometry and HPLC.*, J. Clin. Pharm. ther., (1996), **21**, 73-78.
30. Stiles, M. L., L.V. Allen, S.J. Prince, *Stability of deferoxamine mesylate, floxuridine, fluorouacil, hydromorphone hydrochloride, lorazepam, and midazolam hydrochloride in polypropylene infusion-pump syringes*. Am. J. Health-Syst. Pharm., (1996), **53**, 1583-1588.
31. Das Gupta, V., K.R. Stewart, *Stability of haloperidol in 5% dextrose injection*. Am. J. Hosp. Pharm., 1982. **39**, 292-294.

32. Zhang, Y., L.A. Trissel, J.F. Martinez, D.L. Gilbert, *Stability of metoclopramide hydrochloride in plastic syringes*. Am. J. Health-Syst. Pharm., (1996), **53**, 1300-1302.
33. Qin, X.Z., K.H. Chang, P.M. Dradransky, M.A. Brooks, T. Sakuma, *Pharmaceutical application of LC-MS. Characterization of a famotidine degradate in a package screening study by LC-APCI MS.*, J. Pharm. Biomed. Anal., (1994), **12**, 221-33.
34. Shea, B.F., P.F. Souney, *Stability of famotidine frozen in polypropylene syringes*. Journal of Hospital Pharmacy, (1990), **47**(9), 2073-2074.
35. Chin, A., S.Y. Moon, K.C. Chung, M. A. Gill, *Stability of granisetron hydrochloride with dexamethasone sodium phosphate for 14 Days*. Am. J. Health-Sys. Pharm., (1996), **53**, 1174-1176.
36. Johnson, C.E., C. Christen, M.M. Perez, M. Ma, *Compatibility of bupivacaine hydrochloride and morphine sulfate*. Am. J. Health-Sys. Pharm., (1997), **54**, 61-64.
37. Wang, D.P., L. Chang, D.K.T. Lee, C.Y. Wong, *Stability of fluorouacil-metoclopramide hydrochloride admixture*. Am J Health-Syst Pharm., (1995), **52**, 98-99.
38. Peterson, G.M., K.A. Miller, J.G. Galloway, P.F. Dunne, *Compatibility and stability of fentanyl admixtures in polypropylene syringes*. J. Clin. Pharm. Ther., (1998), **23**, 67-72.
39. LeBelle, M.J., C. Savard, A. Gagnon, *Compatibility of morphine and midazolam or haloperidol in parenteral admixtures*. The Canadian Journal of Hospital Pharmacy, (1995), **48**, 155-160.
40. Xu, Q.A., L.A. Trissel, J.F. Martinez, *Stability and compatibility of fluorouacil with morphine sulfate and hydromorphone hydrochloride.*, Ann. Pharmacother., 1996, **30**, 756-761.
41. Hagan, R.L., M.S. Mallet, J.L. Fox, *Stability of ondansetron hydrochloride and dexamethasone sodium phosphate in infusion bags and syringes for 32 days*. Am. J. Health-Syst. Pharm., (1996), **53**, 1431-1435.
42. Walker, S.E., C. DeAngelis, J. Lazetta, J.G. Eppel, *Compatibility of dexamethasone sodium phosphate with hydromorphone hydrochloride or diphenhydramine hydrochloride*. Am. J. Hosp. Pharm., (1991), **48**, 2161-2166.
43. Keyi, X., N. Gagnon, C. Bisson, M. Desmarais, M. LeBel, *Stability of famotidine in polypropyl chloride minibags and polypropylene syringes and compatibility of famotidine with selected drugs*. Ann. Pharmacother., (1993), **27**, 422-426.
44. Vermeire, A., J.P. Remon, *Compatibility and stability of ternary admixtures of morphine with haloperidol or midazolam and dexamethasone or methylprednisolone*. Int. J. Pharm., (1999), **177**, 53-67.
45. Stiles, M.L., L.V. Allen, S.J. Prince, J.S. Holland, *Stability of dexamethasone sodium phosphate, diphenhydramine chloride, lorazepam and metochlopramide in portable infusion pump reservoirs*. Am. J. Hosp. Pharm., (1994), **51**, 514-517.
46. Nahata, M.C., R.S. Morosco, B.K. Sabados, T.R. Weber, *Stability and compatibility of anakinra with intravenous cimetidine hydrochloride or famotidine in 0.9% sodium chloride injection.*, J. Clin. Pharm. Ther., (1995), **20**, 97-99.

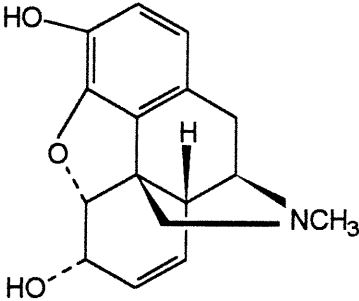
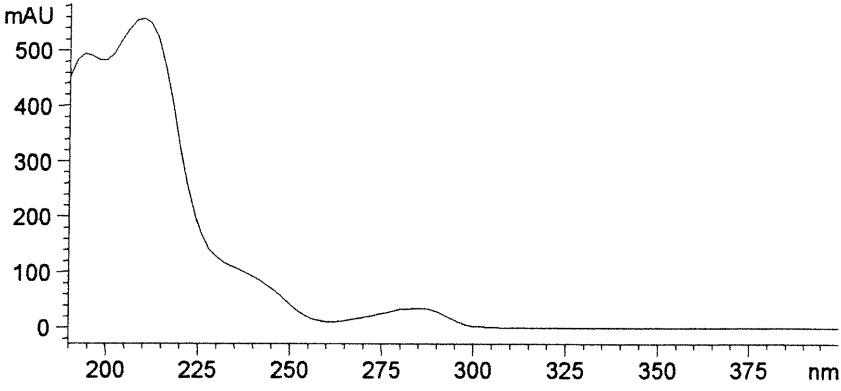
47. Lugo, R. A., M.C. Nahata, *Stability of diluted dexamethasone sodium phosphate injection at two temperatures*. Ann. Pharmacother., (1994), **28**, 1018-1019.
48. Gagné, D., B.A. Lodge, *Analysis of dexamethone sodium phosphate formulations by high-performance liquide chromatography*. J.Chromatogr., (1980), **193**, 160-162.
49. Bullock, L., J.F. Fitzgerald, M.R. Glick, R.B. Parks, J.G. Schnabel, B.G. Hancock, *Stability of famotidine 20 and 40 mg/L and amino acids in a total parenteral nutrient solution*. Am. J. Hosp. Pharm., (1989), **46**, 2321-2325.
50. Santus, G., R. Rivolta, G. Bottoni, B. Testa, S. Peano, *Nasal formulation of ketorolac tromethamine-technological evaluation-bioavalibility and tolerability in rabbits*. Farmaco., (1993), **48**, 1709-1723.
51. Harris, D.C., *Quantitative Analysis*, in *Quantitative chemical analysis.*, W.H.F.a. Company, New York, 1995. 577-579.
52. Floy, BJ, C.G. Royko, J.S. Fleitman, *Compatibility of ketorolac tromethamine injection with common infusion fluids and administration sets.*, Am. J. Hosp. Pharm., (1990), **47**, 1097-1100.
53. A.D. Eaton, L.S. Clescer, A.E. Greenberg, *Standard method for the examination of water and wastewater*, 19^{ème} édition, 1995 Montréal, section 5210, 5.2- 5.5.

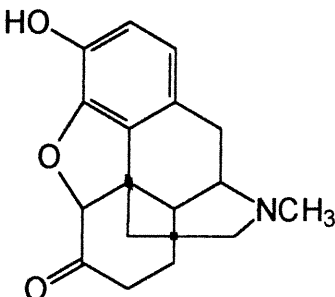
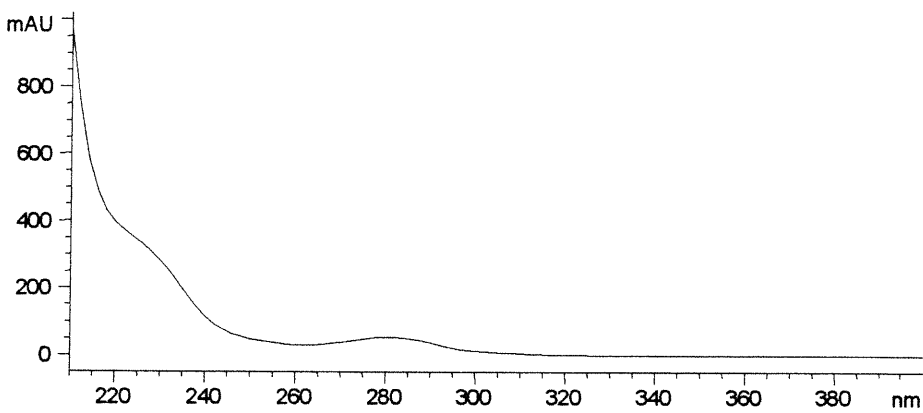
Annexe I

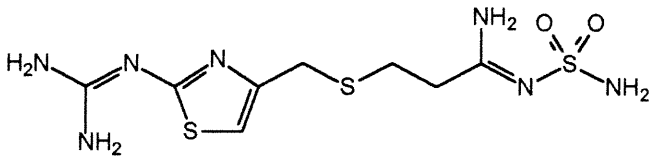
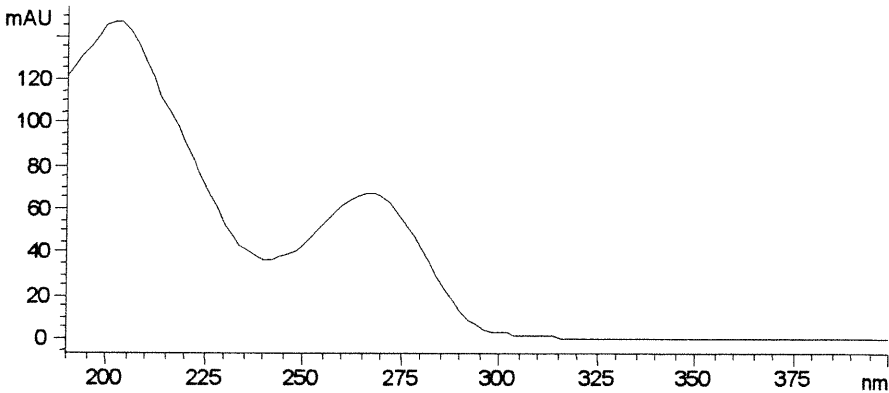
Les Fiches

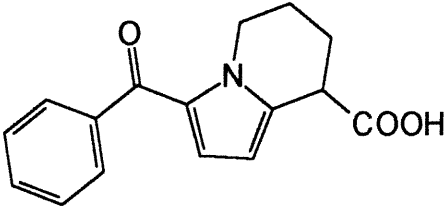
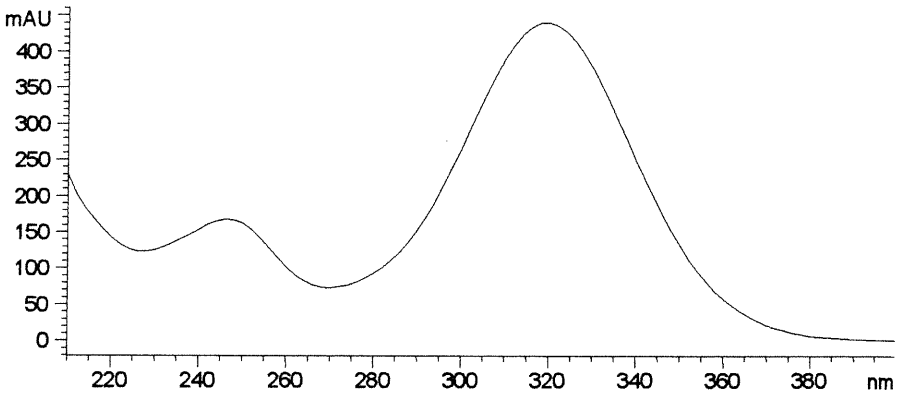
Des Médicaments

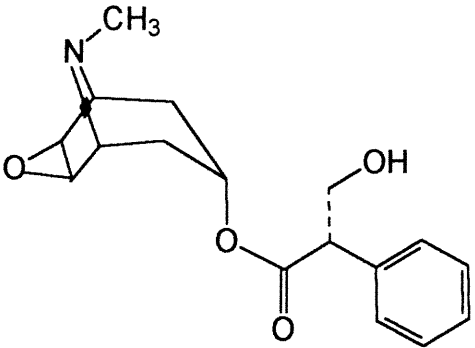
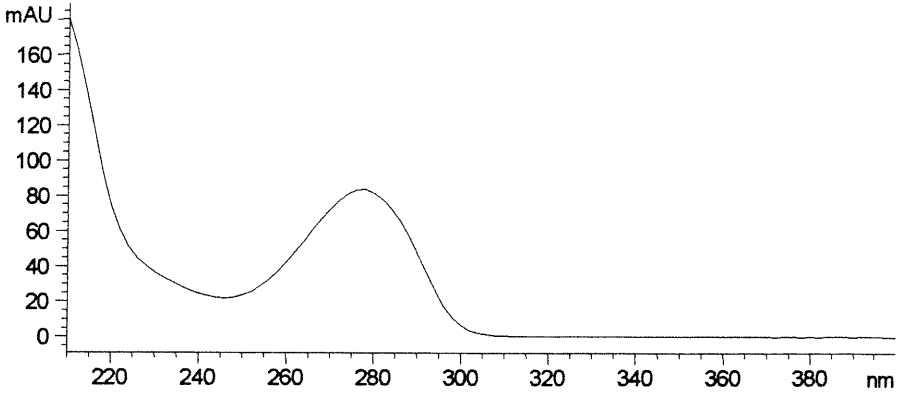
MISE AU POINT DE LA SEPARATION CHROMATOGRAPHIQUE**Propriétés physico-chimiques utiles des molécules à analyser**

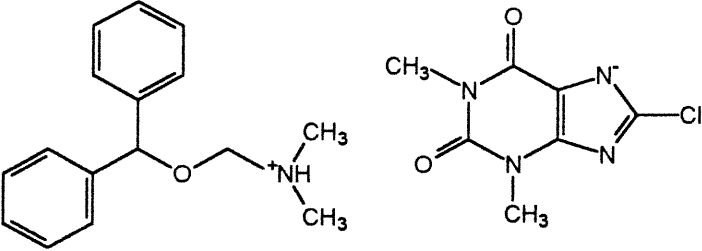
Molécule	MORPHINE
Synonymes	7,8-Didehydro-4,5-epoxy-17-methylmorphinan-3,6-diol ;
Formules	$C_{17}H_{19}NO_3$
Poids moléculaire	285.342
Structure	 <p>The chemical structure of morphine is shown, featuring a complex pentacyclic ring system. It includes a morphine skeleton with two hydroxyl groups (HO) at positions 3 and 6, an ether bridge between C4 and C5, and a methyl group (NCH₃) attached to the nitrogen atom. A hydrogen atom (H) is explicitly shown at the C5 position.</p>
Spectre UV	 <p>The UV spectrum of morphine shows absorbance in mAU on the y-axis (ranging from 0 to 500) versus wavelength in nm on the x-axis (ranging from 200 to 375). The spectrum exhibits a broad absorption band with a maximum absorbance of approximately 500 mAU at a wavelength of about 215 nm. The absorbance decreases significantly as the wavelength increases, reaching near-zero values by 300 nm.</p>

Molécule	DIHYDROMORPHONE
Synonymes	Dilaudid ; Dihydromorphinone ; Dilaudid-HP ; PMS-Hydromorphone ;
Formule	$C_{17}H_{19}NO_3$
Poids moléculaire	285.342
Structure	 <p>The chemical structure of Dihydromorphine is a pentacyclic alkaloid. It features a morphine skeleton with a hydroxyl group (HO-) at the 3-position and a methyl group (NCH₃) on the nitrogen atom. The structure is shown in a skeletal representation.</p>
Spectre UV	 <p>The UV spectrum shows absorbance (mAU) on the y-axis (0 to 800) versus wavelength (nm) on the x-axis (220 to 380). The curve shows a sharp peak at approximately 215 nm (absorbance > 800) and a broad, low-intensity absorption band between 240 nm and 280 nm, with a small peak at approximately 280 nm (absorbance ~50). The absorbance is near zero from 300 nm to 380 nm.</p>

Molécule	FAMOTIDINE
Synonymes	Pepcid ; N'-(aminosulfonyl)-3-(((2-((diaminomethylene)amino)-4-thiazolyl)methyl)thio)propanimidamide ; Pepcid PM ; Amfamox ; Pepcidine ;
Formule	$C_8H_{15}N_7O_2S_3$
Poids moléculaire	337.432
Structure	 <p>The chemical structure of Famotidine consists of a central 4-thiazolyl ring. At the 2-position of the thiazole ring, there is a diaminomethylene group (-CH=N-NH₂). At the 5-position of the thiazole ring, there is a propyl chain (-CH₂-CH₂-CH₂-) that is linked via a sulfur atom to a propanimidamide group (-CH₂-CH₂-CH₂-NH-C(=N)-NH₂).</p>
Spectre UV	 <p>The UV spectrum shows absorbance in mAU on the y-axis (ranging from 0 to 120) versus wavelength in nm on the x-axis (ranging from 200 to 375). The curve exhibits a broad absorption peak starting around 200 nm, reaching a maximum of approximately 130 mAU at 205 nm. The absorbance then decreases to a local minimum of about 40 mAU at 240 nm, followed by a secondary peak of approximately 65 mAU at 270 nm. The absorbance continues to decrease, reaching near zero by 300 nm and remaining low up to 375 nm.</p>

