

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE DE BLIDA 1  
FACULTE DE MEDECINE  
DEPARTEMENT DE PHARMACIE



**Thèse**

# **Les conservateurs en pharmacie**

En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Session : Mai 2019

Présentée par :

**Mr MOUDJED Abderrezak**

**Mr TEMMAR Oussama**

**Mr EDDIB Mohamed**

Les membres du jury :

- Présidente : **Dr Benguergoura.H** Maître de conférences en chimie analytique – Université De Blida 1
- Examineur 1 : **Dr Bounab A** Maître-assistant en chimie minérale – Université De Blida 1
- Examineur 2 : **Dr Djellouli S** Maître-assistant en pharmacologie – Université De Blida 1
- Promoteur : **Dr. Benghezal I** Maître-assistant en Biophysique Pharmaceutique – Université De Blida 1



---

## REMERCIEMENTS

---

Nous tenons à remercier **ALLAH**, le tout puissant et miséricordieux, qui nous'a donné la force et la patience de réaliser ce modeste travail.

En second lieu, nous souhaitons adresser nos profonds remerciements et nos profondes reconnaissances à notre encadreur de mémoire de fin d'étude **Mr.Benghezal.I**, pour ses précieux conseils et son orientation ficelée tout au long de notre recherche.

Nous remercions les membres du jury **Dr Benguergoura.H**, **Dr Bounab A**, **Dr Djellouli S**, qui nous font l'honneur d'évaluer ce travail et de siéger à notre soutenance.

---

## DEDICACE

---

A tout particulier à mes parents pour leur amour inconditionnel, leur encouragement, et leur soutien.

A ma mère, merci pour tes prières, tes encouragements, c'est par lesquels que j'ai pu surmonter tous les obstacles, tu es unique.

A mon père qui m'a beaucoup aidé, m'a tout fourni pour que je puisse accomplir ce travail, merci d'avoir été toujours à côté de moi.

Merci à mes frères et à mes sœurs qui m'ont soutenu.

Aux personnes avec qui j'ai partagé cette année de travail et avec qui j'ai vécu d'inoubliables expériences. Mohamed, Oussama.

A mes chères amis, chacun par son nom.

A tous les membres de l'association des sciences médicales ibn sina, j'ai eu le plaisir de travailler avec vous.

A tous qui m'ont aidé, encouragé, et qui ont contribué de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

*Abderrezak*

---

## DEDICACE

---

A toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage et qui m'ont aidée lors de la rédaction de ce mémoire.

A mon directeur de mémoire Mr i. BENGHEZAL, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion

A mes très chers parents, qui ont toujours été là pour moi.

A ma femme pour son soutien constant et ses encouragements.

A mes chers enfants **Sifeddine** et **Maria**

A l'équipe pédagogique de l'université de Saad Dahleb blida et les intervenants professionnels responsables de ma formation, pour avoir assuré la partie théorique de celle-ci.

Je désire aussi remercier les professeurs de l'université de Saad dahleb, qui m'ont fourni les outils nécessaires à la réussite de mes études universitaires.

Je voudrais exprimer ma reconnaissance envers les amis et collègues qui m'ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche.

*Mohamed*

---

## DEDICACE

---

A la femme qui m'a donné un jour la vie, qui me donne chaque jour une raison de vivre, qui ne cesse de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui.

**Mère.**

A l'esprit de l'homme qui n'était jamais absent de ma vie, **Père.**

A mon frère **Sifeddinne.**

A mes belles sœurs **Soumia, Bessmala**, qui m'ont soutenu.

A mes grand-mères, à mes tantes, à mes oncles et toute ma famille.  
Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

A tous les membres de l'association des sciences médicales IBN SINA, j'ai eu le plaisir de travailler avec vous.

A tous mes amis, mes collègues et tous ceux qui m'estiment.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

*Oussama*

# **Sommaire**

Listes de tableaux.....	X
Liste des figures .....	XI
Listes des abréviations.....	XIII
<b><u>Introduction</u></b> .....	01
<b><u>1. généralité sur les conservateurs</u></b> .....	04
1.1. Historique.....	04
1.2. Définitions.....	04
1.3. Aspects réglementaire.....	05
1.4. Classifications.....	06
1.5. Cible des conservateurs.....	08
1.6. Mécanisme d'action .....	09
1.7. Qualité requises d'un conservateur .....	11
1.7.1. Innocuité.....	11
1.7.2. Spectre d'activité.....	11
1.7.3. Solubilité dans l'eau.....	12
1.7.4. pH de formulation.....	12
1.7.5. Propriétés physiques.....	13
1.7.6. Volatilité.....	14

1.7.7. Compatibilité.....	14
1.7.8. Stabilité.....	15
1.7.9. Efficacité à long terme .....	15
1.7.10. Coût .....	15
1.8. Evaluation l'efficacité d'un système conservateur .....	16
<b><u>2. Les principaux conservateurs utilisés dans les médicaments : .....</u></b>	<b>23</b>
<b><u>2.1. Conservateurs antibactériens.....</u></b>	<b>23</b>
2.1.1. Imidazolidinylurée.....	23
2.1.2. Parabens.....	24
2.1.3. Dérivés alcooliques .....	28
2.1.3.1. Alcool benzylique.....	28
2.1.3.2. Chlorbutanol.....	31
2.1.3.3. Phénol.....	33
2.1.3.4. Bronopol.....	35
2.1.4. Dérivé acides .....	36
2.1.4.1. Acide benzoïque.....	36
2.1.4.2 .Benzoate de sodium.....	38
2.1.4.3. Acide sorbique.....	41
2.1.5. Ammoniums quaternaires .....	42
2.1.5.1. Chlorure de benzalkonium .....	43
2.1.5.2. Cetrimide .....	47
2.1.5.3. Chlorure de cetylpyridinium.....	49

2.1.5.4. Chlorure de benzethonium.....	51
2.1.6. Mercuriels : .....	53
2.1.6.1. Nitrate de phenylmercurique.....	53
2.1.6.2. Le thimérosal.....	56
2.1.7. Biguanidine « chlorhexidine » .....	58
<b><u>2.2. Conservateurs antioxydants</u></b> .....	63
2.2.1. Acide citrique.....	63
2.2.2. Acide ascorbique .....	65
2.2.3. Palmitate d'ascorbyle .....	67
2.2.4. L'α tocophérol.....	68
2.2.5. Gallate de propyle .....	70
2.2.6. Les Sulfites : .....	72
2.2.6.1. Métabisulfite de sodium.....	72
2.2.6.2. Sulfite de Sodium.....	73
2.2.6.3. Bisulfite de Sodium.....	74
2.2.7. Dérivés phénoliques : .....	75
2.2.7.1. L'hydroxyanisole butylé « BHA » .....	76
2.2.7.2. L'hydroxytoluène butylé « BHT » .....	77
2.2.7.3. Le butylhydroquinone tertiaire « TBHQ » .....	78
<b><u>3. Analyses des conservateurs dans les produits pharmaceutiques :</u></b> .....	81
3.1. Définitions .....	81
3.2. Méthodes les plus utilisés.....	82



<b>3.3. Analyse des antimicrobiens.....</b>	<b>85</b>
<b>3.3.1. Parabens.....</b>	<b>85</b>
3.3.1. 1. Electrophorèse capillaire.....	85
3.3.1. 2. Chromatographie à haute performance HPLC.....	86
3.3.1. 3. Chromatographie couche mince CCM .....	87
3.3.1. 4. Spectrophotometrie UV-Visible .....	87
<b>3.3.2. Acide et sels.....</b>	<b>87</b>
3.3.2. 1. Eléctrophorèse capillaire.....	88
3.3.2. 2. Chromatographie à haute performance HPLC.....	88
3.3.2. 3. Chromatographie couche mince CCM .....	89
<b>3.3.3. Ammonium quaternaire .....</b>	<b>89</b>
3.3.3. 1. Electrophorèse capillaire.....	89
3.3.3. 2. Chromatographie à haute performance HPLC.....	90
3.3.3. 3. Chromatographie couche mince CCM .....	90
3.3.3. 4. Spectrophotometrie UV-Visible.....	90
<b>3.4. Analyse des conservateurs Antioxydants.....</b>	<b>91</b>
<b>3.4.1. Dérivés phénoliques.....</b>	<b>91</b>
3.4.1. 1. Electrophorèse capillaire.....	91
3.4.1. 2. Chromatographie à haute performance HPLC.....	91
3.4.1. 3. Chromatographie couche mince CCM .....	92
3.4.1. 4. Spectrophotometrie UV-Visible.....	92
<b>3.4.2. Agents réducteurs.....</b>	<b>93</b>

3.4.2. 1. Acide Ascorbique et ses sels.....	93
3.4.2. 1. 1. Electrophorèse capillaire.....	93
3.4.2. 1.2. Chromatographie à haute performance HPLC.....	94
3.4.2. 1.3. Spectrophotometrie UV-Visible .....	94
<b><u>Conclusion</u></b> .....	96

## Liste de tableaux

<b>Tableau (I):</b> Site d'activité de conservation dans la cellule microbienne.....	<b>09</b>
<b>Tableau (II):</b> pH de croissance de micro-organisms .....	<b>12</b>
<b>Tableau (III) :</b> Comparaison des critères USP et EP d'évaluation de l'efficacité de la conservation, I) Bactéries viables totales .....	<b>17</b>
<b>Tableau (IV) :</b> Comparaison des critères USP et EP d'évaluation de l'efficacité des conservateurs, II) Champignons / levures totaux viables.....	<b>18</b>
<b>Tableau (V) :</b> Caractéristiques physicochimiques des principaux parabens.....	<b>26</b>
<b>Tableau (VI):</b> Exemples de domaines d'utilisation des parabens (MP, PP, BP, EP).....	<b>26</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Structure chimique de l'IU.....	23
<b>Figure 2 :</b> Structure chimique des parabens.....	25
<b>Figure 3:</b> Structure chimique de l'alcool benzylique.....	29
<b>Figure 4:</b> Structure chimique de chlorbutanol.....	32
<b>Figure 5:</b> Structure chimique de phenol.....	34
<b>Figure 6:</b> Structure chimique de bronopol.....	36
<b>Figure 7:</b> Structure chimique d'acide benzoique.....	37
<b>Figure 8:</b> Structure de benzoate de sodium.....	39
<b>Figure 9:</b> Structure chimique de l'acide sorbique.....	42
<b>Figure 10 :</b> Structure chimique des ammoniums quaternaires.....	44
<b>Figure 11:</b> Structure chimique de chlorure de benzalkonium.....	44
<b>Figure 12:</b> Structure chimique de Cétrimide.....	48
<b>Figure 13:</b> Structure chimique de chlorure de cetylpyridinium.....	50
<b>Figure 14:</b> Structure chimique de chlorure de benzéthonium.....	52
<b>Figure 15:</b> Structure chimique de Nitrate de phenylmercurique.....	54
<b>Figure 16:</b> Structure chimique de thimérosal.....	57
<b>Figure 17:</b> Structure chimique de chlorhexidine.....	60
<b>Figure 18:</b> Structure chimique de l'acide citrique.....	64
<b>Figure 19:</b> Structure chimique de l'acide ascorbique.....	66

<b>Figure 20:</b> Structure chimique de palmitate d'ascorbyle.....	<b>68</b>
<b>Figure 21:</b> Structure chimique de l' $\alpha$ -tocopherol.....	<b>70</b>
<b>Figure 22:</b> Structure chimique de gallate de propyle.....	<b>71</b>
<b>Figure 23</b> Structure chimique de métabisulfite de sodium.....	<b>73</b>
<b>Figure 24:</b> Structure chimique de sulfite de sodium.....	<b>74</b>
<b>Figure 25:</b> Structure de bisulfite de sodium.....	<b>75</b>
<b>Figure 26:</b> Structure chimique de butylhydroxyanisole.....	<b>77</b>
<b>Figure 27:</b> Structure chimique de hydroxytoluène butylé.....	<b>78</b>
<b>Figure 28:</b> Structure chimique de butylhydroquinone tertiaire.....	<b>79</b>
<b>Figure 29 :</b> Schéma de principe du spectrophotométrie UV-visible.....	<b>83</b>
<b>Figure 30 :</b> Schéma de principe du HPLC.....	<b>84</b>
<b>Figure 31 :</b> Schéma de principe du CCM.....	<b>84</b>