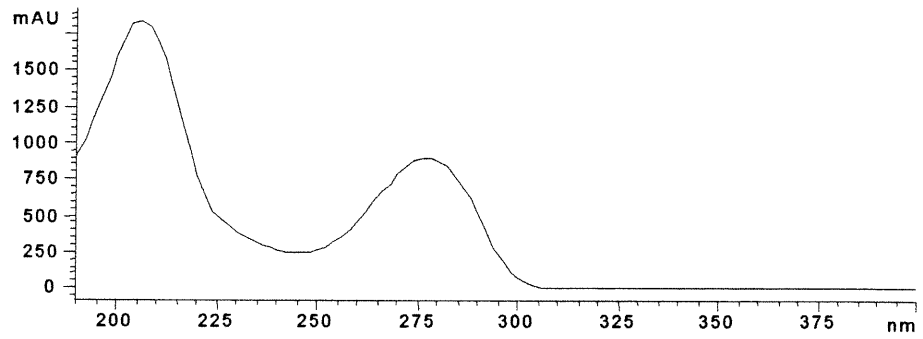
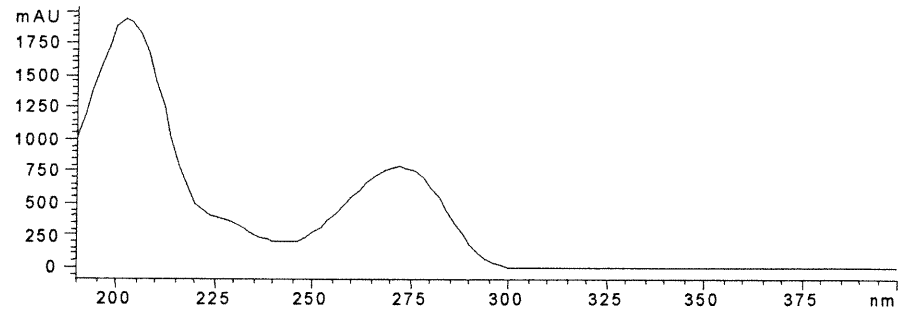
Molécule	KÉTOROLAC
Formule	$C_{15}H_{13}NO_3$
Poids moléculaire	255.2726
Structure	
pKa	3.49
Spectre UV	

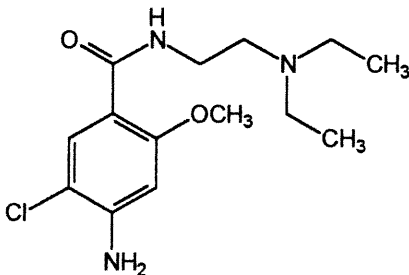
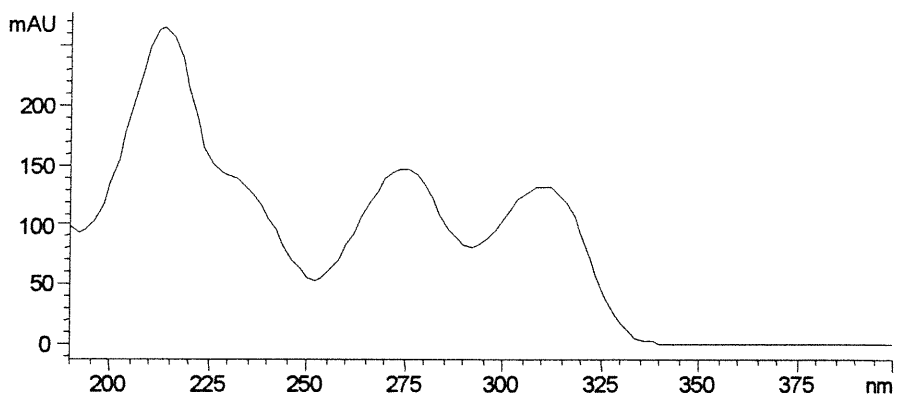
Molécule	SCOPOLAMINE
Structure	 <p>The chemical structure of Scopolamine is shown. It consists of a tropane bicyclic core (8-methyl-8-azabicyclo[3.2.1]octane) with a methyl group on the nitrogen atom. This core is linked via an ester bond to a side chain that includes a hydroxyl group and a phenyl ring.</p>
Synonymes	Hyoscine
Formule	$C_{17}H_{21}NO_4$
Poids moléculaire	303.3572
Spectre UV	 <p>The UV spectrum of Scopolamine is plotted. The y-axis represents mAU (milliabsorbance units) ranging from 0 to 160. The x-axis represents wavelength in nm, ranging from 220 to 380. The spectrum shows a sharp peak at approximately 220 nm (mAU ~160), a minimum at approximately 245 nm (mAU ~20), and a broad absorption band peaking at approximately 280 nm (mAU ~80). The absorbance drops to near zero by 300 nm and remains low up to 380 nm.</p>

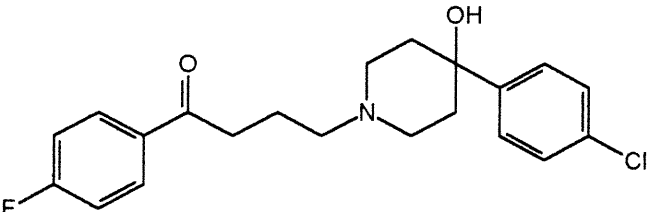
Molécule	DIMENHYDRINATE
Synonymes	Dramamine ; MENI-D ; Dimetabs ; Marmine ; Nico-vert ; Tega-vert ; diphenhydramine 8-chlorotheophyllinate ; 8-chloro-3,7-dihydro-1,3-dimethyl-1H-purine-2,6-dione compound with 2-(diphenylmethoxy)-N,N-dimethylethanamine (1 :1) ; 8-chlorotheophylline compound with 2-(diphenylmethoxy)-N,N-dimethylamine (1 :1) ; amosyt ; anautine ; andramine ; o-benzhydryldimethylaminoethanol 8-chlorotheophyllinate ; 2-(benzhydryloxy)-N,N-dimethylethylamine compound with 8 chlorotheophylline ; dramarin ; dramyl ; 2-(diphenylmethoxy)-N,N-dimethylethylamine compound with 8-chlorotheophylline (1 :1) ; gravol ; menhydrinate ; supremal ; travelin ; travelmin ; vomex a ; xamamine ; 2-(benzhydryloxy)-N,N-dimethylethylamine 8-chlorotheophyllinate ; beta-dimethylaminoethyl benzhydryl ether 1,3-dimethyl-8-chloroxanthine ; Andrumin ;
Poids moléculaire	469.9699
Formule	$C_{24}H_{28}ClN_5O_3$
Structure	 <p>The image shows two chemical structures. On the left is 2-(diphenylmethoxy)-N,N-dimethylethanamine, which consists of a central carbon atom bonded to two phenyl rings and an oxygen atom. The oxygen atom is part of an ethyl chain that ends in a dimethylammonium group (N⁺(CH₃)₂). On the right is 8-chlorotheophylline, a purine derivative with a carbonyl group at position 2, a methyl group at position 3, a methyl group at position 7, and a chlorine atom at position 8.</p>

DIMENHYDRINATE

Spectre UV

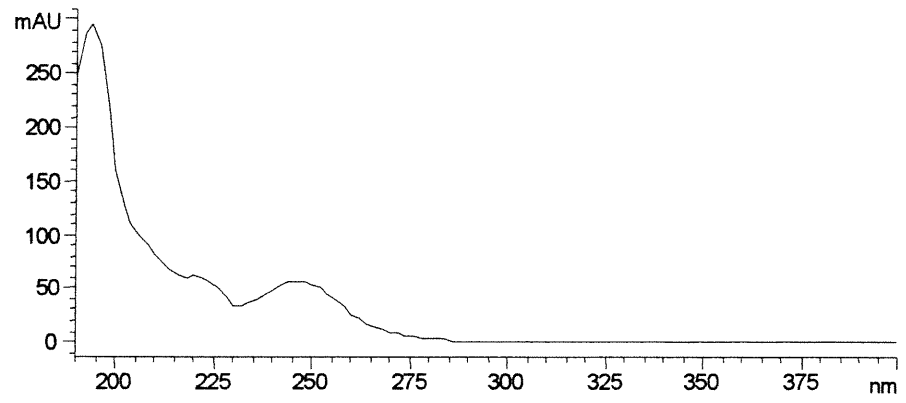


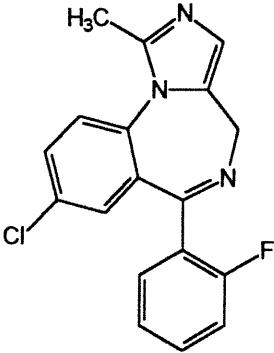
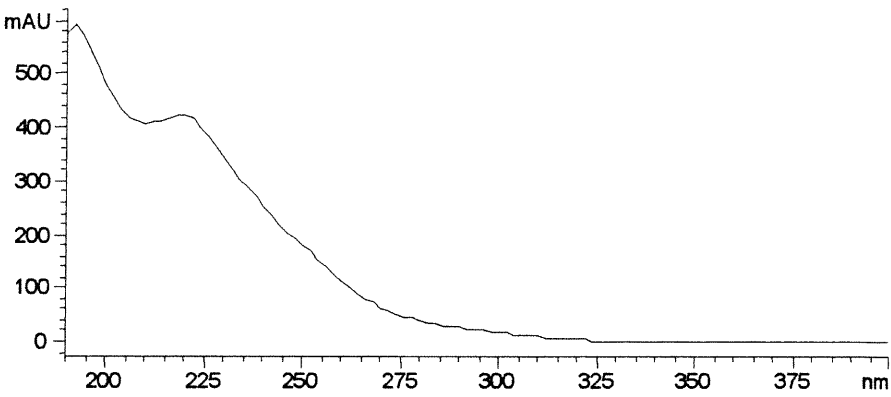
Molécule	METOCLOPRAMIDE
Synonymes	Clopra; Maxolon; Octamide; Reclomide; Reglan; Primperan; Pramin;
Formule	$C_{14}H_{22}ClN_3O_2$
Poids moléculaire	299.7997
Structure	 <p>The chemical structure of Metoclopramide consists of a benzamide core. The benzene ring is substituted with a chlorine atom (Cl) at the 4-position, an amino group (NH₂) at the 5-position, and a methoxy group (OCH₃) at the 2-position. The amide nitrogen is attached to a propyl chain, which is further substituted with a diethylamino group (N(CH₂CH₃)₂) at the 3-position.</p>
Spectre UV	 <p>The UV spectrum shows absorbance (mAU) on the y-axis (0 to 200+) versus wavelength (nm) on the x-axis (200 to 375). The spectrum exhibits several absorption peaks: a broad peak around 215 nm (mAU ~200), a smaller peak at 275 nm (mAU ~150), and another peak at 315 nm (mAU ~130). The absorbance drops to near zero after 340 nm.</p>

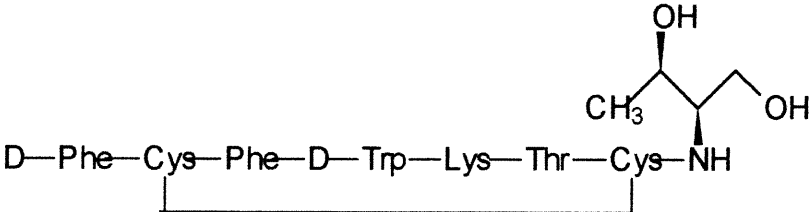
Molécule	HALOPERIDOL
Synonymes	Haldol; 4-[4-(p-chlorophenyl)-4-hydroxypiperidino]-4'-fluorobutyrophenone; gamma-(4-(para-Chlorophenyl)-4-hydroxypiperidino)-para'-fluorobutyrophenone; Serenace;
Formule	$C_{21}H_{23}ClFNO_2$
Poids moléculaire	375.8696
Structure	 <p>The chemical structure of Haloperidol is shown. It consists of a central piperidine ring with a hydroxyl group (-OH) at the 4-position. A butyryl chain is attached to the nitrogen atom of the piperidine ring, and the terminal carbon of this chain is connected to a 4-fluorophenyl ring. Another 4-chlorophenyl ring is attached to the 1-position of the piperidine ring.</p>
pKa	8.3

ALOPÉRIDOL

Spectre UV



Molécule	MIDAZOLAM
Synonymes	Haldol; 4-[4-(p-chlorophenyl)-4-hydroxypiperidino]-4'-fluorobutyrophenone; gamma-(4-(para-Chlorophenyl)-4-hydroxypiperidino)-para'-fluorobutyrophenone; Serenace;
Formule	$C_{18}H_{13}ClFN_3$
Poids moléculaire	325.7722
Structure	 <p>The chemical structure of Midazolam is a 7,8-dihydro-1,4-benzodiazepine derivative. It features a central seven-membered ring with two nitrogen atoms. One nitrogen is substituted with a methyl group (H₃C). The benzene ring fused to the seven-membered ring is substituted with a chlorine atom (Cl) at the 5-position. The 2-position of the seven-membered ring is substituted with a 4-fluorophenyl group (a benzene ring with a fluorine atom at the para position).</p>
Spectre UV	 <p>The UV spectrum shows absorbance in mAU versus wavelength in nm. The x-axis ranges from 200 to 375 nm with major ticks every 25 nm. The y-axis ranges from 0 to 500 mAU with major ticks every 100 mAU. The curve starts at approximately 550 mAU at 200 nm, drops to about 400 mAU at 210 nm, rises slightly to a secondary peak of about 420 mAU at 225 nm, and then gradually decreases to near zero by 300 nm, remaining flat until 375 nm.</p>

Molécule	OCTREOTIDE
Synonymes	L-cysteinamide, D-phenylalanyl-L-cysteinyl-L-phenylalanyl-D-tryptophyl-L-lysyl-L-threonyl-N-(2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)propyl)-cyclic (2->7)-disulfide, (R-(R*,R*)); Sandostatine; Sms 201-995; Octreotide acetate;
Poids moléculaire	1019,26
Structure	 <p style="text-align: center;"> $\text{D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-NH}$ (Cyclic (2->7)-disulfide bridge between Cys 2 and Cys 7) Substituent on Cys 7: CH_3, OH, CH_2OH </p>

Annexe II

Publication

HPLC DAD METHOD FOR STUDYING THE STABILITY OF SOLUTIONS CONTAINING MORPHINE, DEXAMETHASONE, HALOPERIDOL, MIDAZOLAM, FAMOTIDINE, METOCLOPRAMIDE, AND DIMENHYDRINATE

Acceptée par:

Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies

**HPLC DAD METHOD FOR STUDYING THE STABILITY OF SOLUTIONS
CONTAINING MORPHINE, DEXAMETHASONE, HALOPERIDOL, MIDAZOLAM,
FAMOTIDINE, METOCLOPRAMIDE, AND DIMENHYDRINATE**

S. Nassr^{1*}, M. Brunet¹, P. Lavoie², J.L. Brazier¹

1) Chaire Médicament Grossesse Famille L.Boivin Research Center Sainte-Justine Hospital
Faculty of Pharmacy – University of Montreal
CP 6128 Succursale Centre Ville Montréal (QC) H3C 3J7

2) Héma-Québec 3131, rue Sherbrooke Est Montréal (Québec) H1W 1B2

ABSTRACT

The objectives of this study were to evaluate both the compatibility and the stability of morphine when mixed with different drugs and to provide recommendations for appropriate conservation conditions.

Methods: Five drug mixtures used for palliative care were stored in polypropylene syringes at different temperatures (25°C, 4°C) up to 96 hours. These mixtures were:

- 1) Morphine , Dexamethasone, Octreotide
- 2) Morphine, Dexamethasone, Haloperidol
- 3) Morphine, Octreotide, Haloperidol, Midazolam, Famotidine
- 4) Morphine, Haloperidol, Famotidine, Metoclopramide
- 5) Octreotide, Haloperidol, Famotidine, Metoclopramide, Dimenhydrinate .

Drug mixtures were prepared in NaCl 0.9%, in order to obtain a 100 mL final solution containing the maximum daily dose of each component.

For the separation and quantification of active ingredients a fast, precise, accurate and sensitive method was developed. Drugs were separated using HPLC-DAD (High performance liquid chromatography-diode array detector) with a Zorbax® Eclipse XDB C₁₈) column under elution gradient. Just after preparing the mixture of drugs and then after 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96 hours, the physical appearance of each solution was observed, and drug concentrations were controlled. Stability was assumed if the loss after 96 hours was less than 10% of the initial concentration.