## Liste des abréviations

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**AET** : Association des Editeurs de Tests

**AFSSAPS** : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé

**ARN** : Acide ribonucléique

**ATP** : Adénosine Triphosphate

**BHA** : Hydroxyanisole butylé

**BKC** : Chlorure de Benzalkonium

**BP** : Pharmacopée britannique

**BPF** : Bonnes pratiques de fabrication.

**CCM** : Chromatographie sur couche mince

**CE** : Conformité européenne

**CE** : Electrophorèse capillaire électrocinétique

**CMI** : Concentrations minimales inhibitrices

**CMR** : Des agents cancérogènes, mutagènes, toxique pour la reproduction

**CZE** : Electrophorèse à zone capillaire

**EDTA** : Ethylène diamine tétra-acétique

**EEN** : Excipient à effet notoire

**EP** : Pharmacopée européenne

**FDA** : Administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments

**H / E** : La phase huileuse /La phase aqueuse

**HP-CCM** : Chromatographie sur couche mince à haute performance

**HPLC** : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

**ICH** : Conseil international d'harmonisation

**JP** : Pharmacopée japonaise

**MEC** : Méthode d'évaluation contingente

**NF** : Norme Française

**OMS** : Organisation mondiale de la sante

**ORL** : Oto-rhino-laryngologie

**Ph. Eur** : Pharmacopée européenne

**PM** : Poids Moléculaire

**PPM** : Partie par million

**RP-CCM** : CCM en phase inverse

**RP-HPLC** : HPLC en phase inverse

**RP-HPTLC** : Chromatographie en couche mince à haute performance en phase inverse

**UFC** : unités formant des colonies.

**USDA** : Département de l'Agriculture des États-Unis

**USP** : Pharmacopée américaine

**UV** : Ultraviolet

**UV-VIS** : Ultraviolet-Visible

# Introduction

Les conservateurs constituent un thème récurrent d'interrogations et de débat, chaque fois que ce thème est abordé, de nombreux consommateurs associent ces substances à des produits chimiques dangereux, présents dans les aliments, les produits cosmétiques et les médicaments, rappelons que cette notion de conservation, en l'occurrence des denrées alimentaires, a vu le jour il y a plusieurs siècles, lorsque l'homme a utilisé pour la première fois le sel (salaison) et la fumée (fumaison) pour empêcher la viande et le poisson de se dégrader.

Malgré certaines réticences de la part des consommateurs, les conservateurs constituent aujourd'hui une part indispensable des produits que nous consommons. Ceci est dû en partie à la demande croissante des consommateurs en faveur d'un choix plus vaste de produit.

Un conservateur est un produit chimique naturel ou synthétique qui est ajouté à des produits tels que des produits pharmaceutiques pour empêcher la décomposition par croissance microbienne ou par des modifications chimiques indésirables. Les conservateurs sont des substances qui sont communément ajoutées à des produits pharmaceutiques afin de prolonger leur durée de vie.

Les premiers agents de conservation à utiliser étaient le vinaigre, le sel et le sucre. (1) Aujourd'hui, de nombreux agents de conservation sont des produits chimiques synthétiques. Un grand nombre d'additifs et de conservateurs synthétiques pour produits pharmaceutiques sont considérés comme sûrs, mais certains se sont révélés cancérigènes et toxiques comme le bronopol ainsi il est préférable de limiter leur utilisation. En général, la plupart des conservateurs chimiques de synthèse peuvent être évités, car nombre d'entre eux n'ont pas été testés correctement.

L'ajout des agents de conservation à ces produits, en particulier ceux qui ont une teneur en eau plus élevée par exemple, les liquides par voie orale, préparations parentérale, est essentiel pour éviter l'altération et la dégradation par les microorganismes pendant le



stockage et pendant la durée d'utilisation. Les conservateurs sont introduits dans les produits pour empêcher la croissance des bactéries, des levures et des moisissures susceptibles de provoquer des maladies.

La conservation chimique ne peut totalement empêcher les produits de se endommager, mais ralentit le processus de détérioration causé par les micro-organismes.

Les agents conservateurs sont nombreux : leur choix se fera en fonction de préparation pharmaceutique, du ou des microorganismes visés et de la concentration nécessaire compte tenu de la toxicité potentielle de bon nombre d'entre eux. Il est entendu que les agents conservateurs préviennent ou luttent contre la contamination microbienne.

**Chapitre 1 :**  
**Généralités sur les**  
**conservateurs**

## **1. Généralités sur les conservateurs :**

### **1.1. Historique :**

Les conservateurs sont utilisés dans l'alimentaires. La viande fumée, par exemple, contient des phénols et d'autres produits chimiques qui retardent la détérioration. La conservation des aliments a beaucoup évolué au fil des siècles et a contribué à accroître la sécurité alimentaire. L'utilisation des conservateurs autres que les huiles, sels, peintures,... etc, traditionnels dans les aliments à commencé à la fin du 19ème siècle, mais ne s'est généralisée qu'au 20ème siècle <sup>(2)</sup>.

L'utilisation des conservateurs varie considérablement selon les pays. De nombreux pays en voie de développement qui ne disposent pas de législation pour réglementer les additifs alimentaires et les conservateurs, par exemple l'Algérie. Ces pays sont confrontés à ce problème par l'évitement complet des aliments considérés comme non naturels ou étrangers. Ces pays se sont également révélés utiles dans les études de cas relatives aux conservateurs chimiques, car ils n'ont été introduits que récemment <sup>(3)</sup> Dans les bidonvilles urbains de pays très peuplés, les connaissances sur le contenu des aliments ont tendance à être extrêmement faibles, malgré la consommation de ces aliments importés. <sup>(4)</sup>

### **1.2. Définition :**

#### **1.2.1. Selon littérature :**

Les conservateurs sont des substances qui sont communément ajoutées à divers produits pharmaceutiques afin de prolonger leur durée de vie. L'ajout des agents de conservation à ces produits, en particulier à ceux ayant une teneur en eau plus élevée, est essentiel pour éviter toute altération et dégradation par les micro-organismes pendant le stockage et l'utilisation. <sup>(5)</sup>

### **1.2.2. Selon la pharmacopée européenne :**

Les conservateurs sont utilisés pour empêcher la prolifération ou limiter la contamination microbienne qui, dans des conditions normales de stockage et d'utilisation, en particulier pour les récipients multidoses, peut survenir dans un Produit et présenter un risque d'infection pour le patient et d'altération de la préparation. Les conservateurs antimicrobiens ne doivent pas être utilisés pour remplacer les Bonnes Pratiques de Fabrication. (édition 7.0) <sup>(6)</sup>

### **1.2.3. Selon la pharmacopée américaine :**

Les conservateurs antimicrobiens sont des substances ajoutées à des formes posologiques non stériles pour les protéger de la croissance microbologique ou des micro-organismes introduits par inadvertance pendant ou après le processus de fabrication. Dans le cas d'articles stériles conditionnés dans des récipients à doses multiples, des conservateurs antimicrobiens sont ajoutés pour inhiber la croissance des microorganismes pouvant être introduits lors de l'extraction répétée de doses individuelles. Les agents antimicrobiens ne doivent pas être utilisés pour remplacer les Bonnes Pratiques de Fabrication. (édition 2007) <sup>(7)</sup>

### **1.3. Aspect réglementaire :**

Les agents de conservation utilisés dans l'industrie pharmaceutique sont devenus très controversés pour les consommateurs, bien qu'il n'existe aucune preuve concluante permettant de prouver leur gravité, sauf certaines réactions allergiques courantes.

Cela a conduit les autorités à publier une liste des conservateurs à effet notoire présentant toutes les caractéristiques de ces substances, allant des cas d'utilisation et des contre-indications à la concentration maximale qui ne pas être dépasser.

Cette liste des conservateurs est incluse dans une liste appelée liste des excipients à effet notoire qui a été établie pour la première fois par l'AFSSAPS puis a été remise à jour par la commission européenne en 2007. <sup>(8)</sup>

Les Excipients à Effet Notoire (EEN) sont, selon l'AFSSAPS, « excipients dont la présence peut nécessiter des précautions pour certains patients ». <sup>(9)</sup>

Sur les **47** excipients à effet notoire répertoriés, on en dénombre **12** qui sont des conservateurs : **l'acide borique et ses sels, l'acide benzoïque et benzoate, l'alcool benzylique, l'acide sorbique et ses sels, le bronopol, le chlorure de benzalkonium, le formaldéhyde, le paraformaldéhyde, les parahydroxybenzoates et leurs sels, et les sulfites, hydroxyanisole butyle, hydroxytoluène butyle** . Le Vidal présente le tableau des EEN et décrit les risques encourus. Ainsi les parabens peuvent entraîner des dermatites de contact et exceptionnellement des réactions immédiates avec urticaire et bronchospasmes. <sup>(8)</sup>

Selon **ICH** les conservateurs sont analysés dans les préparations pharmaceutiques qui en contiennent, dans les limites autorisées :

**L'analyse de la teneur en agents antimicrobiens, antioxydants** doit généralement être réalisée lors de la mise en circulation. Si l'on effectue une analyse de la teneur en agents antimicrobiens, antioxydants en cours de fabrication, les critères d'acceptation doivent demeurer dans la spécification. <sup>(10)</sup>

#### **1.4. Classification :**

Les conservateurs sont classés en deux classes principales: les conservateurs antimicrobiens et les antioxydants. <sup>(5)</sup>

##### **1.4.1. Les Antimicrobiens :**

Un conservateur antimicrobien est tout agent qui agit contre les micro-organismes gram positifs et négatifs (bactérie) et champignon qui provoquent la dégradation de la préparation pharmaceutique. Qui agit par inhibition de la paroi cellulaire, inhibition de la synthèse des protéines, inhibition de la synthèse de l'ADN et de l'ARN <sup>(5)</sup>

Des conservateurs antimicrobiens sont inclus dans les préparations pour éliminer ou empêcher la croissance de micro-organismes (bactéries et champignons) introduits par inadvertance lors de la fabrication ou de l'utilisation. Ils sont utilisés dans des préparations stériles comme les collyres (exemple : le chlorure de benzalkonium) et des préparations injectables (exemple : l'alcool benzylique) afin de maintenir la stabilité pendant l'utilisation.

Ils peuvent également être ajoutés à des injections aqueuses qui ne peuvent pas être stérilisées dans leurs récipients définitifs et doivent être préparés avec des précautions d'asepsie.

Les conservateurs sont également utilisés dans les produits cosmétiques, les aliments et les produits pharmaceutiques non stériles tels que les solutions (sirops) et les crèmes pour prévenir la détérioration microbienne.

Ils ne sont pas utilisés indifféremment, et les préparations qui ne doivent pas contenir de conservateur incluent (injections dans les liquides céphalo-rachidiens, les yeux ou le cœur) <sup>(5)</sup>

Les conservateurs antimicrobiens sont classés en deux sous-groupes principaux: les antifongiques et les antibactériens.

- **Les conservateurs antifongiques:** comprennent des composés tels que les acides benzoïque, acide sorbique et leurs sels, ainsi que des composés phénoliques tels que le p-hydroxybenzoate de méthyle, d'éthyle, de propyle et de butyle (parabènes).
- **Les conservateurs antibactériens:** comprennent des composés tels que les sels d'ammonium quaternaire, les alcools, les phénols, les mercuriels et les biguanidines.

#### **1.4.2. Les Antioxydants :**

Les antioxydants sont des agents qui empêchent l'oxydation des formulations pharmaceutiques. Ils agissent comme des agents réducteurs et empêchent l'oxydation des ingrédients sensibles à l'oxygène.

Des antioxydants sont inclus dans les produits pharmaceutiques pour prévenir la détérioration due à l'oxydation. Les antioxydants sont classés en 3 sous groupes.

- **Le premier groupe :** Regroupant des véritables antioxydants, ou anti-oxygène, inhibant probablement l'oxydation en réagissant avec les radicaux libres bloquant la réaction en chaîne. Des exemples sont les alkyl gallates de butylate d'hydroxyanisole, d'hydroxytoluène butylé, et les tocophérols.

- **Le deuxième groupe :** Est constitué d'agents réducteurs ; ces substances ont des potentiels réd/ox inférieurs à ceux du médicament ou de l'adjuvant qu'elles sont destinées à protéger et sont donc plus facilement oxydables. Les agents réducteurs peuvent également agir en réagissant avec les radicaux libres. Les exemples sont l'acide ascorbique, les sels de potassium et de sodium de l'acide sulfureux.
- **Le troisième groupe:** Est constitué de synergistes antioxydants qui ont généralement peu d'effet antioxydant mais qui renforcent probablement l'action des antioxydants du premier groupe en réagissant avec des ions de métaux lourds qui catalysent l'oxydation. Exemple de synergistes antioxydants: acide aréctrique, acide édétique et ses sels, lécithine et acide tartrique <sup>(11)</sup>

### 1.5. Cibles des conservateurs :

Tout d'abord, le mot micro-organisme est employé pour d'écrire un organisme de petite taille qui ne peut être visualisé sans l'aide d'un microscope, cette définition incluse les bactéries, les champignons (levures, moisissures), protozoaires, certaines micros algues, les virus. <sup>(12)</sup>

Les conservateurs ne sont pas efficaces contre les virus, par contre ils sont efficaces contres les bactéries, les champignons et les levures.

Ils permettent d'éviter la prolifération microbienne qui peut constituer :

- Un risque infectieux pour le malade, surtout dans le cas où les micro-organismes sont pathogènes par exemple: *Pseudomonas aerogénosa*, *Staphylococcus aureus*, *candida albicans*, *clostridium sp* etc.
- Une accélération de la détérioration du produit

## 1.6. Mécanismes d'action des conservateurs :

Les conservateurs offrent généralement une protection limitée contre la contamination virale. Les bactéricides et les fongicides peuvent démontrer leurs effets sur diverses cibles cellulaires microbiennes, par exemple :

- La paroi cellulaire
- La membrane cytoplasmique
- Le cytoplasme

Il est souvent difficile d'attribuer une cible précise à une classe spécifique de conservateur; la cible peut être change avec la concentration en conservateur. En conséquence, les conservateurs peuvent souvent interférer avec différents mécanismes cellulaires microbiens (Tableau I).

**Tableau (I) :** Site d'activité de conservation dans la cellule microbienne <sup>(14-15-16)</sup>

<b>Paroi cellulaire</b>	<b>Membrane cytoplasmique</b>	<b>Cytoplasme</b>
Phénols	2-phenoxyethanol	2-phenoxyethanol et alcool organique
Acides acryliques et alkyliques	Parabens	Acides acryliques et alkyliques
Organo mercuriels	Organo mercuriels	Conservateurs halogénées
EDTA	EDTA	
Chlorhexidine et cétrimide	Chlorhexidine et hexachlorophènes	Chlorhexidine a haut concentration
Glutaraldehyde	Bronopol et imidurée	Bronopol et imidurée
Tensioactif anionique	Chlorure de benzalkonium	



Une telle cytotoxicité peut également affecter les cellules de mammifère. Par conséquent, les niveaux d'inclusion devraient être minimes, compatibles avec une préservation adéquate. La réglementation s'attend à ce que le demandeur aborde tous les motifs de l'inclusion de conservateur, la preuve d'efficacité, les informations de sécurité, les méthodes de contrôle dans le produit fini et les détails de l'étiquetage dans le produit fini <sup>(13)</sup>. Les mécanismes d'activité aux emplacements énumérés dans le tableau (I) peuvent également différer avec chaque agent de conservation, comme indiqué ci-dessous:

- L'activité au niveau de la paroi cellulaire peut impliquer une lyse en raison d'une inhibition enzymatique, comme c'est le cas avec les phénols et les organo mercuriels..... etc. En revanche, le glutaraldéhyde montre son effet par une réticulation irréversible au niveau de la paroi cellulaire <sup>(14, 15)</sup>
- L'activité au niveau de la membrane cytoplasmique peut être due à des effets sur le potentiel de la membrane, la fonction enzymatique de la membrane ou la perméabilité générale de la membrane <sup>(14, 15)</sup>. Le cétrimide, la chlorhexidine, les parabens et les phénols affectent la perméabilité de la membrane en permettant la «fuite» des constituants essentiels de la cellule, entraînant la mort cellulaire.

L'acide sorbique inhibe les mécanismes de transport à travers la membrane cytoplasmique et inhibe l'oxydation du fumarate <sup>(15)</sup>.

La chlorhexidine inhibe également l'ATPase membranaire, inhibant ainsi l'activité anaérobie cellulaire. À des concentrations plus élevées, il induit la précipitation d'acides nucléiques cytoplasmiques et de protéines apparentées

- L'activité au niveau cytoplasmique peut concerner le découplage des processus d'oxydation et de phosphorylation ou l'interférence avec les mécanismes de transport actifs, comme c'est le cas avec les agents de conservation à base d'acide carboxylique et d'alcool... etc. D'autres conservateurs peuvent inhiber les chaînes de transport d'électrons, inhibant ainsi l'activité métabolique chez les bactéries aérobies <sup>(16)</sup>

Il est possible de sélectionner des agents de conservation spécifiques pour traiter un organisme particulièrement gênant associé à un site ou à un processus de fabrication;

Cependant, l'éradication de ces organismes relève des bonnes pratiques de fabrication (BPF) et le système de préservation ne doit pas être utilisé pour remédier aux carences des processus de fabrication. Il existe également des possibilités de combinaisons synergiques pour fournir le spectre d'activité requis dans un système ou un produit particulier.

### **1.7. Qualités requises d'un conservateur :**

Aucun conservateur ne remplit tous les critères d'un système idéal. En pratique, on utilise des associations de conservateurs.

Si le conservateur idéal existait, il devrait présenter les critères suivants (en plus d'une conformité aux réglementations en vigueur).

#### **1.7.1. Innocuité :**

Le conservateur doit être dénué de tout effet toxique, irritant, sensibilisant, au niveau de la peau ou des membranes muqueuses, à la concentration utilisée pour la conservation, à court et à long terme. En pratique, les conservateurs les plus efficaces sont souvent les plus toxiques.

#### **1.7.2. Spectre d'activité :**

Le conservateur doit présenter un large spectre d'activité. Il doit être efficace contre les bactéries **Gram +** et **Gram -**, les levures et les moisissures. De plus, un haut niveau d'activité est demandé aux concentrations les plus faibles possibles, aussi bien pour diminuer la toxicité que le coût.

### 1.7.3. Solubilité dan l'eau :

Les micro-organismes se multiplient en phase aqueuse; il est donc important que le conservateur se maintienne à concentration efficace dans la phase hydrophile de produit, d'où l'importance de la solubilité du conservateur dans l'eau.

Quand le produit en question est une émulsion, deux phases, hydrophile et lipophile, sont présentes, et le coefficient de partage du conservateur est déterminant.

Idéalement, un conservateur doit posséder une grande solubilité dans la phase aqueuse, donnant ainsi un coefficient de partage ou répartition huile/eau faible ( $k$ ).

- Si  $K < 1$ , le conservateur aura un caractère hydrophile marqué.
- Si  $K > 1$ , le conservateur aura un caractère lipophile marqué.

Le coefficient de répartition varie en fonction du pH de la formulation et de la nature de la phase lipophile.

Ainsi, pour deux conservateurs ayant une concentration active identique et introduits à concentration égale dans une émulsion, le plus actif sera celui ayant le plus faible coefficient de partage huile/eau. <sup>(17)</sup>

### 1.7.4. pH de la formulation :

La plupart des bactéries se développent à un pH neutre ou proche de la neutralité, contrairement aux levures et moisissures pour lesquelles un pH acide (3 à 6) semble idéal, comme le montre le tableau (II):

**Tableau (II) :** pH de croissance de micro-organisms

Organismes	Croissance possible a pH
Levures	2 à 8.5
Staphylocoques	4.2 à 9.3
Pseudomonas	5.5 à 8

Etant donné que les micro-organismes peuvent supporter des variations de pH allant de 2 à 11, le conservateur idéal devrait être actif sur toute cette fourchette. En pratique, la majorité des préparations cosmétiques et pharmaceutiques sont ajustée à un pH voisin de la neutralité, pH qui permet la meilleure tolérance cutanée et muqueuse gastrique.

De plus, l'efficacité de nombreux conservateurs est étroitement liée au pH du milieu. Le pH d'un produit doit par conséquent être stable dans le temps. Ainsi, les acides faibles organiques ionisables, utilisés comme conservateurs antimicrobiens (acide benzoïque, déshydroacétique, sorbique), ne sont actifs qu'à l'état d'acide indissocié. La proportion active dépend du pH du système et de la dissociation de l'acide concerné <sup>(17)</sup>.

Les composés organiques sont d'autant plus actifs contre les bactéries que le pH est acide, leur activité diminue notablement avec l'augmentation du pH <sup>(18)</sup>.

L'activité anti microbienne des phénols est aussi fortement dépendante du pH <sup>(19)</sup>.

Les esters de l'acide p-hydroxybenzoïque se comportent comme des acides plus faibles et sont de ce fait moins affectés par le pH. Par exemple, à pH 8.5, le méthylparaben se trouve encore à environ 50% sous sa forme indissociée.

D'autres conservateurs, dont les cationiques, sont actifs seulement sous leur forme ionisée. Ainsi, les ammoniums quaternaires, actifs à pH alcalin, perdent progressivement leur activité avec la diminution du pH.

Certains conservateurs sont dépendants du pH pour sa dégradation, ils se dégradent plus rapidement au-dessus de pH 7 qu'à pH 4 <sup>(17)</sup>.

#### **1.7.5. Propriétés physiques :**

Le conservateur idéal devrait être incolore, inodore et insipide dans le produit fini. En outre il doit être facile à utiliser et incorporer.

### 1.7.6. Volatilité :

Les conservateurs devraient être non-volatiles, évitant une perte d'activité si le produit est sujet à une élévation de température, que ce soit pendant la fabrication ou durant son usage.

### 1.7.7. Compatibilités :

Il faut considérer la compatibilité du conservateur avec le processus de fabrication, ainsi qu'avec les matériaux de conditionnement.

Une qualité fondamentale pour les conservateurs est qu'il doit être compatible avec tous les autres composants du produit, en particulier en ce qui concerne les trois types de tensioactifs, comme indiqué ci-dessous :

- **Anioniques:** beaucoup de tensioactifs présentent une activité antimicrobienne à des concentrations supérieures à celles utilisées pour leur usage classique d'émulsifiants, mais ne contiennent pas le développement des bactéries Gram – et des champignons, ils peuvent parfois interférer sur l'activité du conservateur.
- **Cationiques:** les tensioactifs cationiques possèdent souvent une bonne activité antimicrobienne et procurent une protection supplémentaire vis-à-vis des micro-organismes, quand ils sont utilisés avec des conservateurs. Ils interfèrent rarement sur l'activité du conservateur.
- **Non ioniques:** les tensioactifs non ioniques ne présentent aucune activité antimicrobienne et constituent un bon substrat pour la croissance des micro-organismes. Ils interfèrent souvent de façon négative sur l'action du conservateur.