Results:

Mixture number (2) was incompatible when drugs were mixed. Mixing haloperidol and dexamethasone gave rise to the formation of a white precipitate. Mixture (3) was stable and compatible at 25°C but incompatible at 4°C due to crystallisation of haloperidol. All the other drug mixtures were stable and compatible both at 4°C and 25°C for 96 hours.

INTRODUCTION

Many cancer patients suffer from pain or other problems due to the progress of their disease or its treatment. To manage the pain, which leads to suffering and diminishes the patient's quality of life, morphine is frequently used as a potent opioid analgesic (1-2).

Many researchers have studied the stability of morphine solutions under different conditions of conservation (3,4,5). It has been found that the decomposition of morphine is accelerated in alkaline pH (3) and depends on the presence of oxygen (5). The degradation products of morphine are pseudo-morphine and morphine-N-oxide and other minor products (3). Morphine can undergo a dimerisation reaction when it is stored without preservatives producing pseudo-morphine (4).

However, cancer patients who are in terminal phase need more than one drug for their therapy. Mixing drugs will prevent multiple perfusions. Several studies proposed that the combination of drugs may be more affective than monotherapy and it offers different mechanisms of action and different sites of activity (6-8). Most of the stability studies have been carried out on binary drug mixtures (9-18). The stability of single drugs has also been reported by numerous authors (3,4,5,19,20,21). However, few studies have been performed on the stability and the compatibility of drug mixtures, which contain more than two active ingredients (22,23).

HPLC methods for determining the drugs involved in this study have already been reported (3,4,5,9-23). However, there is no available method that permits a simultaneous separation of morphine, dexamethasone, haloperidol, midazolam, famotidine, metoclopramide, dimenhydrinate and of the preservatives present in the pharmaceutical preparations of these drugs. A. Vermeire et al. developed methods to separate morphine-midazolam, morphine-haloperidol and the degradation products of morphine as well as haloperidol and midazolam (9). However, their methods do not allow the simultaneous separation of all the drugs involved in the present study. Furthermore, in their work, a different method of separation was used for each admixture.

The aim of this study was to set up and validate an analytical method able to separate and quantify the seven drugs under study in order to assess both the compatibility and the stability of morphine when mixed with these drugs and to provide recommendations for the appropriate conservation conditions. The studied mixtures used for palliative care were studied under the usual conditions of their use. They were stored in polypropylene syringes at different temperatures (25°C and 4°C) over 96 hours. These mixtures contained the maximal daily concentration of each drug. The method of separation had to be able to separate the drugs from the preservatives used in their pharmaceutical preparations: creatinine, benzyl alcohol, methylparaben, propylparaben and had to be fast enough in order to process the numerous samples required for the conservation study.

EXPERIMENTAL

Materials and methods:

Standards drugs:

The drugs were obtained from the pharmaceutical department of the Royal Victoria Hospital (Montreal - QC - Canada). Morphine sulphate - 50 mg.mL⁻¹ (Morphine HP® injection, Sabex), (Pr Haloperidol) Haloperidol base - 5 mg.mL⁻¹ (Haloperidol injection USP, Sabex) containing lactic acid to adjust the pH, Dexamethasone phosphate - 4 mg.mL⁻¹ (Dexamethasone sodium phosphate injection USP, Sabex) containing creatinine, methylparaben and propylparaben as preservatives, Dimenhydrinate - 50 mg.mL⁻¹ (Dimenhydrinate IM injection USP, Sabex) containing benzyl alcohol, Famotidine - 10 mg.mL⁻¹ (Pepcid® IV, Merck), Midazolam - 5 mg.mL⁻¹ (Versed®, Roche) containing benzyl alcohol, Metoclopramide hydrochloride - 30 mg.mL⁻¹ (Chlorhydrate de metoclopramide injection, Sabex), Octreotide Acetate - 100 µg.mL⁻¹

(Sandostatin®, Novartis). Other chemicals were : sodium chloride 0.9% - 50 mL (Baxter) and anhydrous theophylline (Sigma) was used as internal standard.

Chemicals:

Chemicals used for preparing the mobile phase were: acetonitrile (HPLC grade, Burdick & Jackson), water (HPLC grade, J.T.Baker), potassium dihydrogen-orthophosphate (BDH). The phosphate buffer (KHPO_4 0.05 mol.L^{-1}) was prepared by dissolving 13.609 g of potassium dihydrogen-orthophosphate into 2.00 L of water HPLC grade. The pH of the solution was adjusted to 4.6 with phosphoric acid. All solvents were filtered before use through a $0.45 \mu\text{m}$ filter (Gelman Sciences).

Apparatus:

The HPLC instrument used was a Hewlett Packard® Series 1100 liquid chromatograph equipped with a binary pumping system, a degasser, a compartment for the columns in which the temperature was controlled (23°C), an auto-sampler and a photodiode array spectrophotometer (HP 1100 Series Diode Array Detector). The control of the instrument as well as data acquisition and treatment were performed using the ChemStation HP software. The chromatographic separation was carried out on a Zorbax® Eclipse XDB C_{18} ($3.5 \mu\text{m}$, $4.6 \times 7.5 \text{ mm}$) column.

Drug mixtures:

The various drug mixtures studies were:

(M1) Morphine 10.00 mg.mL^{-1} , Dexamethasone 0.40 mg.mL^{-1} , Octreotide 0.01 mg.mL^{-1} .

(M2) Morphine 10.00 mg.mL^{-1} , Dexamethasone 0.40 mg.mL^{-1} , Haloperidol 0.50 mg.mL^{-1} .

(M3) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Octreotide 0.01 mg.mL⁻¹, Haloperidol 0.50 mg.mL⁻¹, Midazolam 1.00 mg.mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹.

(M4) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Haloperidol 0.50 mg.mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, Metoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹.

(M5) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Octreotide 0.01 mg.mL⁻¹, Haloperidol 0.50 mg.mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, Metoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹, Dimenhydrinate 5.00 mg.mL⁻¹.

Sample preparation:

For preparing all the mixtures, the maximal quantity to be administered per day for each of the admixture constituents was introduced into a 100 ml volumetric flask (from each of the commercial preparations).

Drugs were added one by one from the most concentrated to the less one. The volume was completed to 100 ml with NaCl 0.9%.

Conservation:

Each of the solutions (M1 to M5) was distributed into ten 5 mL polypropylene syringes. Batches of 5 syringes were placed at different controlled temperatures: 5 were placed in the refrigerator at 4°C and the other 5 were conserved at 25°C.

After the addition of each component of the mixture, immediately after the preparation of the mixture and then 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96 hours after sample preparation, the physical appearance of each solution was observed on black and white backgrounds with a magnifier and the concentrations of morphine, dexamethasone, haloperidol, metoclopramide, midazolam and dimenhydrinate were determined by HPLC.

Analytical sample preparation:

For the quantitative analysis, an internal standard (500 μL of an aqueous solution of theophylline - $1\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) was added to 200 μL of the analysed sample (mixture from each syringe) into a 5 mL volumetric flask. The volume was then completed to 5 mL with water. 10 μL of the resulting solution were injected into the chromatographic column. Analyses were performed in duplicate.

Chromatographic separation:

A diode array detector (DAD) was used because it offers more advantages on the conventional UV detector. DAD permits the rapid scanning of the full spectrum of a compound as it emerges from the chromatographic column and it offers the multi-wavelength detection option (26). According to the UV spectral characteristics of the analysed compounds and in order to maximise the sensitivity of the detection, two wavelengths were used for the detection (285 nm and 250 nm). Theophylline, morphine, famotidine, dimenhydrinate, metoclopramide and midazolam were detected at 285 nm. Theophylline, dexamethasone, haloperidol were detected at 250 nm.

Chromatographic behaviours of morphine and other constituents of the therapeutic were studied under different conditions of elution. Morphine has a tertiary amine group with a pK value of 6.13, so between $\text{pH} = 6$ and 10 an increase in retention time for morphine was explained by a loss of proton from this group and the resulting decrease of the positive charge on the amine group. However, above $\text{pH} = 9.5$ an ionisation of the phenolic hydroxy group ($\text{pK}_a = 9.85$) occurred, which results in a reduction of the retention of morphine (24).

The final mobile phase was composed of two elution solvents: A: 100% acetonitrile and B: a phosphate buffer at $\text{pH} = 4.6$ (KHPO_4 $0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Elutions were carried out using an elution

gradient according to the following profile: acetonitrile / phosphate buffer (10/90) between $t = 0.00$ and $t = 0.50$ minute, then acetonitrile was increased to 35% until $t = 3.00$ minutes then to 40% until $t = 4.50$ minutes. The flow rate of mobile phase was set at $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Under these conditions the overall analysis cycle was less than 12 minutes and allowed to process 20 samples in four hours.

Results and discussion

Chromatographic separation:

Figure (1) shows a typical chromatogram obtained under the conditions described above with detection at both 285 nm and 250 nm. The separation of all the drugs and preservatives is achieved in less than 8 minutes.

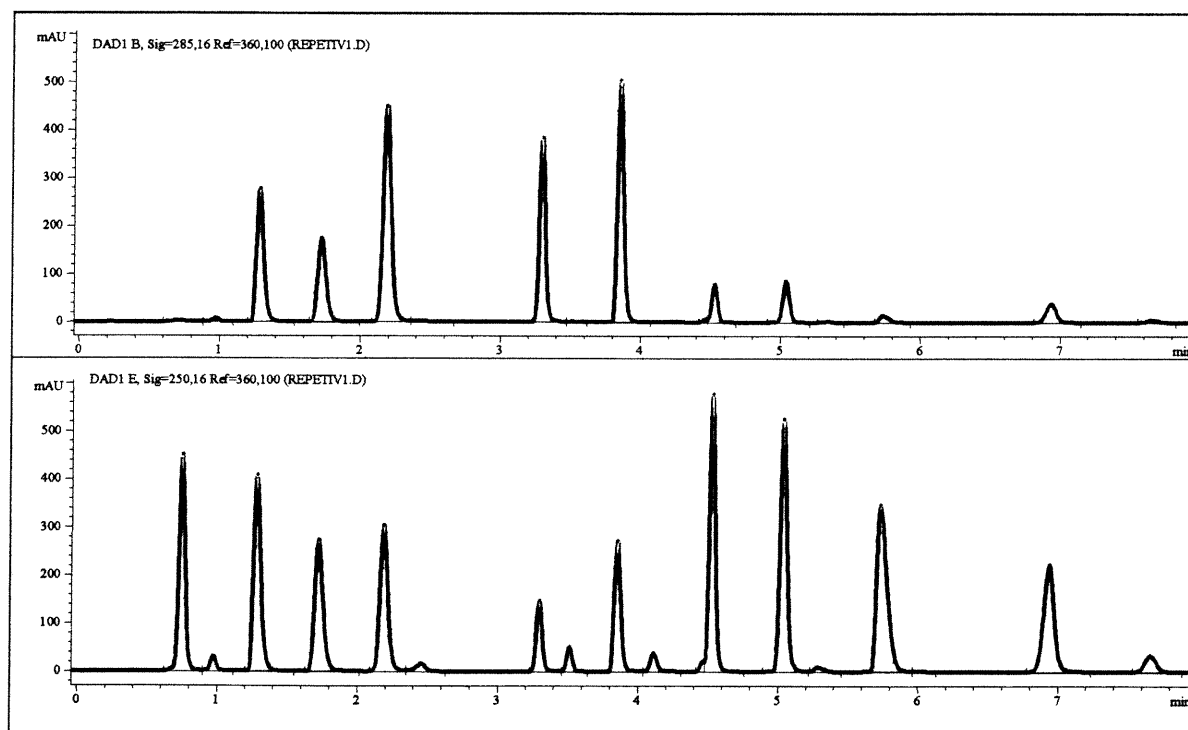


Figure (1): Chromatogram of the optimum conditions.

The frame shown above: detection at 285 nm

The frame shown below: detection at 250 nm

To identify the substance that corresponds to each peak see Table (1)

The values in table (1) show that the reproducibility of the separation is good because the CV% on the retention time are practically always less than 1%. Considering the short retention time of famotidine (Tr = 1.75 min), the CV% value (2.6%) is still very good.

Table (1)
Retention Time (minutes), Standard Deviation, Coefficient of Variation

Identity	Rt mean (min)	S.D.	C.V.%
	n = 5		
CRE	0,76	0,005	0,66
MO	1,31	0,021	1,61
FA	1,75	0,046	2,65
THP	2,22	0,021	0,97
DH1	3,32	0,010	0,30
ME	3,87	0,007	0,17
BAL	4,13	0,007	0,17
DX	4,54	0,006	0,12
MEBEN	5,05	0,007	0,13
DH2	5,30	0,008	0,15
HA	5,75	0,009	0,16
MI	6,96	0,012	0,17
PRBEN	7,68	0,014	0,19

CRE: Creatinine, MO: Morphine, FA: Famotidine, DH: Dimenhydrinate, ME: Metoclopramide, BAL: Benzyl alcohol, DX: Dexamethasone, MEBEN: methlyparaben, HA: Haloperidol, MI: Midazolam, THP: Theophylline (internal standard), PRBEN: Propylparaben.

Resolution factor Rs:

The resolution factors are shown in table (2). There was no interference between the analysed drugs and the various preservatives present in the original pharmaceutical preparations. The resolution factor being always over 1.5 for all successive couples of eluted compounds, all the chromatographic peaks are perfectly separated with return to the baseline.

Table (2)
Resolution Factor

Resolution	Rs mean	S.D.	C.V. (%)
Between peaks	n = 5		
1-2	4,60	0,02	0,52
2-3	5,51	0,13	2,35
3-4	7,51	0,40	5,36
4-5	7,42	0,17	2,26
5-6	3,79	0,10	2,58
6-7	13,39	0,13	1,00
7-8	4,57	0,10	2,21
8-9	7,21	0,06	0,77
9-10	5,13	0,03	0,53
10-11	8,28	0,12	1,46
11-12	10,14	0,09	0,85
12-13	4,00	0,07	1,81
13-14	6,07	0,08	1,39
14-15	3,66	0,05	1,35
15-16	11,83	0,04	0,35
16-17	8,42	0,05	0,62

Average of Resolution Factors: Rs, Standard Deviation: S.D., and Coefficient of Variation: C.V.%

1-2: Creatinine-P.N.I, 2-3: P.N.I-Morphine, 3-4: Morphine-Famotidine, 4-5: Famotidine-Theophylline, 5-6: Theophylline-P.N.I, 6-7: P.N.I-Dimenhydrinate, 7-8: Dimenhydrinate-P.N.I, 8-9: P.N.I-Metoclopramide, 9-10: Metoclopramide-Benzylalcohol, 10-11: Benzylalcohol-Dexamethasone, 11-12: Dexamethasone-Methylparaben, 12-13: Methylparaben-Dimenhydrinate2, 13-14: Dimenhydrinate2-Haloperidol, 15-15: Haloperidol-P.N.I, 15-16: P.N.I-Midazolam, 16-17: Midazolam-Propylparaben; P.N.I. Peak not identified.

Factor of asymmetry and purity criteria of chromatographic peaks:

The factor of asymmetry and the criteria of purity of the chromatographic peaks, based on the spectral identity of the ultra-violet spectra recorded all over each elution peak were determined

for each compound. Unlike a previous publication (25), which mentioned that the use of an anionic ion pairing agent is required to avoid peak tailing and to achieve a reasonable separation on ODS-silica. The results obtained under the conditions described above, showed that all the peaks were symmetrical and pure, so the selectivity of the separation was considered as satisfactory to achieve the objective of the study without the use of any ion pairing agent.

Repeatability of parameters used for quantitative analysis:

The results in table (3) show that the repeatability of peak area, peak area ratio (analyte/standard), height and peak height ratio was excellent.

Table (3)
Chromatographic Peaks Area, Area Ratio, Height (n=5)

Identity	Area of peaks	S.D.	Area ratio M/IS	S.D.	Peak's mean height	S.D.	Height ratio	S.D.
CRE	1391,83	32,693	1,14	0,030	444,88	8,912	1,562	0.068
MO	1488,98	5,963	1,21	0,002	395,86	9,876	1,390	0.066
FA	1162,11	3,082	0,95	0,002	298,33	12,746	1,048	0.103
THP	1226,19	5,254	1,00	0,000	284,78	17,891	1,000	0.000
DH1	444,97	1,263	0,36	0,002	148,51	0,679	0,521	0.034
ME	853,52	3,063	0,70	0,005	272,61	1,216	0,184	0.057
BAL	133,91	1,937	0,11	0,002	38,96	0,137	0,957	0.008
DX	1721,90	6,707	1,40	0,008	580,55	1,207	0,137	0.130
MEBEN	1798,42	3,151	1,47	0,006	525,21	0,739	2,039	0.116
DH2	49,34	0,488	0,04	0,000	10,46	0,048	1,221	0.002
HA	1785,80	4,561	1,46	0,009	347,77	0,470	0,005	0.076
MI	1228,47	28,934	1,00	0,020	231,09	4,640	0,811	0.067
PRBEN	202,70	0,341	0,17	0,001	34,47	0,074	0,121	0.008

CRE: Creatinine, MO: Morphine, FA: Famotidine, DH: Dimenhydrinate, ME: Metoclopramide, BAL: Benzyl alcohol, DX: Dexamethasone, MEBEN: Methylparaben, HA: Haloperidol, MI: Midazolam, THP: Theophylline [internal standard (IS)], PRBEN: Propylparaben.