Le pouvoir inhibiteur des tensioactifs, augmentant avec leur liposolubilité, serait dû à une solubilisation micellaire des conservateurs par ces agents de surface et à la formation de complexes. Les conservateurs les plus touchés sont les parabènes, les phénols substitués et les ammoniums quaternaires <sup>(17)</sup>. Ainsi, dans le cas des phénols, ce sont les tensioactifs cationiques et non ioniques qui ont un impact négatif <sup>(19)</sup>

En outre, il faut aussi considérer la compatibilité du conservateur avec des sels métalliques, en particulier les sels d'aluminium, Zinc et Fer <sup>(17)</sup>.

Ainsi le formaldéhyde est un conservateur compatible avec la plupart des tensioactifs, mais ne peut pas s'employer avec les sels d'ammonium, les protéines, les sels de métaux lourds et le peroxyde d'hydrogène <sup>(19)</sup>.

On doit également considérer la compatibilité du conservateur avec les matériaux de conditionnement, tel que le caoutchouc naturel, certains polymères synthétiques, comme le polyéthylène dans des contenants en plastique, peuvent adsorber de nombreux composants du produit conditionné, et en particulier les conservateurs <sup>(20)</sup>.

#### **1.7.8. Stabilité :**

Idéalement, les conservateurs devraient être hautement stables vis-à-vis de la température, l'air, l'humidité, la lumière, l'eau, le pH....., conférant ainsi une grande flexibilité d'utilisation, dans des procédés de fabrication divers.

#### **1.7.9. Efficacité à long terme :**

Les conservateurs devraient maintenir leur efficacité durant toute la vie du produit, ils doivent présenter une activité constante dans le temps. De plus, ils ne doivent pas être dégradés, existant ainsi le risque de produire des métabolites (résultats de dégradations) pouvant modifier les caractéristiques du produit, ou bien néfastes à la santé de l'utilisateur.

#### **1.7.10. Coût :**

Un conservateur doit être rentable, facilitant ainsi son utilisation sur une commerciale peu onéreuse <sup>(21)</sup>.

Cette liste de paramètres pouvant intervenir sur l'activité du conservateur montre qu'il est indispensable de contrôler l'efficacité de la protection antimicrobienne du produit terminé, et, autant que possible, dans le conditionnement prévu pour sa commercialisation.

## 1.8. Evaluation de l'efficacité d'un système conservateur :

Les tests d'efficacité antimicrobienne de pharmacopée (AET) ou d'efficacité conservateur (PET) consistent à mettre au défi un produit comportant un nombre défini d'unités formant des colonies (UFC) de divers micro-organismes (bactéries, levures et champignons), à dénombrer à un moment zéro, puis à surveiller les taux de mortalité / survie à des intervalles de temps définis allant jusqu'à 28 jours <sup>(22-24)</sup>. Les organismes d'essai recommandés par toutes les pharmacopées comprennent :

- Coccus à Gram positif, *Staphylococcus aureus*.
- Bâtonnet Gram négatif, *Pseudomonas aeruginosa*.
- Champignons / moisissures, *Aspergillus niger*.
- Levure, *Candida albicans*.

**Selon la pharmacopée européenne** ces testes sont recommandés spécialement pour les préparations aqueuses pour éviter la prolifération ou limiter la contamination microbienne qui, dans les conditions normales de conservation et de d'emploi, notamment pour récipients multidoses, pourrait se produire et entraîner un risque d'infection pour le malade et une détérioration de la préparation. <sup>(7)</sup>

De plus, USP <sup>(22)</sup> et Ph. Euro. <sup>(23)</sup> recommandent l'utilisation d'E. Coli. La liste peut être complétée par d'autres organismes pouvant être associés à un processus, une installation ou un matériau particulier, par ex. *Burkholderia cepacia* est un pathogène opportuniste souvent isolé dans les environnements de fabrication, *Bacillus subtilis*, une bactérie sporulée, etc.

Les critères d'acceptation pour USP <sup>(22)</sup> et JP <sup>(24)</sup> sont globalement similaires, avec quelques différences entre le type de produit et la présentation. Tout nécessitant une réduction satisfaisante pour chaque organisme mis au défi, sans augmentation ultérieure par rapport au nombre initial après 14 et 28 jours. Cependant, il est largement reconnu que les critères de la Ph. Eur. <sup>(23)</sup> sont les plus strictes et difficiles à respecter. La Ph. Eur, nécessite une réduction spécifiée du nombre des bactéries au cours des 14 premiers jours sans augmentation ultérieure par rapport au nombre initial après 14 et 28 jours.

Les tableaux (III) et (IV) présentent une comparaison des critères d'approbation relatifs de l'USP et de la Ph. EUR (EP), la comparaison est basée sur la réduction du nombre de bactérie et levures, moisissures, avant ou après 14 jours d'incubation.

**Tableau (III) :** - Comparaison des critères USP et EP d'évaluation de l'efficacité de la conservation, I) Bactéries viables totales. <sup>(22-23)</sup>

Pharmacopées	point de temps (1. Réduction logarithmique du nombre de bactérie)						
	6 Heurs	24 Heurs	2 jours	7 jours	14 jours	21 jours	28 jours
<b>USP catégorie 1</b>				≤1.0	≤3.0		Pas d'augmentation (vs. <b>14 jours compte</b> )
<b>USP catégorie 2</b>					≤2.0		Pas d'augmentation (vs. <b>14 jours compte</b> )
<b>USP catégorie 3</b>					≤1.0		Pas d'augmentation (vs. <b>14 jours compte</b> )
<b>USP catégorie 4</b>					Pas d'augmentation (vs. <b>initial compte</b> )		Pas d'augmentation (vs. <b>14 jours compte</b> )
<b>EP catégorie A1</b>	≤3.0	Pas d'augmentation	Pas d'augmentation	Pas d'augmentation	Pas d'augmentation	Pas d'augmentation	Pas d'augmentation
<b>EP catégorie B2</b>		≤1.0		≤3.0			Pas d'augmentation
<b>1. suggéré    2. Minimum</b>							



**Tableau (IV):** - Comparaison des critères USP et EP d'évaluation de l'efficacité des conservateurs, II) Champignons / levures totaux viables. <sup>(22-23)</sup>

Pharmacopées	point de temps (1. Réduction logarithmique du nombre de Champignons / levures)						
	6 Heurs	24 Heurs	2 jours	7 jours	14 jours	21 jours	28 jours
<b>USP catégorie 1</b>				Pas d'augmentation (vs. <b>initial</b> compte)	Pas d'augmentation (vs. <b>initial</b> compte)	Pas d'augmentation (vs. <b>initial</b> compte)	Pas d'augmentation (vs. <b>14 jours</b> compte)
<b>USP catégorie 2</b>					Pas d'augmentation (vs. <b>initial</b> compte)	Pas d'augmentation (vs. <b>initial</b> compte)	Pas d'augmentation (vs. <b>14 jours</b> compte)
<b>USP catégorie 3</b>					Pas d'augmentation (vs. <b>initial</b> compte)	Pas d'augmentation (vs. <b>initial</b> compte)	Pas d'augmentation (vs. <b>14 jours</b> compte)
<b>USP catégorie 4</b>					Pas d'augmentation (vs. <b>initial</b> compte)	Pas d'augmentation (vs. <b>initial</b> compte)	Pas d'augmentation (vs. <b>14 jours</b> compte)
<b>EP catégorie A1</b>				≤2.0	Pas d'augmentation	Pas d'augmentation	Pas d'augmentation
<b>EP catégorie B2</b>					≤1.0	Pas d'augmentation	Pas d'augmentation
<b>1. suggéré    2. Minimum</b>							

Ces tests (AET) font partie des études d'optimisation des conservateurs. Ils doivent également être effectués à la fin de la durée de vie du produit afin de garantir une conservation adéquate pendant toute la durée d'utilisation du produit. Certaines autorités de

réglementation exigent également la confirmation que le produit est correctement préservé au cours de sa période d'utilisation, lors de son ouverture, de sa distribution et de sa fermeture régulière et lorsque le potentiel de contamination microbienne est maximal.

Des systèmes de test à haute sensibilité sont à l'étude en vue de remplacer éventuellement les tests de pharmacopée. Les techniques comprennent la bioluminescence de l'ATP, l'impédance électrique et la chimioluminescence <sup>(25)</sup>. De telles approches offrent un potentiel d'automatisation des tests et de criblage à haut débit des formulations au cours du développement. Inévitablement, il faudrait beaucoup de développement, de validation et de corroboration avant d'adopter une technique de remplacement. Entre-temps, certains problèmes pourraient être résolus afin de garantir une approche plus judicieuse des monographies actuelles. Ceux-ci pourraient inclure:

### **Monographies compilées harmonisées :**

Rien n'indique clairement que les critères de performance USP ont conduit à des produits mal conservés aux États-Unis <sup>(26)</sup>. À la lumière de cette expérience et de la grande difficulté à faire en sorte que certains produits satisfassent aux exigences de la Ph.Eur (avec les coûts et les retards liés au développement du produit), il serait bénéfique que les initiatives d'harmonisation de la pharmacopée en cours soient achevées dès que possible.

Certains produits liquides oraux sont fabriqués sous forme de solides lyophilisés constitués d'eau avant leur utilisation. La durée de vie à l'état liquide est généralement limitée par l'instabilité du médicament. Les périodes d'utilisation de 7 ou 10 jours sont courantes. Les critères de performance applicables aux agents de conservation dans ces produits devraient en tenir compte. Exécution du test pendant 30 jours, lorsque le produit peut échouer pour d'autres raisons, par exemple. La perte de conservateur par hydrolyse ou sublimation n'a guère de sens scientifique. Les critères d'élimination / de régénération doivent refléter la durée de vie du produit en cours d'utilisation.

## **Formulations sans conservateur**

Les cosmétiques, les médicaments et les aliments / boissons sans conservateur sont considérés comme des produits de qualité supérieure exemple : xylocain 10% solution injectable. Il est vrai que des progrès importants ont été réalisés dans les technologies de fabrication et d'emballage «microbiologiquement propres», ainsi que de la réalisation des Bonnes Pratiques de Fabrication, de manière à éviter la contamination microbienne globale. Dans le même temps, de nombreux matériaux utilisés comme excipients, de provenance biologique, ne peuvent pas être stériles de manière réaliste.

De plus, leur nature ou leurs propriétés physiques font en sorte qu'ils ne peuvent pas être facilement stérilisés avant ou pendant l'incorporation dans le produit. La stérilisation terminale peut ne pas être réalisable pour les mêmes raisons. La présence de faibles niveaux de microbes ne peut pas être évitée dans de tels cas et, si le véhicule permet ou encourage la croissance microbienne (au cours de la longue durée de conservation que doivent nécessairement posséder les produits pharmaceutiques) l'inclusion d'un agent de conservation dans le produit est simplement un moyen prudent d'apporter un attribut de qualité important et protéger le patient.

Concrètement, l'élimination des conservateurs d'un médicament (même si cela est techniquement réalisable) nécessiterait de repenser en profondeur les systèmes qualité tout au long de la fabrication afin de fournir un produit essentiellement exempt de microbes (essentiellement stérile). Les emballages et les dispositifs de livraison doivent également garantir que la qualité intégrée lors de la fabrication est maintenue tout au long de la durée de vie du produit, en particulier pendant sa période d'utilisation. Une telle approche pourrait impliquer les pratiques suivantes:

- Contrôle des niveaux microbiens dans les composants du produit (médicament, excipients et surtout eau, récipient / fermeture) intégrant la certification du vendeur, les tests, la validation de l'emballage et le stockage dans des zones correctement nettoyées.
- Fabrication des produits dans un environnement exempt de microbes. Dans certains cas, IL peut être possible de réduire ou d'éliminer la contamination par des procédures en cours ou en fin de fabrication, comme cela est possible avec certains produits alimentaires et de confiserie. Cependant, il existe une réticence réglementaire

générale à utiliser des conservateurs pour remédier aux mauvaises pratiques de fabrication, réduire la population microbienne viable d'un produit non stérile ou pour contrôler la charge biologique avant la stérilisation d'un produit stérile multidose <sup>(22)</sup>.