Calibration functions:

In the study each drug was considered stable in solution until it had lost 10% of its initial concentration. So the calibration functions for all the analysed compounds were calculated by using 3 concentrations corresponding to the initial concentration (at T= 0) and this concentration plus and minus 10%. Theophylline was used as the internal standard and it was added to samples

at a concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$. Each sample was measured in triplicate. Table (4) displays the concentrations of the analytical solutions used for calibration.

Table (4)
Concentrations Used for Calibration

Compound	Initial concentration (mg.mL⁻¹)	Concentration after dilution ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Concentration after dilution -10% ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Concentration after dilution +10% ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
Morphine	10.0	400.0	360.0	440.0
Dimenhydrinate	5.0	200.0	180.0	220.0
Haloperidol	0.5	20.0	18.0	22.0
Metoclopramide	0.5	20.0	18.0	22.0
Dexamethasone	0.4	16.0	14.4	17.6

The values of the coefficients of regression shown in table (5) indicate an excellent linearity within the interval between 90 – 110% of the target concentration for all compounds .

Table (5)
Calibration Functions

PRODUCT	FUNCTION	r
Morphine	$0.0011x - 0.0004$	0.9999
Dexamethasone	$0.0283x + 0.0005$	0.9999
Dimenhydrinate	$0.0067x + 0.0027$	0.9998
Haloperidol	$0.0218x - 0.0004$	0.9999
Metoclopramide	$0.0084x + 3.10^{-5}$	0.9989
Famotidine	$6.5999x - 0.0013$	0.9977
Midazolam	$12.575x - 0.0061$	0.9983

r = coefficient of regression

Results of stability studies:

Tables (6) and (7) present the results of the measured concentration expressed as the percentage of remaining drug at different times for the various drug mixtures studied under different conditions of temperatures (4°C and 25°C).

In this study, the compatibility and the stability of the maximal daily dose for a patient was examined. There was no interference of the analytes with their degradation products and chromatographic peaks were pure throughout all the study.

Xu Keyi et al. have studied the stability and the compatibility of binary mixtures containing famotidine (17). They mixed famotidine (2 mg.mL⁻¹) with dexamethasone (1 mg.mL⁻¹), haloperidol (0.2 mg.mL⁻¹), metoclopramide (5 mg.mL⁻¹), morphine (1 mg.mL⁻¹), midazolam (1.5 mg.mL⁻¹) and other compounds. They separated the drugs by reverse phase HPLC. The mobile phase was (30 mM sodium orthophosphate adjusted to pH 2.8: acetonitrile) (93:7) with a flow rate of 1 mL/min. All those binary mixtures were compatible.

In the present study, mixture M4 contains: morphine 10.00 mg.mL⁻¹, haloperidol 0.50 mg.mL⁻¹, metoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹ and famotidine 0.40 mg.mL⁻¹. Mixture M4 was stable and compatible at both 4°C and 25 C° as shown in tables (6) and (7). Mixture M3 contains: morphine 10.00 mg.mL⁻¹, octreotide 0.01 mg.mL⁻¹, haloperidol 0.50 mg.mL⁻¹, midazolam 1.00 mg.mL⁻¹ and famotidine 0.40 mg.mL⁻¹. Mixture M3 was stable and compatible at 25°C. However, this mixture was incompatible when conserved at 4°C. The formation of a precipitate on the surface of polypropylene syringes was observed after 24 hours. The precipitate has a crystalline and transparent aspect. Crystals were of irregular form. They were collected for analysis. The crystals were identified and confirmed as haloperidol by matching the retention time and the UV spectra of both reference haloperidol and the precipitate. Figures (2.a and 2.b) show the UV spectra of the precipitate and haloperidol.

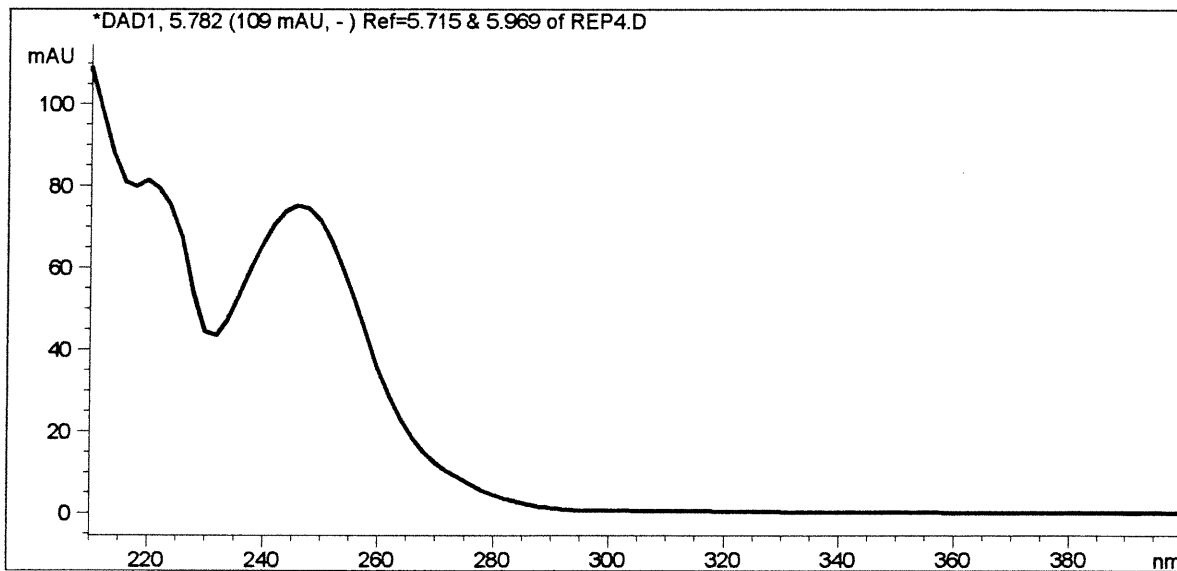


Figure (2.a): UV spectra of Haloperidol.

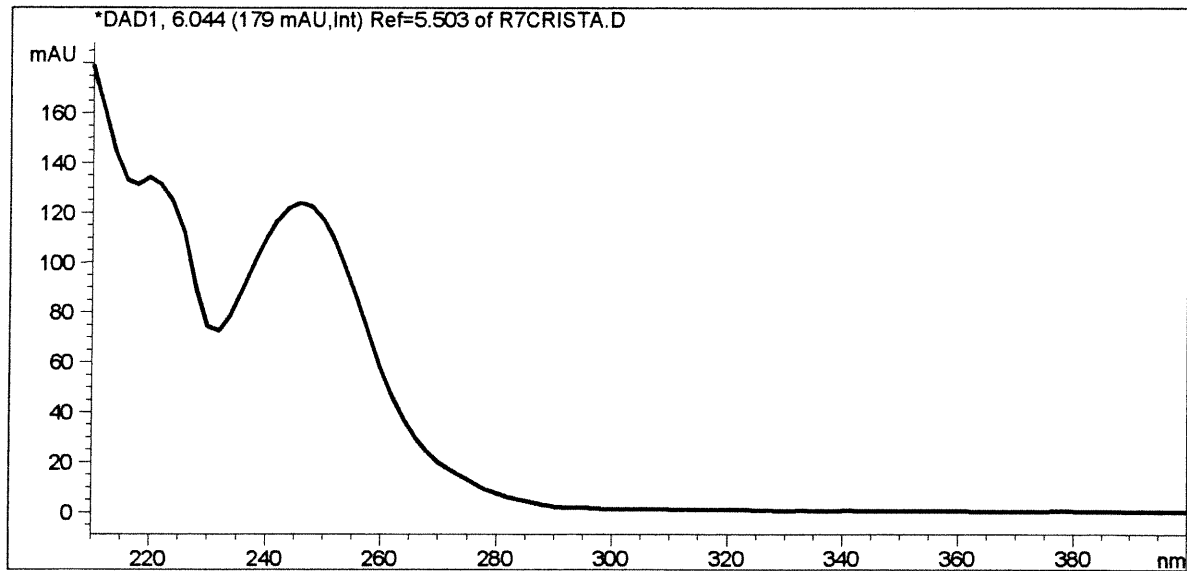


Figure (2.b): UV spectra of the crystal.

Michael J. Lebelle et al. have studied the stability and compatibility of a similar mixture containing morphine and haloperidol in 0.9% NaCl and 5% dextrose. In that study, the formation of crystals occurred after 24 hours of conservation in glass scintillation vial (20 mL) at ambient temperature. The analysis of those crystals by GC-MS showed that they contained haloperidol, methylparaben and propylparaben, with no sign of the presence of morphine (27).

In a recent study A. Vermeire et al. have optimized the compatibility of a mixture similar to M2 (morphine, haloperidol and dexamethasone). They found that maximal ratio resulting in effective concentrations of these drugs is (morphine/Decadron® pack/Haldol®) 10/1/1 (v/v/v). However, the concentrations of dexamethasone-21-sodium phosphate and haloperidol lactate were under therapeutic concentrations. They also found that Decadron® pack is compatible at higher concentrations than Decadron® (23). Under the conditions of the present study, when these drugs are mixed to prepare the therapeutic mixture M2 at maximal daily dose, the mixture was incompatible. The mixture is incompatible whatever the order of mixing. When morphine was mixed with either haloperidol or dexamethasone, the solutions were compatible. However, an incompatibility occurred when dexamethasone was mixed with haloperidol. Mixing haloperidol and dexamethasone gave rise to the formation of a white fluffy precipitate. After agitation and settling, a yellow solution can be observed with white particles in suspension and on the surface of the solution. This precipitate was insoluble in water, soluble in methanol and soluble in a 0.9% NaCl solution. Octreotide was not analysed; it was under the limit of detection. All the other mixtures were stable and compatible at 4°C and 25°C until 96 hours.

Table (6)
Percentages Remaining of Each Drug in Studied Mixtures at 4°C.

Time (hours)	0	4	8	12	24	48	72	96
Mixture 1 – 4 degrees								
Morphine	100,00	99,19	100,25	98,11	100,72	99,59	**	100,89
Dexamethasone	100,00	99,16	100,52	98,49	100,28	99,62	**	100,75
Mixture 3 – 4 degrees								
Morphine	100,00	100,70	100,28	100,70	100,69	99,80	100,88	101,09
Famotidine	100,00	99,85	100,77	100,58	100,93	100,39	101,08	101,06
Haloperidol	100,00	100,01	100,06	99,99	97,96	86,47	63,99	52,48
Midazolam	100,00	100,96	99,56	100,48	99,84	99,25	101,08	101,31
Mixture 4 - 4 degrees								
Morphine	100,00	99,54	100,27	100,38	99,71	101,65	99,87	99,44
Famotidine	100,00	99,63	100,44	100,09	99,34	99,91	98,91	98,63
Metoclopramide	100,00	99,66	100,41	100,38	99,78	101,08	99,79	99,62
Haloperidol	100,00	99,53	100,30	100,27	99,62	100,57	96,55	94,60
Mixture 5 – 4 degrees								
Morphine	100,00	100,46	99,00	99,14	97,95	98,15	99,45	100,80
Famotidine	100,00	100,37	99,26	99,06	99,26	99,49	100,43	101,37
Dimenhydrinate	100,00	100,52	99,25	99,23	98,07	98,36	99,45	100,69
Metoclopramide	100,00	100,46	99,33	99,29	98,37	98,68	99,76	100,98
Haloperidol	100,00	100,57	100,35	99,58	99,75	99,74	100,62	101,29
Mixture 2 – 4 degrees								
Morphine	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP
Dexamethasone	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP
Haloperidol	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP

INCOMP: incompatible.

** The determination at 72 hours has not been performed.

Table (7)
Percentages Remaining of Each Drug in Studied Mixtures at 25 °C.

Time (hours)	0	4	8	12	24	48	72	96
Mixture 1-25 degrees								
Morphine	100,00	100,02	99,85	98,73	101,74	99,77	100,61	100,00
Dexamethasone	100,00	100,13	102,14	100,87	99,80	99,13	100,57	99,45
Mixture 3-25 degrees								
Morphine	100,00	101,33	100,56	101,44	100,56	100,38	100,65	100,31
Famotidine	100,00	102,33	100,74	101,32	99,60	98,38	97,62	96,27
Haloperidol	100,00	100,74	100,32	100,16	100,62	99,70	99,86	100,45
Midazolam	100,00	99,50	98,23	101,09	101,09	100,73	101,00	100,29
Mixture 4-25 degrees								
Morphine	100,00	100,17	99,41	100,17	99,78	101,23	99,78	99,02
Famotidine	100,00	100,29	99,07	99,40	98,93	98,35	96,24	95,60
Metoclopramide	100,00	100,23	99,39	100,06	99,94	100,58	99,61	99,21
Haloperidol	100,00	100,19	99,23	99,99	99,42	100,45	98,86	100,18
Mixture 5-25 degrees								
Morphine	100,00	99,91	99,11	98,08	97,49	97,47	100,55	100,09
Famotidine	100,00	99,94	99,74	97,86	98,90	98,90	100,84	100,04
Dimenhydrinate	100,00	100,02	99,21	98,10	99,37	97,60	100,31	99,83
Metoclopramide	100,00	100,03	99,39	98,13	99,66	97,97	100,83	100,30
Haloperidol	100,00	100,24	100,25	98,53	100,90	99,26	101,70	100,81
Mixture 2-25 degrees								
Morphine	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP
Dexamethasone	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP
Haloperidol	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP	INCOMP

INCOMP: incompatible.

CONCLUSION

The method described in this study is fast, reproducible and robust method. It allows to separate morphine, dexamethasone, haloperidol, midazolam, famotidine, metoclopramide, dimenhydrinate and the preservatives present in their pharmaceutical preparations and to quantify these drugs. This study is the only one that has checked the compatibility and the stability of maximal daily dose of drug mixtures for palliative care. Our results show that the mixtures (M1) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Dexamethasone 0.40 mg.mL⁻¹, Octreotide 0.01 mg.mL⁻¹, (M4) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Haloperidol 0.50 mg.mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, Metoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹ and (M5) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Octreotide 0.01 mg.mL⁻¹, Haloperidol 0.50 mg.mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, Metoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹, Dimenhydrinate 5.00 mg.mL⁻¹ are stable for 96 hours at 25°C and at 4°C. Mixture (M3) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Octreotide 0.01 mg.mL⁻¹, Haloperidol 0.50 mg.mL⁻¹, Midazolam 1.00 mg.mL⁻¹, Famotidine 0.40 mg.mL⁻¹ is stable at 25°C, nevertheless, M3 was incompatible after 24 hours when stored at 4°C. Mixture (M2) Morphine 10.00 mg.mL⁻¹, Dexamethasone 0.40 mg.mL⁻¹, Haloperidol 0.50 mg.mL⁻¹ was incompatible at any temperature.

ACKNOWLEDGMENTS

We wish to thank the department of palliative care of the Royal Victoria Hospital in Montreal for Research Funding.

REFERENCES

1. Ashburn, M. A; Lipman, A. G.: Management of pain in the cancer patient. *Anesth. Analg.* **1993**, *76*, 402-416.
2. Walsh, D. : Pharmacological management of cancer pain. *Seminars in Oncology* **2000**, *27*, 45-63 .
3. Hor, M. M. S; Chan, S.Y.; Yow, K.L.; Lim, L.Y.; Chan, E.; P.C. Ho: Stability of Morphine Sulphate in Saline Under Simulated Patient Administration Conditions. *J. Clin. Pharm. Ther.* **1997**, *22*, 405-410.
4. Oustric-Mendes, A.C.; Huart, B.; Le Hoang, M.D.; Perrin-Rosset, M.; Pailler, F. M.; Darbord, J. C.; Prognont, P.; Gard, C.; Pradeau, D.: Study protocol: stability of morphine injected without preservative, delivered with a disposable infusion device. *J. Clin. Pharm.* **1997**, *22*, 283-290.
5. Steger, P.J.K.; Martinelli, E.F.; Mühlebach, S.F.: Stability of high-dose morphine chloride injection upon heat sterilization: comparison of UV-spectrometry and HPLC. *J. Clin. Pharm. Ther.* **1996**, *21*, 73-78.
6. Tortorice, P.V.; O'Connell, M. B.: Management of chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Pharmacotherapy* **1990**, *10*, 129-145.
7. Grunberg, S.M.; Akerley, W.L.; Krailo, M.D.; Johnson, K.B.; Baker, C.R.; Cariffe, P.A.: Comparison of metoclopramide and metoclopramide plus dexamethasone for complete protection from cisplatin-induced emesis. *Cancer invest.* **1986**, *4*, 379-85.
8. Cunningham, D.; Forrest, G.J.; Soukop, M.; Gilchrist, N.L.; Calder, I.T.; McArdle, C.S.: Nabilone and prochlorperazine: a useful combination for emesis induced by cytotoxic drugs., *B.M.J.* **1985**, *291*, 864-865.
9. Vermeire, A.; Remon, J. P.: Compatibility and stability of morphine in binary admixtures with haloperidol, midazolam, dexamethasone or methylprednisolone. *Int. J. Pharm.* **1998**, *174*, 157-177.
10. Stiles, M.L.; Allen, L.V., Jr.; Prince, S.J.; Holland, J. S.: Stability of dexamethasone sodium phosphate, diphenhydramine chloride, lorazepam and metoclopramide in portable infusion pump Reservoirs. *Am. J. Hosp. Pharm.* **1994**, *51*, 514-517.
11. Wang, D.P.; Chang, L.C.; Wong, C.Y.: Stability of fluorouracil-metoclopramide hydrochloride admixture. *Am. J. Health-Syst. Pharm.* **1995**, *52*, 98-99.