Une telle «stérilisation post-fabrication» peut traiter les microbes résiduels, mais les endotoxines demeurent et posent des problèmes de qualité et de sécurité supplémentaires.

- Le produit est emballé dans des unités qui maintiennent l'intégrité de la fermeture pendant la durée de vie, par exemple souffler les ampoules de sceau. Unités à usage unique, par exemple Les systèmes BFS<sup>®</sup> sont les systèmes de fermeture des conteneurs les plus fréquemment utilisés, sans conservateur, mais ils sont difficiles à utiliser, en particulier pour les patients gériatriques, et sont plus coûteux.

De même, il existe plusieurs nouveaux systèmes de fermeture / récipients ophtalmiques qui utilisent un filtre de 0,2 micron ou un conservateur (par exemple, le chlorure de bezalkonium) adsorbé sur un filtre pour maintenir la stérilité pendant la période d'utilisation, et plusieurs ont été commercialisés <sup>(27)</sup>, (exemple : Les systèmes de fermeture de récipients ABAK<sup>®</sup> (Laboratoires Théa, France) et COMOD<sup>®</sup> (Ursapharm, Allemagne) ont été utilisés pour plusieurs produits ophtalmiques différents, tels que les bêta-bloquants courants. timolol et carteolol).

Des technologies sont généralement disponibles pour assurer cette qualité, les contrôles et traitements étant spécifiques à chaque produit. De nombreux produits pharmaceutiques utilisent déjà de telles approches. La période d'utilisation du produit par les patients reste le talon d'Achille, lorsque la fermeture doit être abordée ou pénétrée de manière à pouvoir prélever une dose, et plus important encore lorsqu'il existe un risque de contamination microbienne. Il n'existe aucun moyen universellement fiable d'atteindre cet objectif pour chaque type de produit. Se tromper à n'importe quel stade de la chaîne d'approvisionnement, de fabrication, de stockage ou d'utilisation, entraînera presque certainement un retour aux préoccupations sanitaires antérieures causées par la contamination microbienne de médicaments «stériles» à usages multiples et sans conservateur <sup>(28)</sup>

**Chapitre 2 :**  
**Les principaux**  
**conservateurs utilisés**  
**dans les médicaments**

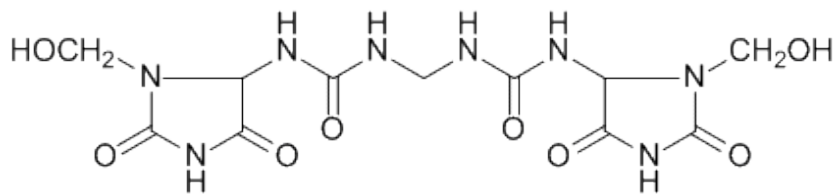
## 2. Les conservateurs utilisés dans la production des médicaments :

### 2.1. LES CONSERVATEURS ANTIMICROBIENS :

#### 2.1.1 Imidazolidinylurée (imidurée) :

##### Propriétés physico-chimiques :

L'imidurée présente sous forme d'une poudre blanchâtre fine hygroscopique. <sup>(29)</sup>



**Figure 1.** Structure chimique de l'imidurée <sup>(29)</sup>

C'est un conservateur qui, en présence d'eau ou des solvants polaires, dégage le **formaldéhyde** et ne reste pas sous sa forme simple, il est soluble dans l'eau et les solvants polaires.

Le dégagement de formaldéhyde dans une solution aqueuse augmente avec l'augmentation du pH et de la température.

##### Applications en formulation pharmaceutique :

L'imidurée est un conservateur antimicrobien à large spectre utilisé dans les préparations pharmaceutiques topiques et cosmétiques tels que les crèmes et les lotions.

Les concentrations typiques utilisées sont comprises entre **0,03** et **0,5% p / p**. Il est efficace entre pH 3 et 9, et aurait des effets synergiques lorsqu'il est utilisé avec les parabens.<sup>(29)</sup>

##### Propriétés typiques :

**Acidité / alcalinité** pH = 6,0 à 7,5 (solution aqueuse à 1% p / v)

Le formaldéhyde libéré par l'Imidazolidinylurée est un agent **microbicide**, qui a une activité létale contre les bactéries, les spores bactériennes, les champignons et les virus, il est plus actif contre **les bactéries** que les champignons.

Mais cette activité de conservation est considérablement renforcée contre les champignons, lorsqu'il est utilisé en association avec les parabens. <sup>(29)</sup>.

### **Mécanisme d'action :**

L'Imidazolidinylurée est un conservateur qui doit son action antimicrobienne à sa structure mère, capable de libérer des molécules de **formaldéhyde**.

Il est admis que, **les formaldéhydes** grâce à leur petite taille peuvent traverser la membrane externe des **bactéries à gram négatif** par la diffusion à travers les porines à l'intérieur de la cellule.

- Ce produit réagit facilement avec les groupements aminés, amides, imino, thiols, carboxyles et hydroxyles. Il se lie par **des liaisons covalentes** avec **les protéines plasmatiques** des bactéries pour donner une réticulation intermoléculaire de ces protéines.
- En plus, le formaldéhyde peut réagir avec les groupements azotés des purines et des pyrimidines des **acides nucléiques**.

### **Sécurité :**

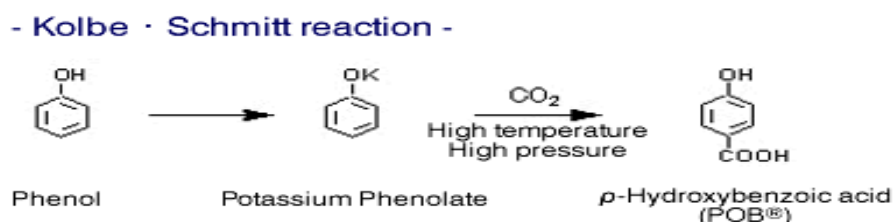
- L'imidurée est généralement considéré comme un matériau **non toxique et non irritant** <sup>(29)</sup>.
- Quelques cas de **dermatites de contact** associées à l'imidurée ont toutefois été rapportés. <sup>(29)</sup>

### **2.1.2. Parabens :**

Les parabens forment un groupe homologue dérivés de **l'acide hydroxybenzoïque** (phénol). Celui-ci est estérifié en C-4 par un alcool selon **la réaction de Kolbe-Schmitt**, et selon l'alcool utilisé, les différents parabens obtenus sont le : méthyl-(MP), éthyl-(EP), propyl-(PP), isopropyl-, butyl-(BP), isobutyl- et benzylparaben.

Ils sont utilisés couramment dans les produits pharmaceutiques et les cosmétiques, seuls ou en associations pour exercer une activité antimicrobienne et antifongique. <sup>(30)</sup>

### la réaction de Kolbe-Schmitt :

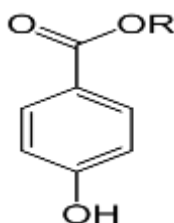


### Présentation des parabens :

#### Synthèse :

Les parabens sont surtout obtenus de façon **synthétique** par estérification de l'acide *p*-hydroxybenzoïque avec un alcool en présence d'un acide comme catalyseur. Ils se différencient par leur groupement alkyl.

Mais on peut également trouver des parabens à l'état naturel dans la plante 'cloudberry' *Rubus chamaemorus L*, et dans le fruit de passion jaune, dans le vin blanc, les vins liquoreux, et la vanille Bourbon.



**Figure 2 :** Structure chimique des parabens <sup>(30)</sup>

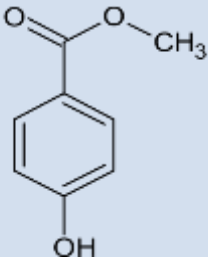
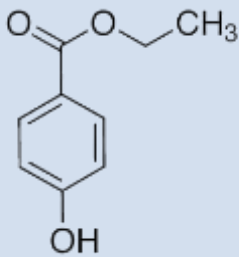
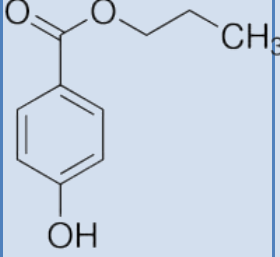
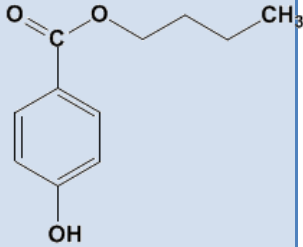
### Propriétés physico-chimiques :

Nous allons étudier ceux qui sont le plus souvent utilisés dans les cosmétiques et les médicaments à savoir le : méthyl-(MP), éthyl-(EP), propyl-(PP), butyl-(BP).

Les parabens sont retrouvés sous forme d'une poudre **crystalline, peu colorée, sans odeur ni goût**. Généralement, les parabens résistent à l'hydrolyse dans l'eau froide et chaude et aux solutions acides. La résistance à l'hydrolyse augmente avec la longueur de la chaîne alkyl. L'hydrolyse se produit à pH= 7. <sup>(30)</sup>



**Tableau (V) : Caractéristiques physico-chimiques des principaux parabens <sup>(31)</sup>**

R	Méthyl	Ethyl	Propyl	Butyl
Formule développée				
N-CAS	<b>99-76-3</b>	<b>120-47-8</b>	<b>94-13-3</b>	<b>94-26-8</b>
Formule brute	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
Masse Molaire (g/mol)	152.05	166.06	180.08	194.09
Point de fusion (Co)	131	116-118	96-98	68-69

**Utilisations des parabens :**

<b>Médicaments</b>	Crèmes, pommades, lotions, ovules, suppositoires, solutions injectables, nasales, ophtalmiques, auriculaires, comprimés, sirops...
<b>Produits cosmétiques</b>	Très nombreux produits d'hygiène, de soins et de maquillage, crèmes dépilatoires, crèmes solaires, dentifrices, déodorants, gels, poudres, savons, shampoings, teintures capillaires, crèmes amincissantes, antirides...

**Tableau (VI) : Exemples de domaines d'utilisation des parabens (MP, PP, BP, EP) (30).**

Les parabens sont utilisés seuls ou en association dans les produits cosmétiques qui peuvent entrer en contact avec la peau, les cheveux, les ongles, les muqueuses.

### Propriétés typiques :

- Les parabens présentent une activité antimicrobienne d'un pH de **4 à 8**. Leurs efficacité diminue avec l'augmentation du pH en raison de la formation de l'anion phénolate.
- Les parabens sont plus actifs contre **les levures** et les **champignons** que contre les bactéries. Ils sont également plus actifs contre les bactéries à **Gram +** que contre les bactéries à Gram - .
- L'activité des parabens augmente avec l'augmentation de la longueur de la chaîne du fragment alkyle, et peut être améliorée en utilisant des combinaisons de parabens au moment où des effets synergiques se produisent. Par conséquent, des combinaisons de MP, EP, PP, BP sont souvent utilisées ensemble (Exemple : **Maxilase<sup>®</sup> ;sirop** , **Maalox<sup>®</sup> ;suspension buvable** contient le methylparaben + propylparaben)
- L'activité est renforcée par l'addition d'autres excipients tels que : **le propylène glycol** (2–5%), **l'alcool phényléthylique** et **l'acide édétique**.<sup>(32)</sup>
- En raison de la faible solubilité des parabens, **les sels de parabens** (En particulier le sel de sodium) sont plus fréquemment utilisés dans les formulations.
- Le méthylparaben (0,18%) avec le propylparaben (0,02%) sont aussi utilisés pour la conservation de diverses formulations pharmaceutiques parentérales.<sup>(30)</sup> (Exemple : **gentalline<sup>®</sup> ;Injectable** ) et crèmes ( **BIAFINE<sup>®</sup> ; crème** )

### Mécanisme d'action :

- Le mode d'action présumé des parabens serait lié à la fixation de ces derniers à la surface de la membrane cytoplasmique des bactéries, ce qui provoquerait une altération et une destruction de cette membrane. On résulterait une fuite extra-cellulaire des électrolytes et des constituants vitaux.<sup>(34)</sup>
- Au niveau du cytoplasme, les parabens agissent en provoquant une perturbation de la respiration cellulaire (effet inhibiteur sur la consommation d'oxygène), du transport des électrons et des systèmes enzymatiques d'oxydation.