12. Nahata, M.C.; Morosco, R.S.; Sabados, B.K.; Weber, T.R.: Stability and compatibility of anakinra with intravenous cimetidine hydrochloride or famotidine in 0.9% sodium chloride injection. *J. Clin. Pharm.* **1995**, *20*, 97-99.
13. Xu, Q.A.; Trissel, L.A.; Martinez, J.F.: Stability of famotidine in polypropyl chloride minibags and polypropylene syringes and compatibility of famotidine with selected drugs. *Ann. Pharmacother.* **1996**, *30*, 756-761.
14. Johnson, C.E.; Christen, C.; Perez, M.M.; Ma, M.: Compatibility of bupivacaine hydrochloride and morphine sulfate. *Am. J. Health-Sys. Pharm.* **1997**, *54*, 61-64.
15. Chin, A.; Suk, Y.; Moon, K.; Chung, K.C.; Gill, M.A.: Stability of granisetron hydrochloride with dexamethasone sodium phosphate for 14 Days. *Am. J. Health-Sys. Pharm.* **1996**, *53*, 1174-1176.
16. Hagan, R.L.; Mallet, M.S.; Fox, J.L.: Stability of ondansetron hydrochloride and dexamethasone sodium phosphate in infusion bags and syringes for 32 days. *Am. J. Health-Syst. Pharm.* **1996**, *53*, 1431-1435.
17. Keyi, X.; Gagnon, N.; Bisson, C.; Desmarais, M.; LeBel, M.: Stability of famotidine in polypropyl chloride minibags and polypropylene syringes and compatibility of famotidine with selected drugs. *Ann. Pharmacother.* **1993**, *27*, 422-426.
18. Walker, S. E.; DeAngelis, C.; Iazzeta, J.; Eppel, J. G.: Compatibility of dexamethasone sodium phosphate with hydromorphone hydrochloride or diphenhydramine hydrochloride. *Am. J. Health-Syst. Pharm.* **1991**, *48*, 2161-2166.
19. Zhang, Y.; Trissel, A. L.; Martinez, J. F.; Gilbert, D. L.: Stability of metoclopramide hydrochloride in plastic syringes. *Am. J. Health-Syst. Pharm.* **1996**, *53*, 1300-1302.
20. R. A. Lugo, M. C. Nahata: Stability of diluted dexamethasone sodium phosphate injection at two temperatures. *Ann. Pharmacother.* **1994**, *28*, 1018-1019.
21. Gagné, D.; Lodge, B.A.: Analysis of dexamethone sodium phosphate formulations by high-performance liquide chromatography. *J.Chromatogr.* **1980**, *193*, 160-162.
22. Peterson, G.M.; Miller, K.A.; Galloway, J.G.; Dunne, P.F.: Compatibility and stability of fenantyl admixtures in Polypropylene Syringes. *J. Clin. Pharm. Ther.* **1998**, *23*, 67-72.
23. Vermeire, A.; Remon, J.P.: Compatibility and stability of ternary admixtures of morphine with haloperidol or midazolam and dexamethasone or methylprednisolone. *Int. J. Pharm.* **1999**, *177*, 53-67.

24. Svensson, J.O.; Rane, A.; Säwe, J.; Sjöqvist, F.: Determination of morphine, morphine-3-glucuronide and (tentatively) morphine-6-glucuronide in plasma and urine using ion-pair high-performance liquid Chromatography. *J. Chromatogr.* **1982**, *230*, 427.
25. Lebel, M.J.; Savard, C.; Gagnon, A.: Compatibility of morphine and midazolam or haloperidol in paternal admixtures. *Can. J. Hosp. Pharm.* **1995**, *48*, 155-160.
26. D. C. Harris, **Quantitative chemical analysis**, fourth edition, W. H. Freeman and Company, New York, 1995, pp 577-579.
27. Barrett, D.A.; Pawula, M.; Knaggs, R.D.; Shaw, P.N.: Retention behavior of morphine and its metabolites on a porous graphitic carbon column. *Chromatographia*. **1998**, *47*, 667-672.

Annexe III

Publication

**HPLC DAD METHOD FOR STUDYING THE STABILITY OF
SOLUTIONS CONTAINING HYDROMORPHONE,
KETOROLAC, HALOPERIDOL, MIDAZOLAM, FAMOTIDINE,
METOCLOPRAMIDE, DIMENHYDRINATE AND
SCOPOLAMINE**

Soumise à:

Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies

**HPLC DAD METHOD FOR STUDYING THE STABILITY OF
SOLUTIONS CONTAINING HYDROMORPHONE, KETOROLAC, HALOPERIDOL,
MIDAZOLAM, FAMOTIDINE, METOCLOPRAMIDE, DIMENHYDRINATE AND
SCOPOLAMINE**

1. S. Nassr^{1*}, M. C. Dubuc¹, P. Lavoie², J.L. Brazier¹

Chaire Médicament Grossesse Famille L.Boivin Research Center Sainte-Justine Hospital

Faculty of Pharmacy – University of Montreal

CP 6128 Succursale Centre Ville Montréal (QC) H3C 3J7

2. Héma-Québec 3131, rue Sherbrooke Est Montréal (Québec) H1W 1B2

ABSTRACT

The objectives of this study were to evaluate both the compatibility and the stability of hydromorphone when mixed with different drugs and to provide recommendations for appropriate conservation conditions.

Methods: Four drug mixtures used for palliative care were stored in polypropylene syringes at different temperatures (25°C, 4°C) up to 96 hours. These mixtures were:

- 1) M1: Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, midazolam 1.00 mg.mL⁻¹, famotidine 0.40 mg.mL⁻¹.
- 2) M2: Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, metoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹, haloperidol 0.50 mg.mL⁻¹;
- 3) M3: Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, ketorolac 1.50 mg.mL⁻¹, metoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹, famotidine 0.40 mg.mL⁻¹;
- 4) M4: Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, dimenhydrinate 5.00 mg.mL⁻¹, haloperidol 0.50 mg.mL⁻¹, famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, scopolamine 0.04 mg.mL⁻¹.

Drug mixtures were prepared in NaCl 0.9%, in order to obtain a 100 mL final solution containing the maximum daily dose of each component.

For the separation and quantification of active ingredients fast, precise, accurate and sensitive methods were developed. Drugs were separated using High performance liquid chromatography-diode array detector HPLC-DAD with a Zorbax® Eclipse XDB C₁₈ column under elution gradient. Just after preparing the mixture of drugs and then after 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96 hours, the physical appearance of each solution was observed, and drug concentrations were controlled.

Stability was assumed if the loss after 96 hours was less than 10% of the initial concentration.

Introduction

Many cancer patients suffer from pain or other problems such as nausea and vomiting (emesis) due to the progress of their disease or to the toxicity of its treatment [1, 2]. To manage the pain, morphine is frequently used as a potent opioid analgesic and hydromorphone is used for the same purpose but for intense pain [3].

Morphine and hydromorphone have similar structures. The difference between them is the presence of a double bond on the morphine at position 7-8, which is saturated in the hydromorphone molecule. For that reason, hydromorphone is more hydrophilic than morphine, which makes hydromorphone more powerful than morphine. The main advantage of Hydromorphone is that it is four times as potent as morphine, allowing for smaller injection or infusion volumes in patients who require opioids to be administered parenterally [4].

Subcutaneous infusion is one of the best routes for drug administration in palliative care[2]. Therefore, mixing drugs will prevent multiple perfusions. Several studies done on nausea and vomiting propose that the combination antiemetic regimens may be more effective than monotherapy [1, 5]. Several studies have been carried out on the drugs that are studied in this work. The stability of single drugs has been carried on hydromorphone [6], Midazolam [6], Haloperidol [7], metoclopramide [8-11]. However, few studies have been performed on the stability and the compatibility of drug mixtures, which contain two drugs [10] or more [12].

HPLC methods of the drugs involved in this study have been reported [6-12], but there is no available method that permits a simultaneous separation of the followed drug mixtures:

M1: Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, midazolam 1.00 mg.mL⁻¹, famotidine 0.40 mg.mL⁻¹

M2: Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, metoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹, haloperidol 0.50 mg.mL⁻¹;

M3: Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, ketorolac 1.50 mg.mL⁻¹, metoclopramide 0.50 mg.mL⁻¹, famotidine 0.40 mg.mL⁻¹;

M4: Hydromorphone 10.00 mg.mL⁻¹, dimenhydrinate 5.00 mg.mL⁻¹, haloperidol 0.50 mg.mL⁻¹, famotidine 0.40 mg.mL⁻¹, scopolamine 0.04 mg.mL⁻¹.

The aim of this study was to set up and validate analytical methods capable of separating and quantifying each of the previous mixtures in order to assess both the compatibility and the stability of Hydromorphone when mixed with other drugs and to provide recommendations for the appropriate conservation conditions. Those mixtures, which are used for palliative care, were studied under the conditions in which they are used in Royal Victoria Hospital. They were stored in polypropylene syringes at different temperatures (25 and 4°C) over 96 hours. These mixtures contain the maximal daily dose of each drug. The methods of separation had to be able to separate the drugs from the preservatives used in some of their pharmaceutical preparations like benzyl alcohol. The methods had to be fast in order to process the numerous samples required for the conservation study. For the study, we prepared therapeutic solutions by mixing the compounds in the decreasing order of their maximal daily dose as shown in table (1).

Table (1)
The Order of Drug Mixing, the Maximal Daily Dose for Each Drug and Its Final Concentration in the Therapeutic Solution

Order*	Molecule	Maximal daily dose mg.day⁻¹	Finale concentration mg.mL⁻¹
1	Dihydromorphone	1000,00	10,00
2	Dimenhydrinate	500,00	5,00
3	Ketorolac	150,00	1,50
4	Midazolam	100,00	1,00
5	Haloperidol	50,00	0,50
6	Metoclopramide	50,00	0,50
7	Famotidine	40,00	0,4
8	Scopolamine	4,00	0,04

* The order of mixing

EXPERIMENTAL

Materials and methods:

Standards drugs:

The drugs were obtained from the pharmaceutical service of the Royal Victoria Hospital (Montreal – QC- Canada). Hydromorphone hydrochloride- 50 mg.mL⁻¹ (Hydromorphone XP® Injection, Sabex), (Pr Haloperidol) Haloperidol base – 5 mg.mL⁻¹ (Haloperidol injection USP, Sabex) contains lactic acid to adjust the pH, Dimenhydrinate - 50 mg.mL⁻¹ (Dimenhydrinate IM injection USP, Sabex) containing benzyl alcohol, Famotidine - 10 mg.mL⁻¹ (Pepcid® IV, Merck), Midazolam - 5 mg.mL⁻¹ (Versed®, Roche) containing benzyl alcohol, Metoclopramide hydrochloride - 30 mg.mL⁻¹ (Chlorhydrate de metoclopramide injection, Sabex), Kétorolac tromethamine - 30 mg.mL⁻¹ (Toradol®, Roche) contains 10% (w/v) alcohol USP, Scopolamine hydrobromide - 0.4 mg.mL⁻¹ (Scopolamine hydrobromide injection USP, Abbott).

Other chemicals: Sodium chloride 0.9% - 50 mL (Baxter), anhydrous Theophylline (Sigma) used as internal standard.

Chemicals:

Chemicals used for preparing the mobile phase were: Acetonitrile (HPLC grade, Burdick & Jackson), water HPLC grade (J.T.Baker), potassium dihydrogen-orthophosphate (BDH). The phosphate buffer (KHPO₄ 0.05 mol.L⁻¹) was prepared by dissolving 13,609 g of potassium dihydrogen-orthophosphate into 2.00 L of water HPLC grade. The pH of the solution was adjusted to 4,6 with phosphoric acid. All solvents were filtered before use on a 0,45 µm filter (Gelman Sciences).

Apparatus:

The HPLC instrument used was a Hewlett Packard® Series 1100 liquid chromatograph equipped with a binary pumping system, a degasser, a compartment for the columns in which the temperature was controlled (23°C), an auto-sampler and a photodiode array spectrophotometer (HP 1100 Series Diode Array Detector). The control of the instrument as well as data acquisition and treatment were performed using the ChemStation HP software. The chromatographic separation was carried out on a Zorbax® Eclipse XDB C₁₈ (3.5 µm, 4.6×7.5 mm) column.

Sample preparation:

For the preparation of all the mixtures, the maximal quantity to be administered per day of each of the admixture constituents was introduced into a 100 mL volumetric flask (from each of the commercial preparations).

Drugs were added one by one in the decreasing order of their final concentrations. The volume was completed to 100 mL with NaCl 0.9%.

Conservation:

Each of the solutions (M1 to M4) was distributed into ten 5 mL polypropylene syringes. Batches of 5 syringes were placed at different controlled temperatures: 5 were placed in the refrigerator at 4°C and the other 5 were conserved at 25°C.

After the addition of each component of the mixture, immediately after the preparation of the mixture and then 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96 hours after sample preparation, the physical appearance of each solution was observed on black and white backgrounds with a magnifier and the

concentrations of hydromorphone, dimenhydrinate, metoclopramide, midazolam, haloperidol, famotidine were determined by HPLC.

Analytical sample preparation:

For the quantitative analysis, an internal standard (500 μL of an aqueous solution of theophylline $1.00 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) was added to 200 μL of the analyzed sample (mixture from syringes) into a 5 mL volumetric flask. The volume was then completed to 5 mL. Then, 10 μL of the resulting solution were injected into the chromatographic column. Analyses were performed in duplicate.

Chromatographic separation:

A diode array detector (DAD) was used because it offers more advantages on the conventional UV detector. DAD permits the rapid scanning of the full spectrum of a compound as it emerges from the chromatographic column and it offers the multi-wavelength detection option [13]. According to the UV spectral characteristics of the analyzed compounds and in order to maximize the sensitivity of the detection, we chose different wavelengths for each mixture. Table (2) shows the wavelength used for each product.

Table 2
Wavelengths of Detection

Produits	M1	M 2	M 3	M 4
DHMO	281 nm	285 nm	281 nm	285 nm
DH				285 nm
ME		285 nm	271 nm	
KE			318 nm	
HA		250 nm		250 nm
MI	219 nm			
FA	267 nm		267nm	270 nm
SCO				non analyzed

We used three wavelengths to detect the active products in mixture M1: 281 nm for hydromorphone, 219 nm for midazolam, 267nm for famotidine and 271 nm for theophylline. as it is shown in figures (1, 2, 3 and 4)

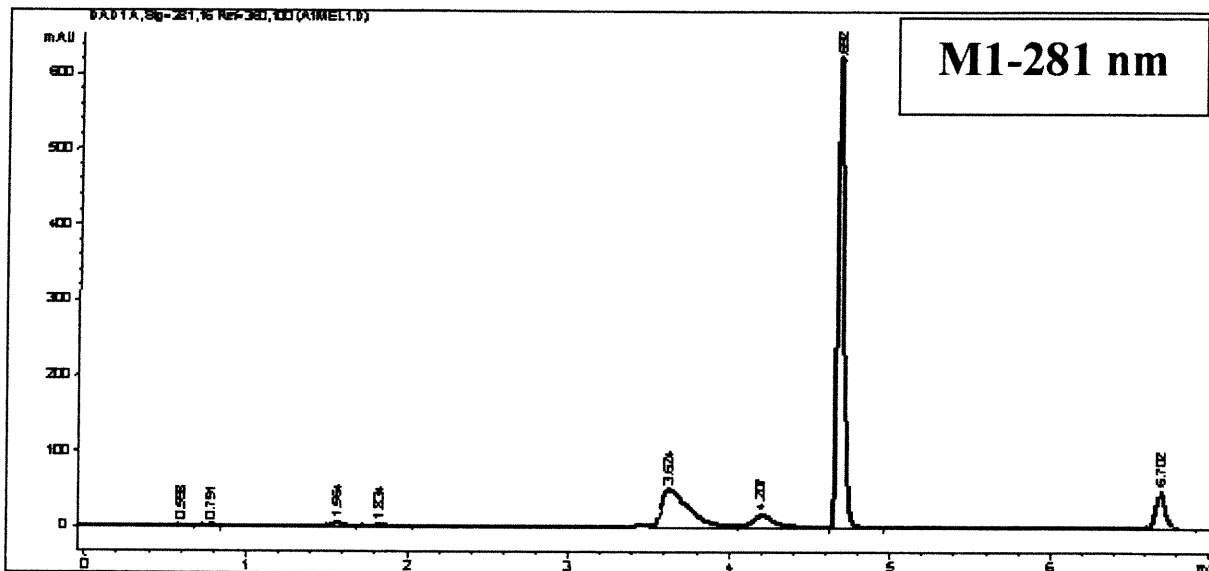


Figure (1) Chromatogram of the mixture 1 - 281 nm.

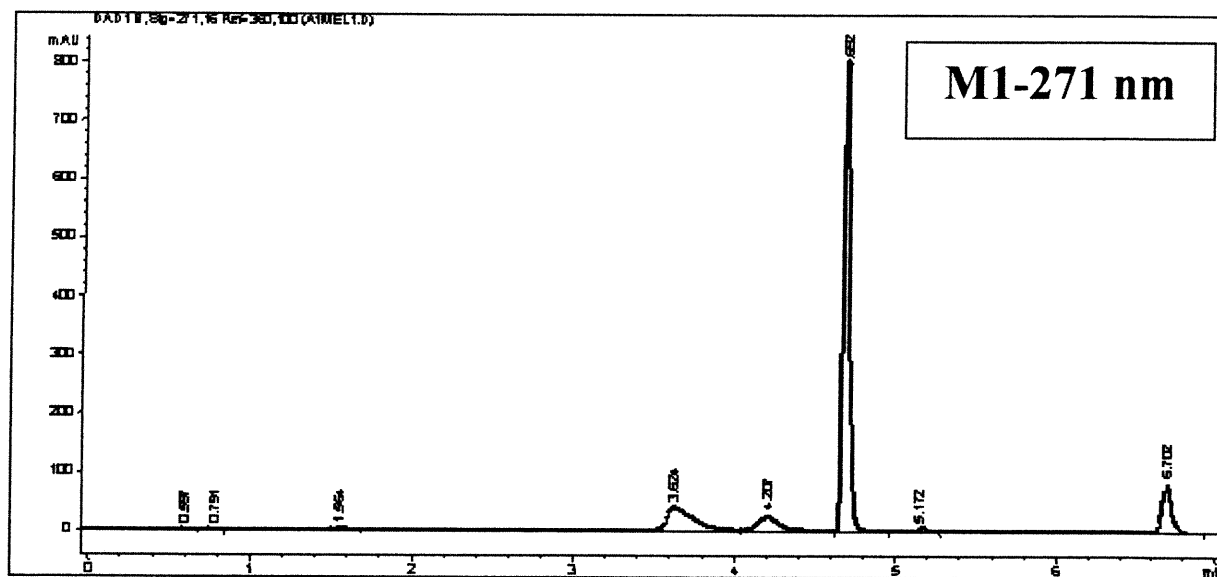


Figure (2) Chromatogram of the mixture 1 - 271 nm

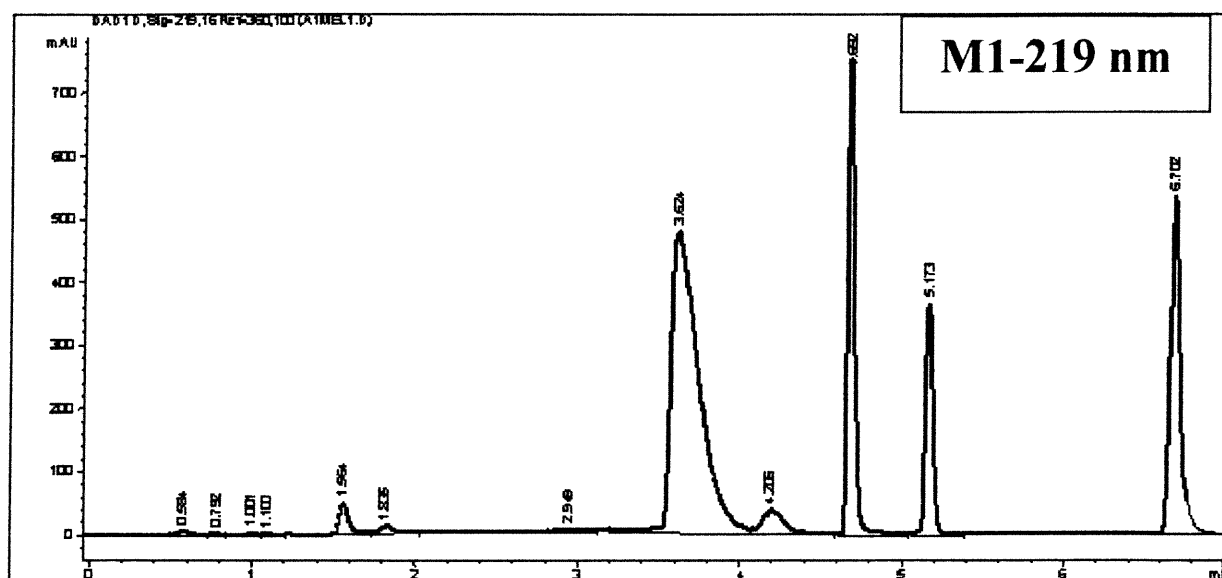


Figure (3) Chromatogram of the mixture 1 - 219 nm

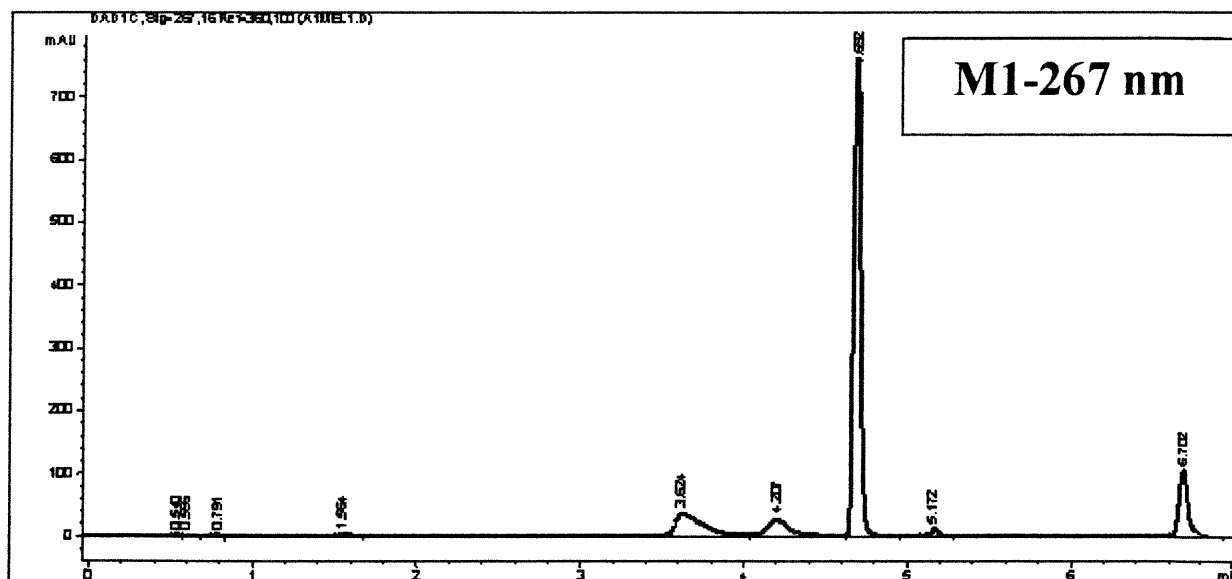


Figure (4) Chromatogram of the mixture 1 - 267 nm

The detection in the mixtures M2 was performed using two wavelengths: Haloperidol and theophylline were detected at 250 nm; hydromorphone, metoclopramide and theophylline were detected at 285 nm as it is shown in figures (5 and 6).

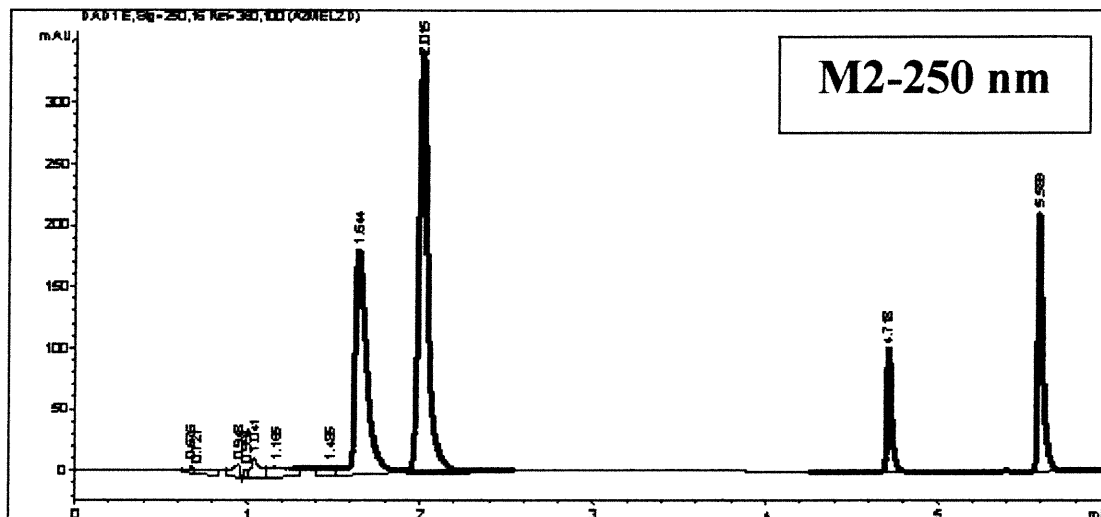


Figure (5) Chromatogram of the mixture 2- 250 nm

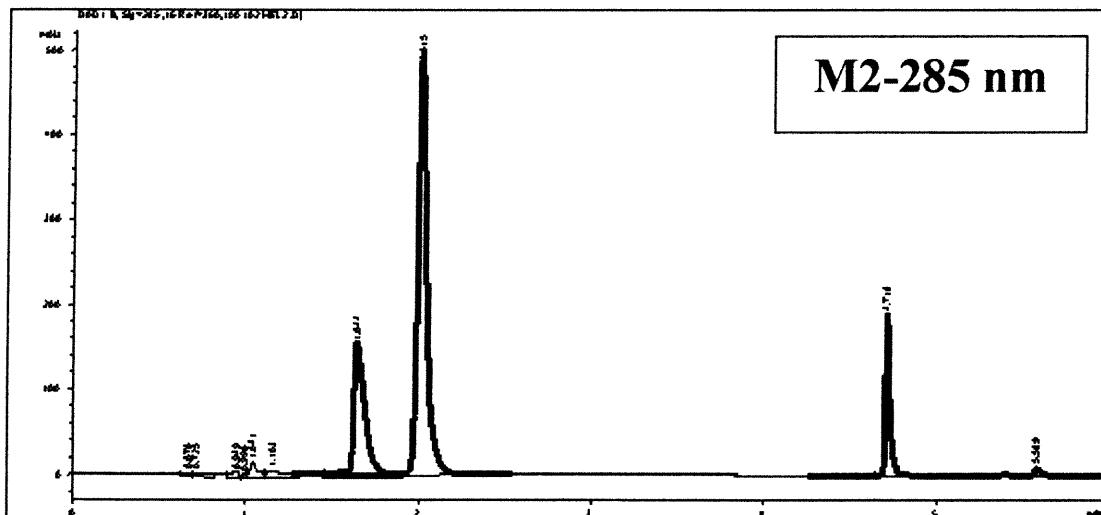


Figure (6) Chromatogram of the mixture 2 - 285 nm

The detection in the mixtures M3 was performed using the maximum wavelength for each compound: Hydromorphone 281nm, metoclopramide 285nm, ketorolac 318nm, famotidine 267nm and 271nm for theophylline. Figures (7 and 8) show typical chromatograms obtained under the conditions described above with detection at both 285 nm and 250 nm. The separation of all the drugs and preservatives is achieved in less than 8 minutes.

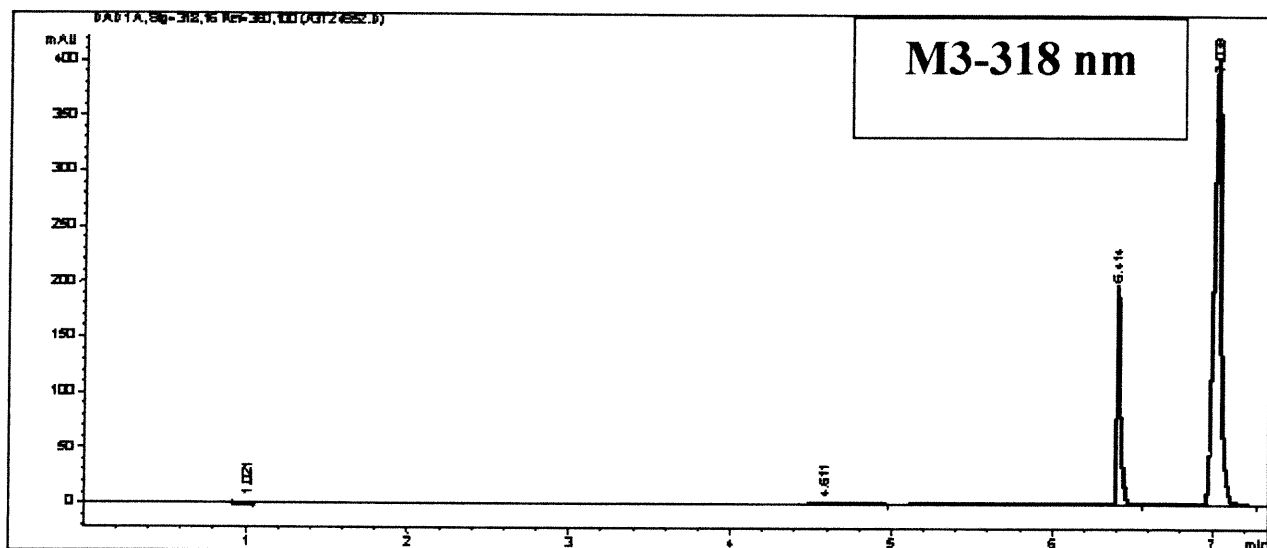


Figure (7) Chromatogram of the mixture 3 - 318 nm

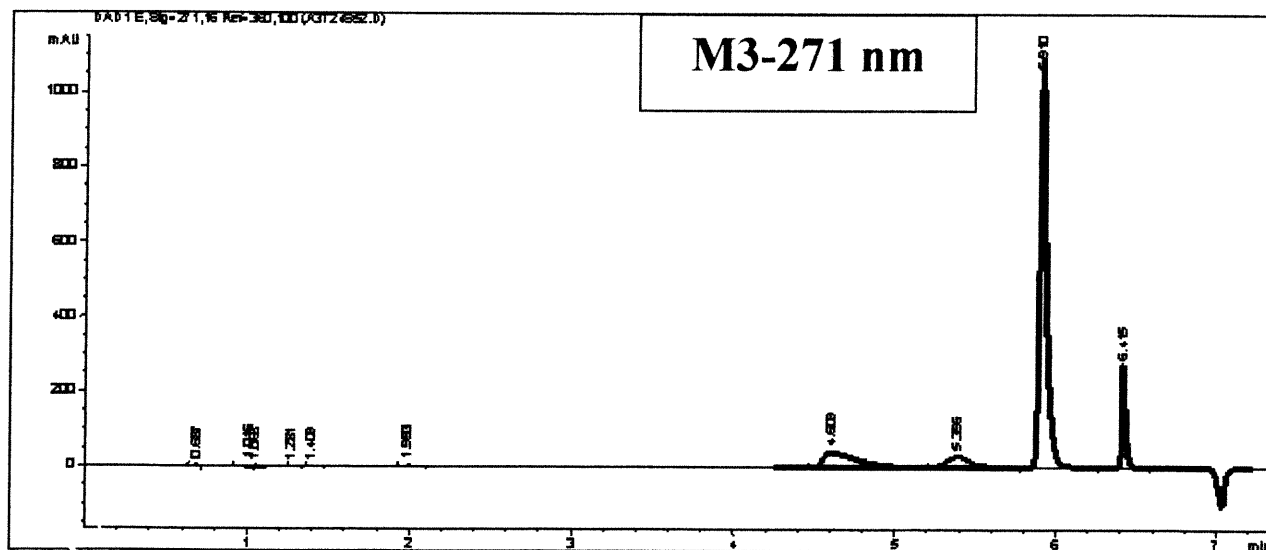


Figure (8) Chromatogram of the mixture 3 - 271 nm

For the mixture M4 we used three wavelengths: 285 nm for hydromorphone, dimenhydrinate ; 250 nm for haloperidol and 270 nm for famotidine.