### Sécurité :

- Bien que les parabens aient été utilisés comme agents de conservation dans les **injections** et les préparations **ophtalmiques**, ils sont maintenant considérés comme inappropriés pour ces types de formulations en raison du potentiel irritant des parabens. <sup>(34)</sup>
- Les parabens sont **non mutagènes, non neurotoxiques** et **non cancérigènes** .
- La sensibilisation aux parabens est **rare** et ces composés ne présentent pas de niveaux importants de sensibilisation par photocontact ni de phototoxicité. <sup>(33)</sup>
- **Une dermatite de contact retardée** survient plus fréquemment lorsque les parabens sont utilisés par voie topique, mais elle a été rapportée après administration orale. <sup>(34)</sup>
- L'OMS a fixé une dose journalière totale acceptable estimée pour Méthyl, éthyl et propylparaben jusqu'à **10 mg / kg** de poids corporel. <sup>(34-35)</sup>

### 2.1.3 Dérivés alcooliques :

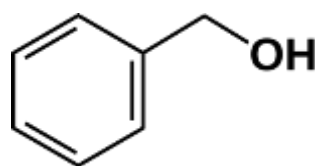
#### 2.1.3.1 Alcool benzylique :

L'alcool benzylique est présent naturellement dans plusieurs plantes (dont certaines à partir desquelles on extrait des huiles essentielles) et dans certains aliments.

Le produit commercial est généralement issu de **synthèse**. <sup>(36)</sup>

#### Propriétés physico-chimiques :

C'est un liquide limpide, incolore et huileux avec une légère odeur aromatique et un goût vif et brûlant, décelable dès la concentration de 5,5 ppm



**Figure 3:** Structure chimique de l'alcool benzylique <sup>(36)</sup>

### Applications en formulation pharmaceutique :

- L'alcool benzylique est un conservateur antimicrobien utilisé dans les cosmétiques, mais aussi dans une large gamme de formulations pharmaceutiques, y compris les préparations orales, parentérales (**KENACORT RETARD<sup>®</sup>**, **suspension injectable**), à des concentrations allant jusqu'à **2,0% v / v**, et topiques (**MYCOSTER<sup>®</sup>**; **crème 1%**). <sup>(36)</sup>
- Il a été rapporté que ce produit est utilisé dans les produits à base de protéines, de peptides et de petites molécules.
- Dans les cosmétiques, à des concentrations maximales de 3,0% v/v il peut être utilisé comme **conservateurs**, et à des concentrations de 5% v/v ou plus est utilisé comme **solubilisant**, tandis qu'une solution à **10% v/v** en alcool benzylique est utilisée comme **désinfectant**, à faible concentration, sert d'**antiseptique** dans les traitements intraveineux et comme conservateur dans les cosmétiques et les crèmes.
- Les solutions d'alcool benzylique à **10% v/v** ont certaines propriétés **anesthésiques locales**, qui sont exploitées dans certaines solutions parentérales, produits contre la toux, solutions ophtalmiques, pommades et aérosols dermatologiques. <sup>(36-37)</sup>
- Aux États-Unis, la FDA a autorisé le recours à l'alcool benzylique en solution à **5%** pour la lutte contre les poux chez les enfants de plus de 6 mois et les adultes. <sup>(38)</sup>

### Propriétés typiques :

**Acidité / alcalinité** : Les solutions aqueuses sont neutres.

**L'activité antimicrobienne** : l'alcool benzylique est **bactériostatique**, il est utilisé comme conservateur antimicrobien contre les bactéries à Gram **positif**, (les CMI typiques sont de **3 à 5 mg / ml**), moins actif contre les bactéries à Gram négatif. <sup>(36)</sup>

- L'activité antimicrobienne est réduite en présence de tensioactifs non ioniques, tels que le polysorbate 80.

- L'activité de l'alcool benzylique peut être réduite par des incompatibilités avec certains matériaux d'emballage, en particulier le **polyéthylène** .

**Les champignons:** L'alcool benzylique est efficace contre les moisissures et les levures (les CMI typiques sont de **3 à 5 mg / ml**). <sup>(36)</sup>

**Les spores :** L'alcool benzylique est inactif contre les spores, mais l'activité peut être augmentée par le chauffage. <sup>(36)</sup>

#### **Mécanisme d'action :**

L'alcool benzylique est un antiseptique à large spectre bactéricide et fongicide.

Il possède également une activité légèrement anesthésique et analgésique locale <sup>(16)</sup>

#### **Sécurité :**

- L'alcool benzylique ne s'accumule pas dans l'organisme <sup>(39)</sup>
- Provoque une irritation faible de la peau, sévère des yeux. <sup>(40)</sup>
- L'ingestion ou l'inhalation d'alcool benzylique peut causer des maux de tête, des vertiges, des nausées, des vomissements et une diarrhée. Une surexposition peut entraîner une dépression du système nerveux central et une insuffisance respiratoire. Cependant, les concentrations d'alcool benzylique normalement utilisées comme agent de conservation ne sont pas associées à de tels effets indésirables.
- Les rapports sur les effets indésirables de l'alcool benzylique utilisé comme conservateur incluent la toxicité après administration intraveineuse, la neurotoxicité chez les patients traités avec de l'alcool benzylique dans des préparations intrathécales, une hypersensibilité relativement **rare**.
- Un syndrome toxique mortel chez les prématurés et le syndrome toxique mortel chez les nouveau-nés de faible poids à la naissance, qui comprend des symptômes d'acidose métabolique et de dépression respiratoire a été attribué à l'utilisation d'alcool benzylique comme agent de conservation dans les solutions utilisées pour rincer les

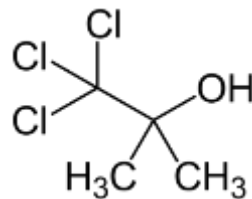
cathéters ombilicaux. En conséquence, la FDA a recommandé que l'alcool benzylique ne soit pas utilisé dans de telles solutions de rinçage et a déconseillé l'utilisation de médicaments contenant des conservateurs chez le **nouveau-né**.<sup>(36-37)</sup>

- L'OMS a fixé la dose journalière acceptable estimée de la fraction benzyle / benzoïque à une concentration de **5 mg / kg** de poids corporel par jour au maximum.<sup>(36)</sup>

### 2.1.3.2. Chlorobutanol :

#### Propriétés physico-chimiques :

Cristaux volatils, incolores ou blancs avec une odeur de moisi et de camphoracée



**Figure 4:** Structure chimique de chlorobutanol<sup>(41)</sup>

#### Applications en formulation pharmaceutique :

Le chlorobutanol est principalement utilisé en tant que conservateur dans des formes galéniques **ophtalmiques** (Parmi les dérivés alcoolique, seuls le chlorobutanol (et le phényléthanol) sont utilisés comme conservateurs antimicrobien en **ophtalmologie** et par voie **parentérale** e à des concentrations allant jusqu'à **0,5 %**).

Il est particulièrement utilisé comme agent antibactérien dans les **formulations non aqueuses**.<sup>(41)</sup>

### Propriétés typiques :

- L'activité antimicrobienne est **bactériostatique**, plutôt que **bactéricide**, réduite au-dessus de pH **5,5**.
- Le chlorobutanol possède des propriétés **antibactériennes** et **antifongiques**. Il est efficace contre les bactéries Gram **positif** et **negative** comme le *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus albus*. et certains champignons, par ex : *Candida albicans*.
- L'activité du chlorobutanol peut être **réduite** par l'augmentation du température et en raison d'incompatibilités avec d'autres excipients ou matériaux d'emballage; Cependant, l'activité peut être **augmentée** en association avec d'autres conservateurs antimicrobiens (**BAC, Chlorhexidine**). <sup>(41)</sup>

### Mécanisme d'action :

Le chlorobutanol agit par perturbation de la structure lipidique de la membrane bactérienne, augmente leur perméabilité conduisant à la lyse cellulaire. <sup>(16)</sup>

### Sécurité :

- Le chlorobutanol est largement utilisé comme agent de conservation dans certain nombre de formulations pharmaceutiques, en particulier dans les préparations **ophtalmiques**. (Exemple: **Tobrex<sup>®</sup>** collyre)
- Il a été démontré que le chlorobutanol induisait in vitro une toxicité conjonctivale et cornéenne à une concentration de 0,1%, il provoquait une quasi-épuisement de la couche squameuse tout en dégénérescence des cellules épithéliales de la cornée, en produisant des bulles membraneuses bien visibles, un gonflement cytoplasmique et des coupures occasionnelles à l'extérieur de la membrane cellulaire ont été observés à une concentration de **0,5%**. <sup>(42)</sup>
- Les effets indésirables rapportés du chlorobutanol sont les suivants: effets **cardiovasculaires** consécutifs à l'administration intraveineuse d'héparine sodique

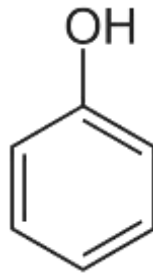
injectée conservée au chlorobutanol; effets **neurologiques** consécutifs à l'administration d'une dose importante de perfusion de morphine conservée au chlorobutanol et de **réactions d'hypersensibilité**, bien que ceux-ci soient considérés comme rares. <sup>(41-43)</sup>

- La dose humaine mortelle de chlorobutanol est estimée à **50–500 mg / kg**. <sup>(41)</sup>

### 2.1.3.3. Phénol :

#### Propriétés physico-chimiques :

Le phénol se présente sous forme de cristaux ou de masses cristallines en forme d'aiguilles déliquescentes, incolores à roses pâles, caustiques, avec une odeur caractéristique. <sup>(44)</sup>



**Figure 5:** Structure chimique de phénol <sup>(44)</sup>

#### Applications en formulation pharmaceutique :

- Le phénol est principalement utilisé comme agent de conservation antimicrobien dans les produits pharmaceutiques à usage **parentéral et topiques**.<sup>(44)</sup>
- Le phénol est largement utilisé comme antiseptique, désinfectant et agent thérapeutique, bien qu'il ne soit pas utilisé pour conserver des préparations à lyophiliser. <sup>(44-45)</sup>



### Propriétés typiques :

- **Activité antimicrobienne:** Le phénol présente une activité antimicrobienne contre un large spectre de microorganismes tels que les bactéries Gram négatif et Gram positif, les mycobactéries et certains champignons; mais son efficacité contre les spores est lente.
- Les solutions aqueuses à 1% p / v sont **bactériostatiques**, alors que les solutions les plus concentrées sont **bactéricides**.

### Mécanisme d'action :

- Le phénol est un agent protéolytique puissant, surtout au niveau de la membrane bactérienne <sup>(14)</sup>

### Sécurité :

- Le phénol est hautement **corrosif** et **toxique**, les principaux effets étant sur le système nerveux central.
- Le phénol est absorbé par le tractus gastro-intestinal, la peau et les muqueuses, il est métabolisé en **phényl glucuronide** et en **sulfate de phényle**, qui sont excrétés dans les urines.
- Les effets indésirables liés au phénol utilisé en tant que conservateur sont moins probables en raison des plus petites quantités utilisées ; Toutefois, il a été suggéré que la charge corporelle en phénol ne devrait pas dépasser **50 mg** par période de 10 heures. Cette quantité pourrait être dépassée après l'administration de grands volumes de médicaments conservés au phénol. <sup>(44)</sup>
- La dose orale mortelle chez l'homme est estimée à **1 g** .

#### 2.1.3.4. Bronopol :

##### Propriétés physico-chimiques :

Bronopol est une poudre cristalline blanche ou presque blanche ; inodore ou avec une légère odeur caractéristique. <sup>(46-47)</sup>

Le bronopol en solution aqueuse devient **instable**, sa décomposition est immédiate, il est étroitement liée au PH et à la température de l'eau.

De nombreux produits sont générés par cette dégradation, Bomonitroéthanol, **Formaldéhyde**, **nitrosamines**,... .

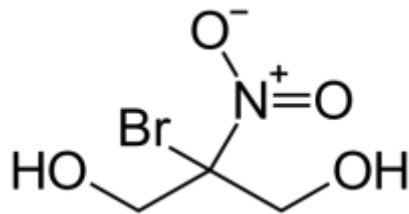


Figure 6: Structure chimique de bronopol (46)

##### Applications en formulation pharmaceutique :

Le bronopol **0,01-0,1% p / v** est utilisé comme conservateur antimicrobien soit seul, soit en association avec d'autres conservateurs dans les formulations pharmaceutiques **topiques**, et comme agent actif dans les formulations en **aérosol**, les cosmétiques et les articles de toilette avec une concentration habituelle de **0,02% p / v**. <sup>(47)</sup>

##### Propriétés typiques :

- **Activité antimicrobienne:** le bronopol est actif contre les bactéries à Gram **positif** et Gram **négatif**, y compris *Pseudomonas aeruginosa*, .À la température ambiante, une solution aqueuse à 0,08% p / v peut réduire la viabilité des souches d'*Escherichia coli* et de *Pseudomonas aeruginosa* de collection de culture de 100 fois ou plus en 15 minutes. <sup>(46)</sup>

- L'activité antimicrobienne n'est pas influencée de manière marquée entre pH 5 à 8, ni par les agents de surface anioniques et non ioniques courants, la lécithine ou les protéines. Le bronopol est moins actif contre les levures et contre les spores bactériennes. <sup>(46)</sup>

### **Mécanisme d'action :**

L'inhibition des enzymes de la déshydrogénase liée à la membrane bactérienne. <sup>(16)</sup>

### **Sécurité :**

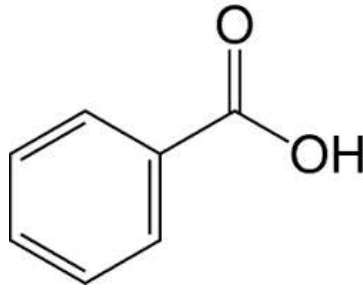
- Bien que le bronopol ait provoqué à la fois des effets indésirables irritants et d'hypersensibilité après une utilisation topique, il est généralement considéré comme un matériau **non irritant** et **non sensibilisant** à des concentrations allant jusqu'à 0,1%.
- Les produits résultants de la dégradation du bronopol ont pour certains un effet toxique (**Formaldéhyde**), cancérogènes, (**Nitrosamines**), mutagènes, reprotoxiques et génotoxiques.
- Le bronopol en solution aqueuse, est un CMR (Des agents cancérogènes, mutagènes, toxique pour la reproduction) par les produits liés à sa décomposition dangereux par contact, ingestion et inhalation, certaines particules sont volatiles (**dioxyde d'azote**) à température ambiante. <sup>(46)</sup>

## **2.1.4. Dérivés acides :**

### **2.1.4.1. Acide benzoïque :**

#### **Propriétés physico-chimiques :**

L'acide benzoïque se présente sous forme de poudre ou de cristaux de plumes, légers, blancs ou incolores. Il est essentiellement sans goût et sans odeur ou avec une légère odeur caractéristique évoquant le benjoin. <sup>(48-49)</sup>



**Figure 7:** Structure chimique de acide benzoïque (48)

### **Applications en formulation pharmaceutique :**

- L'acide benzoïque est largement utilisé dans les produits pharmaceutiques en tant que conservateur **antimicrobien** <sup>(48-49)</sup> dans les préparations topiques, et les préparations solides (Ex: **TAHOR<sup>®</sup> 40; comprimé pelliculé**)
- L'acide benzoïque est également utilisé depuis longtemps comme **antifongique** dans des préparations topiques. <sup>(48)</sup>

### **Propriétés typiques :**

- L'activité optimale se produit est observée à des valeurs de pH comprises entre **2,5 et 4,5**. A des valeurs de **pH > 5**, l'acide benzoïque est presque inactive <sup>(48)</sup>.
- **Activité antimicrobienne:** Seul l'acide non-dissocié présente des propriétés antimicrobiennes.
- Il a été rapporté que l'activité antimicrobienne est renforcée par l'addition d'une protéine basique (le protamine) <sup>(49)</sup>.
- **Bactéries:** son activité **bactériostatique** est modérée contre la plupart des espèces de bactéries à Gram **positif**. (la CMI typique est de **100 mg / ml.** )  
En général, l'activité est moindre, contre les bactéries à Gram négatif. (la CMI peut atteindre **1600 mg / ml.**)
- Il possède une activité modérée contre les levures, mais on peut la renforcer par l'ajout de propylène glycol. <sup>(48)</sup>

- **Spores:** L'acide benzoïque est inactif contre les spores.

### **Mécanisme d'action :**

L'acide benzoïque agit au niveau de la membrane bactérienne, inhibant l'absorption des acides aminés et l'activité des enzymes respiratoires dans les cellules microbienne.

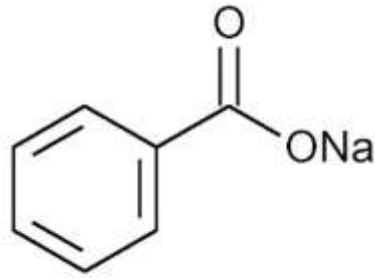
### **Sécurité:**

- L'acide benzoïque ingéré est conjugué à de la glycine dans le foie pour donner de l'acide hippurique, qui est ensuite excrété dans les urines <sup>(48)</sup>. Des précautions doivent être prises lors de l'administration d'acide benzoïque chez des patients présentant une maladie chronique du foie <sup>(49)</sup>.
- L'acide benzoïque est un irritant **gastrique** et irritant légère de **la peau**, des yeux et des muqueuses.
- Certains asthmatiques pourraient être affectés négativement par l'acide benzoïque contenu dans certains antiasthmiques.
- La dose journalière d'acide benzoïque et d'autres benzoates, calculée en acide benzoïque et acceptable par l'OMS, a été fixée à **5 mg / kg** de poids corporel. <sup>(48)</sup>
- La dose minimale mortelle par voie orale d'acide benzoïque administrée à l'homme est de **500 mg / kg** <sup>(48)</sup>

#### **2.1.4.2. Benzoate de sodium :**

##### **Propriétés physico-chimiques :**

Le benzoate de sodium se présente sous forme d'une poudre blanche légèrement granuleuse ou cristalline légèrement hygroscopique. Il est sans odeur ou avec une légère odeur de benjoin et a un goût désagréable sucré et salé.



**Figure 8:** Structure de benzoate de sodium (50)

### Applications en formulation pharmaceutique :

- Le benzoate de sodium est principalement utilisé comme agent de conservation antimicrobienne dans les cosmétiques, les aliments et les produits pharmaceutiques. Il est utilisé à des concentrations de 0,02 à 0,5% dans les médicaments **oraux**, de 0,5% dans les produits à usage **parentéral** et de 0,1 à 0,5% dans les cosmétiques.
- Le benzoate de sodium est préféré à l'acide benzoïque dans certaines circonstances, en raison de sa plus grande solubilité. Cependant, dans certaines applications, il peut donner un goût désagréable.
- Le benzoate de sodium a également été utilisé comme lubrifiant pour les comprimés à des concentrations comprises entre **2** et **5%** p / p.
- Des solutions de benzoate de sodium ont été administrées par voie orale ou intraveineuse afin de déterminer la fonction hépatique.<sup>(50)</sup>

### Propriétés typiques :

L'utilité du benzoate de sodium en tant que conservateur est limitée par son efficacité sur une gamme étroite de pH. <sup>(50-51)</sup>

**Activité antimicrobienne :** Le benzoate de sodium possède des propriétés à la fois **bactériostatiques** et **antifongiques** attribuées à l'acide benzoïque non dissocié ; par

conséquent, l'efficacité des conservateurs est mieux perçue dans les solutions acides (pH 2-5). En conditions alcalines, il est presque sans effet.

### **Mécanisme d'action :**

Le benzoate de sodium agit au niveau de la membrane microbienne. <sup>(15)</sup>

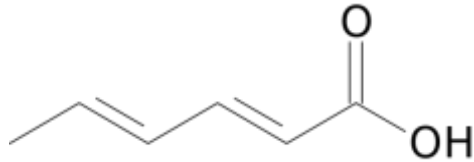
### **Sécurité :**

- Les symptômes de toxicité systémique au benzoate ressemblent à ceux des salicylates. Alors que l'administration orale de la forme acide libre peut provoquer une grave irritation gastrique, les sels de benzoate sont bien tolérés en grande quantité; par ex : (6 g de benzoate de sodium dans 200 ml d'eau sont administrés par voie orale comme test de la fonction hépatique.)
- L'anaphylaxie et les réactions urticariennes sont d'autres effets indésirables, une étude contrôlée ait montré que l'incidence de l'urticaire chez les patients recevant de l'acide benzoïque n'est pas supérieure à celle associée à un lactose placebo. <sup>(50)</sup>
- Il a été recommandé de ne pas utiliser de caféine ni de benzoate de sodium chez **les nouveau-nés**. cependant, le benzoate de sodium a été utilisé par d'autres dans le traitement de certains troubles métaboliques néonataux. Les effets indésirables dûe au benzoate sur le comportement des enfants de 3 ans, qui sont détectables par les parents,mais pas par une simple évaluation clinique. <sup>(50)</sup>
- La dose journalière de benzoates totaux acceptable par l'OMS, calculée en tant qu'acide benzoïque, a été estimée à **5 mg / kg** . <sup>(50)</sup>

### 2.1.4.3. Acide sorbique :

#### Propriétés physico-chimiques :

L'acide sorbique est une poudre cristalline insipide, blanche à jaune-blanche, avec une légère odeur caractéristique.



**Figure 9:** Structure chimique de l'acide sorbique <sup>(52)</sup>

#### Applications en formulation pharmaceutique :

- L'acide sorbique est un conservateur antimicrobien à des propriétés **antibactériennes** et **antifongiques**, utilisé dans les préparations pharmaceutiques topiques (Ex: **LOCATOP<sup>®</sup>**; **crème**), orale solide (**TAHOR<sup>®</sup> 40**; **comprimé pelliculé**) entérales et les cosmétiques. <sup>(53)</sup>
- En règle générale, il est utilisé à des concentrations de **0,05 à 0,2%** dans les formulations pharmaceutiques orales et topiques, en particulier celles contenant des agents de surface non ioniques. L'acide sorbique est également utilisé avec les protéines, les enzymes, la gélatine et les gommes végétales.
- Il s'est avéré être un conservateur efficace des solutions de chlorhydrate de prométhazine à une concentration de **1 g / L**. <sup>(52)</sup>

#### Propriétés typiques :

**Activité antimicrobienne :** L'acide sorbique est principalement utilisé comme agent **antifongique**, bien qu'il possède également des propriétés **antibactériennes**.



L'activité antibactérienne optimale est obtenue à pH **4,5**; et pratiquement aucune activité n'est observée au-dessus de **pH 6**.