The analysis of Mixtures 2 and 4 have been performed first then we optimized the detection for the other two mixtures.

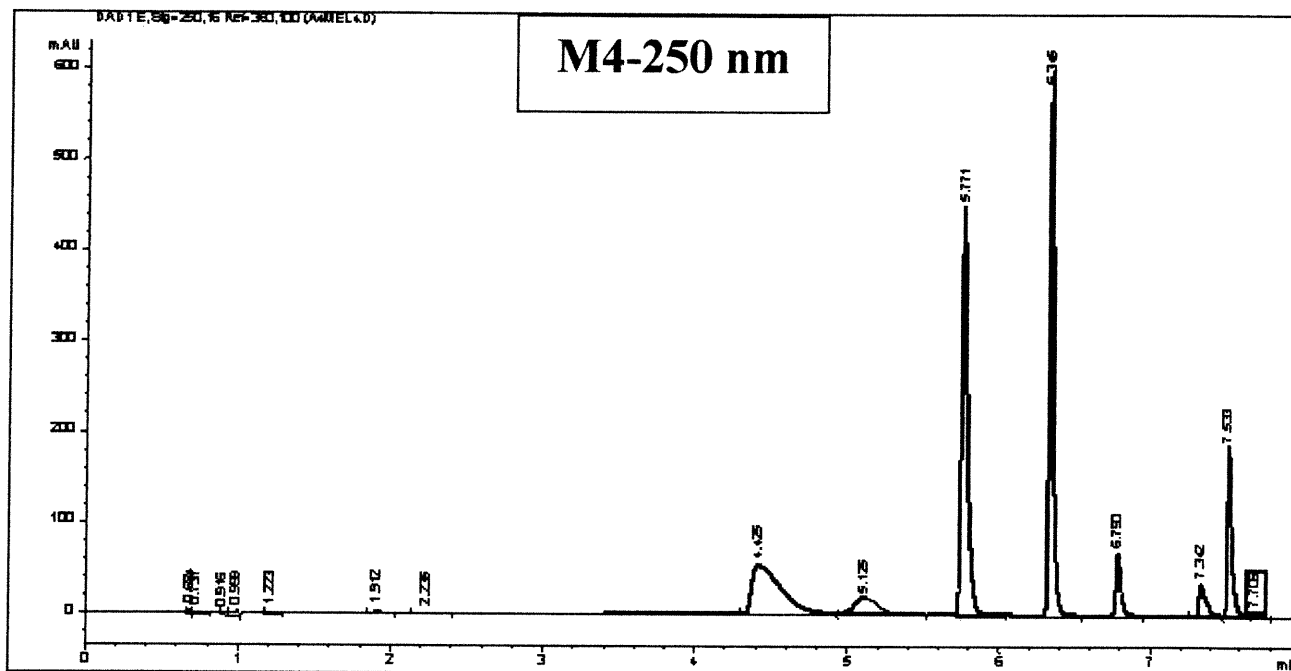


Figure (9) Chromatogram of the mixture 4 - 250 nm

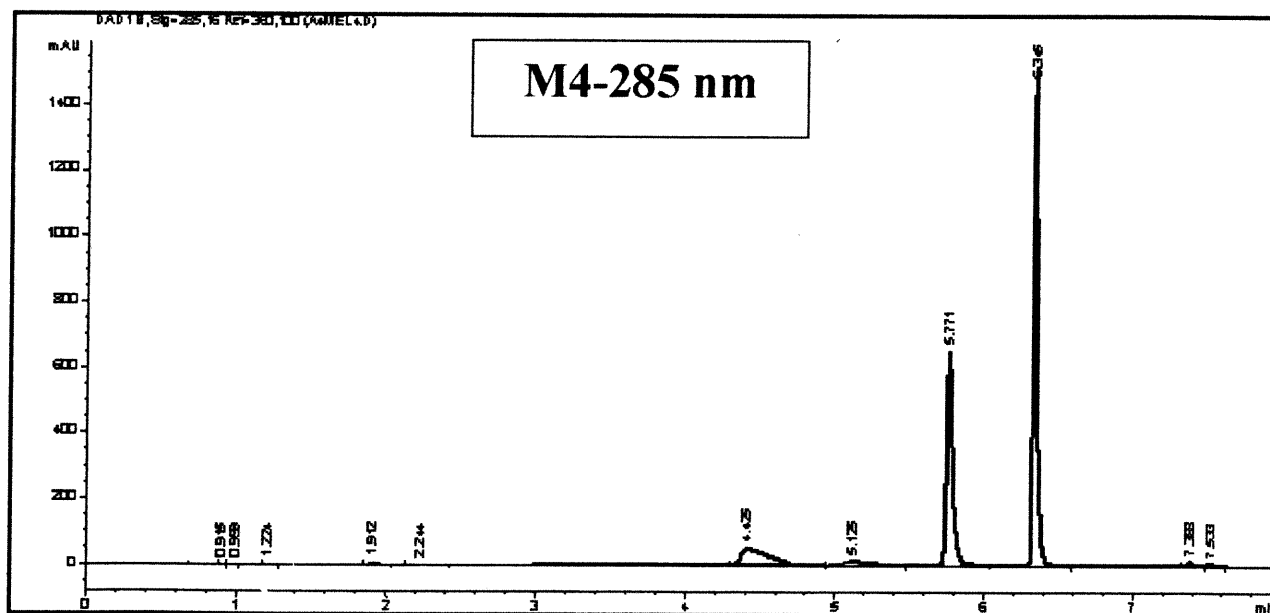


Figure (10) Chromatogram of the mixture 4 - 285nm

Separation of hydromorphone and famotidine:

Hydromorphone and famotidine had close retention times. We tried several conditions of elution to separate those two components using 0.05M KH_2PO_4 /acetonitrile as a mobile phase.

Hydromorphone elutes before famotidine and the separation was achieved at (5%) of acetonitrile with an isocratic elution and a flow rate of $1.00 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The quality of separation diminished at higher percentages of acetonitrile (6%), the capacity factor of famotidine became closer to the capacity factor of haloperidol as it is shown in figure (11).

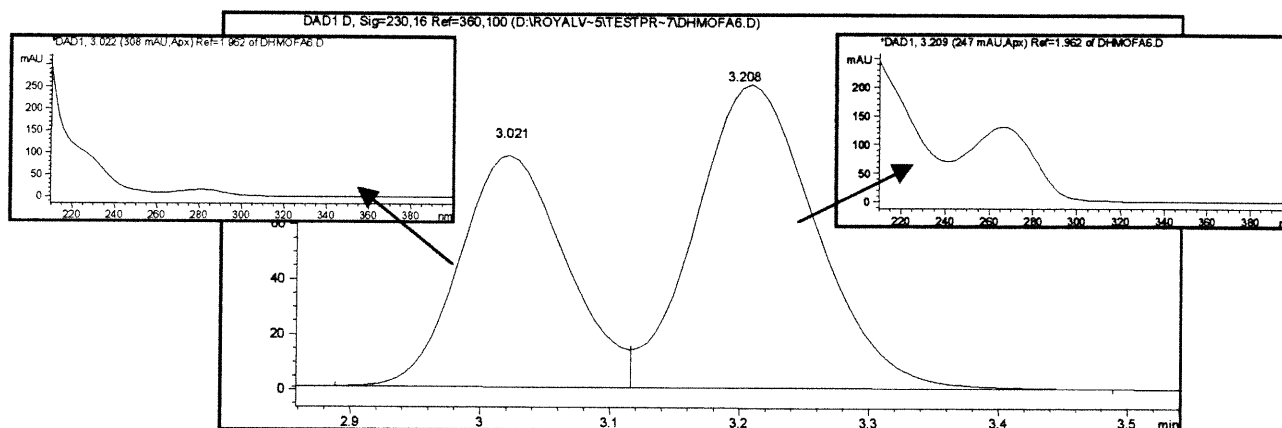


Figure (11) : Separation of famotidine and hydromorphone using an isocratic elution 6 :94 acetonitrile: Phosphate buffer (KH_2PO_4 0.05M)

The famotidine elute before hydromorphone when the percentage of acetonitrile is increased to (10) % and higher. Between 12% and 14% of acetonitrile, the resolution reached its maximum value but without a complete return to the base line, as shown in the figure (12).

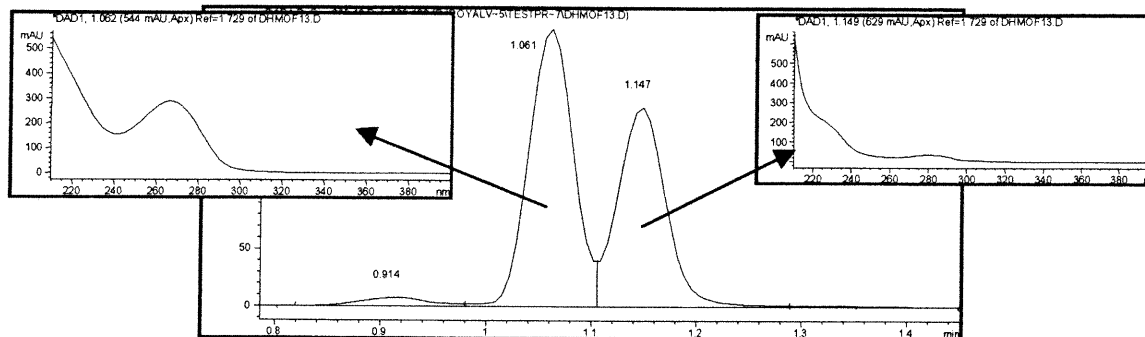


Figure (2) : Separation of famotidine and hydromorphone using an isocratic elution 13: 87 acetonitrile: Phosphate buffer (KH_2PO_4 0.05M).

When we raised the percentage of acetonitrile, the resolution diminished until the two product eluted at the same time. The variation of resolution is shown in figure (13). The famotidine and the hydromorphone interact with the buffer, so when the percentage of acetonitrile is raised the concentration of phosphate is decreased, which modify the interaction between the analytes and the mobile phase and that is reflected by the variation of the capacity factor of the two analytes.

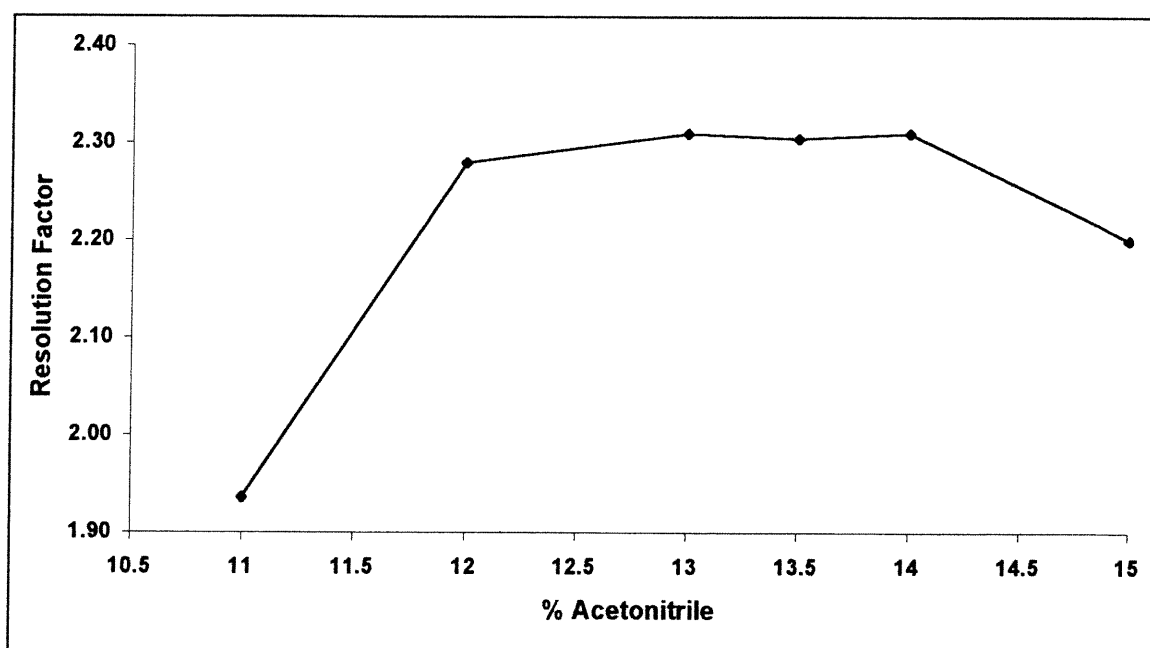


Figure (3): The resolution factor between 11% and 15 % of acetonitrile.

The best separation between haloperidol and famotidine was performed using an isocratic separation with 5% of acetonitrile and 95% of phosphate buffer (0.05M KH_2PO_4) adjusted at (pH 4.6) and the flow rate of the mobile phase was set at $1.00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. These conditions are convenient for the mixtures M3 and M4. After the elution of hydromorphone and famotidine, the percentage of acetonitrile was increased to separate the other constituents as is shown in the figures (9 and 10).

For the mixture M1 the flow rate was increased to $1.25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ to achieve a faster time of analysis.

Separation of the mixtures M1, M2, M3 and M4:

The final mobile phase was composed of two elution solvents: A: 100% acetonitrile and B: a phosphate buffer at pH = 4.6 (KHPO_4 0.05 mol.L⁻¹).

Elution were carried out using an elution gradient according to the following profile:

- For the mixture M1: acetonitrile / phosphate buffer (5/95) between $t = 0.00$ and $t = 3.00$ minute, then acetonitrile was increased to 35% until $t = 3.50$ minutes then to 43% until $t = 5.00$ minutes. The flow rate of mobile phase was set at $1.250 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.
- For the mixture M2: acetonitrile / phosphate buffer (10/90) between $t = 0.00$ and $t = 2.00$ minute, then acetonitrile was increased to 50% until $t = 4.00$ minutes. The flow rate of mobile phase was set at $1.000 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Under these conditions the overall analysis cycle was less than 12 minutes and allowed to process 20 samples in four hours.
- For the mixture M3: acetonitrile / phosphate buffer (5/95) between $t = 0.00$ and $t = 3.50$ minute, then acetonitrile was increased to 14% until $t = 4.20$ minutes then to 43% until $t = 4.70$ minutes. The flow rate of mobile phase was set at $1.000 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.
- For the mixture M4: acetonitrile / phosphate buffer (5/95) between $t = 0.00$ and $t = 3.50$ minute, then acetonitrile was increased to 50 % until $t = 6.00$ minutes. The flow rate of mobile phase was set at $1.000 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Under these conditions the method had an analysis cycle of less than 12 minutes and allowed to process 20 samples in four hours.

Results and discussion

Chromatographic separation:

Figures (1 to 10) show typical chromatograms obtained under the conditions described above for all the mixtures. The overall separation of the drugs and preservatives is achieved in less than 8 minutes. The values in tables (3.1, 3.2, 3.3 and 3.4) show that the reproducibility of the separation is good because the CV% on the retention time are practically always less than 0.5%.

Table (3.1)

Retention Time (minutes), Standard Deviation, Coefficient of Variation for the mixture M1

Identity	Rt Mean (min) n=5	S.D.	C.V. %
#1	1,58	0,0077	0,49
DHMO	3,68	0,0060	0,16
FA	4,28	0,0047	0,11
THP	4,70	0,0016	0,03
#2	5,17	0,0016	0,03
MI	6,70	0,0023	0,03

Retention time: Rt, S.D: Standard deviation, C.V. %: Coefficient of variation, DHMO : Dihydromorphone, FA : Famotidine, MI : Midazolam, THP : Theophylline (internal standard).

Table (3.2)

Retention Time (minutes), Standard Deviation, Coefficient of Variation for the mixture M2

Identity	Rt Mean (min) n=5	S.D.	C.V. %
DHMO	1,65	0,0028	0,17
THP	2,02	0,0019	0,09
ME	4,72	0,0005	0,01
HA	5,59	0,0016	0,03

DHMO : Hydromorphone, ME : Metoclopramide, HA : Haloperidol, THP : Theophylline (internal standard).

Table (3.3)
Retention Time (minutes), Standard Deviation, Coefficient of Variation for the mixture M3

Identity	Rt Mean (min) n=5	S.D.	C.V. %
DHMO	4,43	0,003	0,06
FA	5,14	0,005	0,09
THP	5,85	0,002	0,03
ME	6,41	0,001	0,01
KE	7,02	0,001	0,01

DHMO : Hydromorphone, FA : Famotidine, ME : Metoclopramide, KE : Ketorolac, THP : Theophylline (internal standard).

Table (3.4)
Retention Time (minutes), Standard Deviation, Coefficient of Variation for the mixture M4

Identity	Rt Mean (min) n=5	S.D.	C.V. %
DHMO	4,44	0,011	0,24
FA	5,14	0,016	0,30
THP	5,78	0,004	0,06
DH	6,35	0,002	0,04
#	6,79	0,002	0,03
#	7,35	0,004	0,05
#	7,39	0,004	0,05
HA	7,54	0,004	0,05

DHMO : Hydromorphone, FA : Famotidine, DH : Dimenhydrinate, THP : Theophylline (internal standard).

The resolution factor being always over 1.5 for all successive couples of eluted compounds, all the chromatographic peaks are perfectly separated with return to the baseline. There was no interference between the analyzed drugs and the various preservatives present in the original pharmaceutical preparations. The factor of asymmetry and the criteria of purity of the chromatographic peaks, based on the spectral identity of the ultra-violet spectra recorded all over each elution peak was determined for each compound.

Repeatability of parameters used for quantitative analysis:

The results in the tables (4.1, 4.2, 4.3 and 4.4) show that the repeatability of area and area ratio, were excellent.

Table (4.1)
Chromatographic Peaks Area, Area Ratio for the mixture M1 (n=5)

Identity	Area of peaks	S.D.	C.V.%	Area ratio M/IS	S.D.	C.V.%
#1	10,79	0,165	1,53	0,0096	0,00015	1,56
DHMO	396,88	0,266	0,07	0,3529	0,00029	0,08
FA	262,12	0,413	0,16	0,2010	0,00044	0,22
THP	1124,77	0,791	0,07	1,0000	0,0000	0,00
#2	43,25	0,394	0,91	0,0384	0,00035	0,91
MI	377,45	0,366	0,10	0,3356	0,00013	0,04

#1: Peak solvent, #2: conservator, DHMO: Hydromorphone, FA: Famotidine, MI: Midazolam, THP: Theophylline (internal standard).

Table (4.2)
Chromatographic Peaks Area, Area Ratio for the Mixture M2 (n=5)

Identity	Area of peaks	S.D.	C.V.%	Area Ratio M/IS	S.D.	C.V.%
DHMO	882,23	13,1	1,49	0,707	0,0098	1,38
THP	1247,19	1,5	0,12	1,000	0,0000	0,00
ME	175,67	0,3	0,17	0,141	0,0001	0,06
HA	434,86	0,7	0,16	0,349	0,0004	0,10

DHMO: Hydromorphone, THP: Theophylline (internal standard), ME: Metoclopramide, HA: Haloperidol.

Table (4.3)
Chromatographic Peaks Area, Area Ratio for the mixture M3 (n=5)

Identity	Area of peaks	S.D.	C.V.%	Area Ratio M/IS	S.D.	C.V.%
DHMO	919,2	1,09	0,12	0,8790	0,0008	0,09
FA	163,9	0,41	0,25	0,1567	0,0004	0,23
THP	1045,7	0,43	0,04	1,0000	0,0000	0,00
ME	189,7	0,16	0,08	0,1814	0,0001	0,04
KE	32,5	0,23	0,71	0,0311	0,0002	0,74

DHMO: Hydromorphone, FA: Famotidine, THP: Theophylline (internal standard), ME: Metoclopramide, KE: Ketorolac.

Table (4.4)
Chromatographic Peaks Area, Area Ratio for the mixture M4 (n=5)

Identity	Area of peaks	S.D.	C.V.%	Area Ratio M/IS	S.D.	C.V.%
DHMO	510,98	0,47	0,09	0,1610	0,000072	0,04
FA	292,11	0,47	0,16	0,0920	0,000214	0,23
THP	3173,98	3,02	0,10	1,0000	0,000000	0,00
DH	1968,39	2,78	0,14	0,6202	0,001080	0,17
#	85,23	0,08	0,09	0,0269	0,000022	0,08
#	39,50	0,22	0,55	0,0124	0,000058	0,47
#	41,74	0,42	1,00	0,0132	0,000119	0,90
HA	82,49	1,63	1,98	0,0260	0,000495	1,91

DHMO: Hydromorphone, FA: Famotidine, THP: Theophylline (internal standard), HA: Haloperidol.

Calibration functions:

In the study, each drug was considered as stable in solution until it had lost 10% of its initial concentration. So the calibration functions for all the analyzed compounds were calculated by using 3 concentrations corresponding to the initial concentration (at T= 0) and this concentration plus and minus 10%. Theophylline was used as the internal standard and it was added to samples at a concentration of 100 µg/mL. Each sample was measured 3 times. Table (5) displays the concentrations of the analytical solutions used for calibration.

Table (5)
Concentrations Used for Calibration

Compound	Initial concentration (mg.mL ⁻¹)	Concentration after dilution (µg.mL ⁻¹)	Concentration after dilution -10% (µg.mL ⁻¹)	Concentration after dilution +10% (µg.mL ⁻¹)
Hydromorphone	10.0	400.0	360.0	440.0
Dimenhydrinate	5.00	200.00	180	220.00
Ketorolac	1.50	60.00	54.00	66.00
Midazolam	1.00	200.0	180.0	220.0
Metoclopramide	0.50	20.0	18.0	22.0
Haloperidol	0.50	20.0	18.0	22.0
Famotidine	0.40	16.00	14.40	17.60

The values of the coefficients of regression indicate an excellent linearity in the interval between 90 – 110% of the target concentration for all compounds as it is shown in tables (6.1,6.2, 6.3 and 6.4).

Table (6.1)
Calibration Functions for the Mixture M1

PRODUCT	FUNCTION	R
Hydromorphone	0.0012x – 0.0076	0.9985
Famotidine	0.0109x + 0.0151	0.9991
Midazolam	0.0400x + 0.0339	0.9998

r = coefficient of regression

Table (6.2)
Calibration Functions for the Mixture M2

PRODUCT	FUNCTION	R
Hydromorphone	$0.0016x - 0.031$	0.9933
Metoclopramide	$0.0151x + 0.0031$	0.9998
Haloperidol	$0.0084x + 0.0056$	0.9979

r = coefficient of regression

Table (6.3)
Calibration Functions for the Mixture M3

PRODUCT	FUNCTION	R
Hydromorphone	$0.0009x - 0.0049$	0.9999
Ketorolac	$0.0149x + 0.0008$	0.9999
Metoclopramide	$0.0058x + 0.0063$	0.9999
Famotidine	$0.0097x - 0.0033$	0.9968

r = coefficient of regression

Table (6.4)
Calibration Functions for the Mixture M4

PRODUCT	FUNCTION	R
Hydromorphone	$0.0006x - 0.0007$	0.9996
Dimenhydrinate	$0.0112x + 0.0107$	0.9993
Haloperidol	$0.0250x + 0.0090$	0.9979
Famotidine	$0.0086x - 0.0097$	0.9940

r = coefficient of regression

Results of stability studies:

Tables (7) and (8) present the results of the measured concentrations expressed as the percentage of remaining drug at different times for the various drug mixtures studied under different conditions of temperatures (4°C and 25°C).

Table (7)
Percentages Remaining of Each Drug in Studied Mixtures at 25 °C.

Time (hours)	0	4	8	12	24	48	72	96
Mixture M1-25 °C								
Hydromorphone	100.00		101.23*	99.91	100.30	101.79	101.14	99.94
Famotidine	100.00		99.67*	99.54	100.61	97.57	99.70	97.78
Midazolam	100.00		100.23*	99.91	100.30	101.79	101.14	99.94
Mixture M2-25 °C								
Hydromorphone	100.00	99.63	99.93	99.83	100.44	100.85	100.83	101.76
Metoclopramide	100.00	100.56	100.00	99.98	100.17	100.66	100.48	101.50
Haloperidol	100.00	100.19	99.63	99.60	99.99	100.28	100.37	101.41
Mixture M3-25 °C								
Hydromorphone	100.00	99.66	99.63	99.74	100.37	100.55	100.21	100.74
Famotidine	100.00	99.56	99.29	99.86	99.57	99.54	99.34	100.12
Metoclopramide	100.00	99.73	99.67	99.79	100.10	100.17	99.84	100.93
Ketorolac	100.00	100.00	99.44	99.11	98.28	98.36	97.33	97.46
Mixture M4-25 °C								
Hydromorphone	100.00	99.93	100.12	100.01	99.40	99.33	100.02	99.59
Famotidine	100.00	100.54	101.18	101.24	100.13	100.39	100.64	100.46
Dimenhydrinate	100.00	99.83	99.74	99.26	87.72	92.87	90.26	94.46
Haloperidol	100.00	99.89	99.99	99.88	99.04	98.93	99.60	99.40

* Mixture M1 was analysed at time = 7 hours and the analysis at 4 and 8 was not done.

INCOMP: incompatible.

Table (8)
Percentages Remaining of Each Drug in Studied Mixtures at 4 °C.

Time (hours)	0	4	8	12	24	48	72	96
Mixture M1-4 °C								
Hydromorphone	100.00	101.27*	100.57	100.32	102.23	102.40	100.78	
Famotidine	100.00	100.94*	100.60	100.67	98.88	101.94	100.17	
Midazolam	100.00	100.88*	99.93	99.29	100.92	100.51	99.88	
Mixture M2-4 °C								
Hydromorphone	100.00	100.63	101.14	101.27	100.58	102.03	102.84	100.74
Metoclopramide	100.00	100.91	101.49	101.77	100.69	101.19	101.83	101.19
Haloperidol	100.00	100.44	100.93	100.52	87.00	69.14	59.55	54.72
Mixture M3-4 °C								
Hydromorphone	100.00	99.96	99.73	99.76	100.60	100.47	100.23	101.56
Ketorolac	100.00	99.89	99.76	99.62	99.71	99.71	99.43	100.58
Metoclopramide	100.00	100.04	99.93	99.83	100.18	100.17	100.11	101.21
Famotidine	100.00	99.93	99.65	99.92	99.90	100.05	99.73	101.48
Mixture M4-4 °C								
Hydromorphone	100.00	100.43	100.40	100.53	101.28	100.59	99.79	100.44
Dimenhydrinate	100.00	99.97	100.65	100.66	91.02	82.28	81.33	87.71
Haloperidol	100.00	99.59	100.35	100.39	100.83	99.54	98.58	98.17
Famotidine	100.00	100.11	100.99	101.39	101.94	101.04	99.84	100.93

* Mixture M1 was analysed at time = 7 hours and the analysis at 4 and 8 was not done.

INCOMP: incompatible.

In this study, the compatibility and the stability of the maximal daily dose for a patient was examined. There was no interference of the analytes with their degradation products and chromatographic peaks were pure throughout all the study.

In our experiment the mixtures M1, M3, M4 contained famotidine which required a special separation.

The mixture M2 was stable and compatible for 96 hours at 25°C. However, this mixture was incompatible when conserved at 4°C. An increased formation of precipitate on the surface of polypropylene syringes was observed after 12 hours. The precipitate has a crystalline form and was transparent with the size of salts table grain and irregular form. They were collected for analysis. We identified the precipitate by matching the retention time and the UV spectra of both haloperidol and the precipitate. The figures (14.a and 14.b) show the UV spectrums of the precipitate and haloperidol.

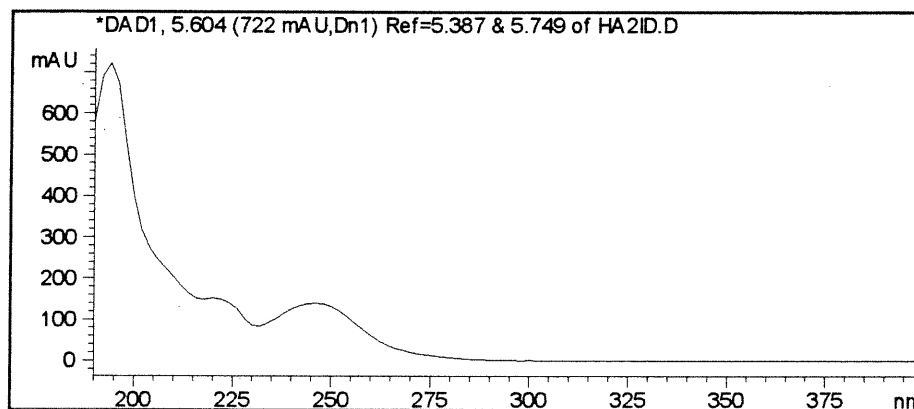


Figure (14.a): UV spectra of Haloperidol.

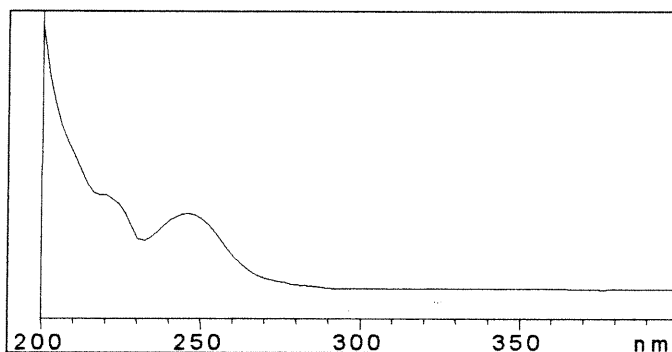


Figure (14.b): UV spectra of the crystal.

M4 was stable and compatible during 12 hours. Then, M4 was incompatible at both 4°C and 25°C. A white precipitate appears after 12 hours on the wall of the polypropylene syringe. The formation of precipitate is coupled with a diminution of the quantity of dimenhydrinate, which decreased below the limit of stability after 24 hours. The precipitation of dimenhydrinate was

confirmed by matching the spectra and the retention time of dimenhydrinate and the precipitate. Further studies should be performed on the physical chemistry characteristics of this mixture. All the other mixtures were stable and compatible at 4°C and 25°C until 96h. Scopolamine was not analyzed. All the other mixtures were stable and compatible for 96 hours.

CONCLUSION

We succeeded in developing fast, reproducible and robust methods to separate the active drugs and their conservatives in each mixture and to quantify those drugs. Our study is the only one that has examined the compatibility and the stability of maximal daily dose of drug mixtures for palliative care.

Our results show that the mixtures M1 and M3 are stable and compatible for 96 hours at 4°C and 25°C. M2 is stable and compatible for 96 hours at 25°C, but it was incompatible after 12 hours when stored at 4°C. M4 was stable and compatible during 12 hours. Then, M4 was incompatible at both 4°C and 25°C.

ACKNOWLEDGMENTS

We wish to thank the department of palliative care of the Royal Victoria Hospital in Montreal for Research Funding.

REFERENCES

1. Tortorice, P.V.; O'Connell, M.B.: Management of chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Pharmacotherapy* **1990**, *10*, 129-145.
2. Walsh, D.; Doona M.; Molnar, M.; Lipnickey, V.: Symptom control in advanced cancer: important drugs and routes of administration. *Sem. in Oncol.* **2000**, *27*, 69-83.
3. Ashbrun, M.A.; Lipman, A.G.: Management of pain in the cancer patient. *Anesth. Analg.* **1993**, *76*, 402-416.
4. Levy, M.H.: Pharmacologic treatment of cancer pain. *N. Engl. J. Med.* **1996**, *335*, 1124-1132.
5. Markman, M.; Kennedy, A.; Webster, K.; Peterson, G.; Kulp, B.; Belinson, J.: The antiemetic efficacy of oral ondacetron plus Intravenous dexamethasone in patients with gynecologic malignancies receiving carboplatine based chemotherapy. *Gynecologic Oncology* **2000**, *78*, 43-46.
6. Stiles, M.L.; Allen, L.V.; Prince, S.J.: Stability of deferoxamine mesylate, floxuridine, fluorouracil, hydromorphone hydrochloride, lorazepam, and midazolam hydrochloride in polypropylene infusion-pump syringes. *Am. J. Health-Syst. Pharm.* **1996**, *53*, 1583-1588.
7. Das Gupta, V.; Stewart, K.R.: Stability of haloperidol in 5% dextrose injection. *Am. J. Hosp. Pharm.* **1982**, *39*, 292-294.
8. Zhang, Y.; Trissel, L.A.; Martinez, J.F.; Gilbert, D.L.: Stability of metoclopramide hydrochloride in plastic syringes. *Am. J. Health-Syst. Pharm.* **1996**, *53*, 1300-1302.
9. Shea, B.F.; Souney, P.F.: Stability of famotidine frozen in polypropylene syringes. *J. Hosp. Pharm.* **1990**, *47*, 2073-2074.
10. Keyi X.; Gagnon, N.; Bisson, C.; Desmarais, M.; LeBel, M.: Stability of famotidine in polypropyl chloride minibags and polypropylene syringes and compatibility of famotidine with selected drugs. *Ann. Pharmacother.* **1993**, *27*, 422-426.
11. Bullock, L.; Fitzgerald, J.F.; Glick, M.R.; Parks, R.B.; Schnabel, J.G.; Hancock, B.G.: Stability of famotidine 20 and 40 mg/L and amino acids in a total parenteral nutrient solution. *Am. J. Hosp. Pharm.* **1989**, *46*, 2321-2325.
12. Vermeire, A.; Remon, J.P.: Compatibility and stability of ternary admixtures of morphine with haloperidol or midazolam and dexamethasone or methylprednisolone. *Int. J. Pharm.* **1999**, *177*, 53-67.
13. Harris, D.C. *Quantitative Chemical Analysis*, 4th Edn.; W.H. Freeman and Company: New York, 1995; 577-579.