L'efficacité de l'acide sorbique est renforcée lorsqu'il est utilisé en association avec d'autres agents de conservation antimicrobiens ou des glycols en raison de l'effet synergique. <sup>(52)</sup>

### **Mécanisme d'action :**

L'acide sorbique agit au niveau de la membrane bactérienne. <sup>(15)</sup>

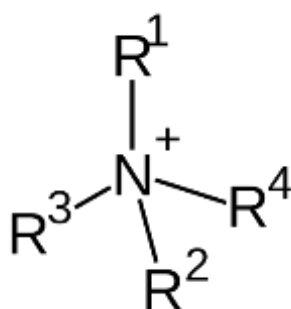
### **Sécurité :**

L'acide sorbique est utilisé comme conservateur antimicrobien dans les formulations pharmaceutiques orales et topiques et est généralement considéré comme un matériau **non toxique**. Les effets indésirables liés à l'acide sorbique et au sorbate de potassium, notamment des réactions cutanées irritantes et des réactions cutanées d'hypersensibilité (moins fréquentes). <sup>(52)</sup>

- ✓ Parmi les autres effets indésirables rapportés, on peut citer **la dermatite exfoliative** due à des pommades contenant de l'acide sorbique et la **conjonctivite allergique** provoquée par des solutions de lentilles de contact conservées avec de l'acide sorbique .
- ✓ Aucun effet indésirable n'a été décrit après l'administration systémique d'acide sorbique et il a été rapporté que celui-ci peut être ingéré sans danger par les patients allergiques à l'acide sorbique. Cependant, des cas d'**urticaire de contact péri-orale** ont été rapportés.
- ✓ L'OMS a fixé à environ **25 mg / kg** de poids vif l'acide sorbique, le sorbate de calcium, le sorbate de potassium et le sorbate de sodium, exprimés en acide sorbique. <sup>(52)</sup>

### **2.1.5. Les ammoniums quaternaires :**

Les sels d'ammoniums quaternaires sont des composés chimiques constitués en général d'un **atome d'azote** substitué par quatre groupements comportant entre 8 à 35 atomes de carbone, Ce sont des composés bipolaires, très hydrosolubles, ayant des propriétés **tensioactives** (surfactants).



**Figure 10 :** Structure chimique des ammoniums quaternaires

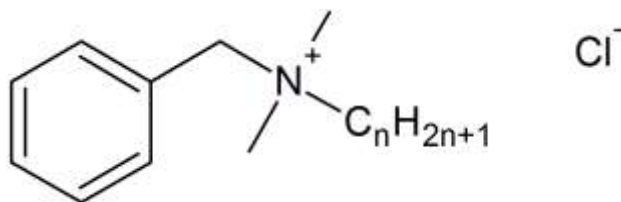
Parmi les ammoniums quaternaires les plus couramment utilisés nous citons :

#### 2.1.5.1. Chlorure de benzalkonium (BAC) :

C'est le dérivé le plus couramment utilisé des ammoniums quaternaires.

#### Propriétés physico-chimiques :

Le BAC peut se présenter sous forme d'une poudre amorphe, de paillettes gélatineuses ou de gel épais de couleur blanche à jaunâtre, très hygroscopique, d'odeur légèrement aromatique. Il est livré le plus souvent en solution aqueuse à 50 % ou en solution hydroalcoolique 80 % (isopropanol/eau ; parfois éthanol/eau), formes sous lesquelles il est produit par l'industrie <sup>(54)</sup>



**Figure 11:** Structure chimique de chlorure de benzalkonium <sup>(55)</sup>

Le BAC est un mélange de chlorure d'alkylbenzyltriméthylammonium de formule générale :  $C_6H_5CH_2 N(CH_3)_2 RCl$ , R représentant des radicaux alkyles de C8 à C18.

L'homologue BAC-C12 est appelé **le chlorure de benzododécinium**, l'homologue BAC-C14, **le chlorure de myristalkonium** et l'homologue BAC-C16, **le chlorure de cétalkonium**.

### **Applications en formulation pharmaceutique :**

- Le chlorure de benzalkonium est un composé d'ammonium quaternaire utilisé dans des formulations pharmaceutiques en tant que conservateur **antimicrobien** dans des applications similaires à d'autres surfactants cationiques, tels que **le cétrimide**.
- Dans les préparations **ophtalmiques**, le chlorure de benzalkonium est l'un des conservateurs les plus utilisés à une concentration de **0,01 à 0,02%** p / v. (Ex: **Siccafluid, collyre**)
- Dans les formulations nasales, et otiques, une concentration de 0,002 à 0,02% p / v est utilisée, parfois en association avec 0,002 à 0,005% de **thimérosal**.
- Le chlorure de benzalkonium à 0,01% p / v est utilisé comme agent de conservation dans les produits parentéraux en petites quantités. Il a été démontré que le chlorure de benzalkonium améliore la pénétration topique du **lorazépam**.<sup>(56)</sup>

### **Propriétés typiques :**

**L'acidité / l'alcalinité :** pH = 5-8 pour une solution aqueuse à 10% p / v.

**L'activité antimicrobienne :** le BAC est un agent tensioactif cationique **bactériostatique** faiblement fongistatique et virucide.

Les solutions de chlorure de benzalkonium sont actives contre un large spectre de bactéries, levures et champignons. L'activité est plus marquée contre les bactéries à **Gram positif** que les bactéries à Gram négatif.<sup>(57)</sup>

L'activité du BAC dépend de manière significative de la composition alkyle du mélange homologue.

Le BAC est inefficace contre certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Trichophyton interdigitale* et *T. rubrum*.

Le chlorure de benzalkonium est inactif contre les spores et les moisissures, mais il est actif contre certains virus, y compris le VIH. <sup>(55)</sup>

Chaque homologue dans cette famille de composés a différentes propriétés biocides, chimiques et physiques en relation avec la longueur de la chaîne alkyle, en général :

- L'homologue BAC-C12 est le plus efficace contre **les levures et champignons**.
- L'homologue BAC-C14 contre les bactéries **Gram positif**.
- L'homologue BAC-C16 contre les bactéries **Gram négatif**.

A l'heure actuelle, la composition précise du BAC utilisé dans les collyres n'est jamais précisée. Il s'agit d'un mélange de différentes formulations de BAC où deux composés dominant : les chaînes en C12 et celles en C14 <sup>(58)</sup>

#### **Applications en formulation pharmaceutique :**

- **Par voie cutanée**, le chlorure de benzalkonium est utilisé dans la prise en charge antiseptique des plaies. (**DERMOBACTER<sup>®</sup>, solution pour application cutanée**)
- **Par voie nasale**, il est utilisé dans la prise en charge de rhinopharyngites. (**Rhinofluimucil<sup>®</sup>, solution pour pulvérisation nasale**)
- De nombreux produits ophtalmiques ont été formulés avec du chlorure de benzalkonium à 0,01% p / v comme agent de conservation. (Exemple : **Naaxia<sup>®</sup> collyre**)

#### **Mécanisme d'action :**

Le BAC exerce son action antibactérienne grâce à plusieurs mécanismes. <sup>(38)</sup>

- Il est responsable de la dénaturation plus ou moins sélective des protéines ou des enzymes de la respiration et la glycolyse de la bactérie. par solubilisation et dépolymérisation.
- La fixation du BAC au niveau des ribosomes et entraîne l'arrêt de la synthèse protéique.
- Il peut lyser la membrane cellulaire provoquant une perturbation des échanges osmotiques <sup>(56)</sup>

### Sécurité :

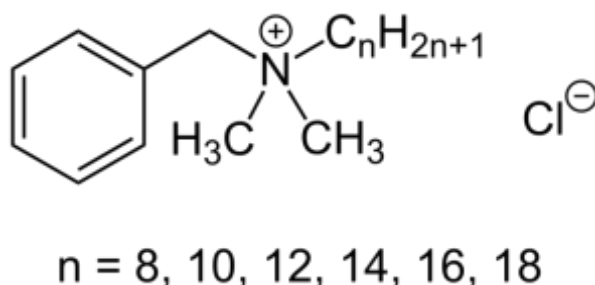
- Le BAC est généralement **non irritant, non sensibilisant** et est bien toléré dans les dilutions utilisées sur la peau et les muqueuses. Cependant, il a été associé à des effets indésirables lorsqu'il est utilisé dans certaines formulations pharmaceutiques. <sup>(55)</sup>
- L'ototoxicité peut survenir lorsque le BAC est appliqué sur l'oreille et qu'un contact prolongé avec la peau peut occasionnellement provoquer une irritation et une hypersensibilité.
- Le BAC est également connu pour provoquer une bronchoconstriction chez certains asthmatiques lorsqu'il est utilisé dans des solutions pour nébuliseur.
- Des expériences de toxicité menées sur des lapins ont montré que le BAC était nocif pour les yeux à des concentrations supérieures à celles utilisées habituellement comme agent de conservation.
- Le BAC ne convient pas comme agent de conservation dans les solutions de stockage et de lavage des lentilles de contact souples hydrophiles, car il peut se lier aux lentilles et, par la suite, produire une toxicité oculaire lorsque les lentilles sont usées.
- Une irritation locale de la gorge, de l'œsophage, de l'estomac et de l'intestin peut survenir après un contact avec des solutions fortes (> **0,1% p / v**).
- La dose orale mortelle de BAC chez l'homme est estimée à **1 à 3 g**.

### 2.1.5.2. Cétrimide :

#### Propriétés physico-chimiques :

Le cétrimide est une poudre blanche à blanc crème, fluide, à odeur faible mais caractéristique et un goût amer et savonneux. <sup>(60)</sup>

Ce sont des composés bipolaires, très hydrosolubles, ayant des propriétés **tensioactives** (surfactants).



**Figure 12:** Structure chimique de Cétrimide <sup>(59)</sup>

#### Applications en formulation pharmaceutique :

- ✓ Le cétrimide est un composé d'ammonium quaternaire utilisé dans les formulations pharmaceutiques et cosmétiques en tant que conservateur **antimicrobien**.
- ✓ Il peut être utilisé comme **tensioactif** cationique en collyre, à une concentration de **0,005%**.
- ✓ Sur le plan thérapeutique, le cétrimide est utilisé à des concentrations relativement élevées, généralement en solution aqueuse à **0,1–1,0% p/v**, en crème ou en aérosol comme antiseptique topique pour la peau, les brûlures et les plaies<sup>(59)</sup>.
- ✓ Le cétrimide est utilisé comme nettoyant et désinfectant pour les lentilles de contact rigides, bien qu'il ne devrait pas être utilisé sur les lentilles souples;

- ✓ Le cétrimide est utilisé dans les crèmes H / E en tant qu'ingrédient de cire émulsifiant <sup>(59-60)</sup>

### Propriétés typiques:

**Acidité / alcalinité** pH = 5,0 - 7,5 (solution aqueuse à 1% p / v)

**Activité antimicrobienne** : Le cétrimide a une bonne activité **bactéricide** contre les espèces à Gram **positif**, mais est moins actif contre les espèces à Gram négatif. Les espèces de *Pseudomonas*, en particulier *Pseudomonas aeruginosa*, peuvent présenter une résistance. <sup>(59)</sup>

- L'activité du cétrimide en présence d'alcools ou de l'ajout **d'acide édétique**, augmente considérablement contre les souches résistantes de *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus Niger* et *Candida albicans*.
- Le cétrimide a une activité antifongique variable, efficace contre certains virus ,et il est inactive contre les spores bactériennes. <sup>(59)</sup>
- Le cétrimide est particulièrement efficace a pH **neuter** ou légèrement alcalin, avec une activité sensiblement réduite en milieu acide et en présence de matières organiques.

### Mécanisme d'action :

Le cétrimide agit principalement par son activité **détergente** plus ou moins puissante, conduisant à la dissolution des parois et des membranes bactériennes, la destruction de la couche semi-perméable cytoplasmique et au relargage du contenu intracellulaire. <sup>(61)</sup>

### Sécurité :

- La plupart des effets indésirables rapportés ont trait à l'utilisation thérapeutique du cétrimide.
- En cas d'ingestion orale, le cétrimide et d'autres composés d'ammonium quaternaire peuvent provoquer des nausées, des vomissements, une paralysie musculaire, une dépression du

système nerveux central et une hypotension. Des solutions concentrées peuvent provoquer des **lésions** œsophagiennes et une nécrose.

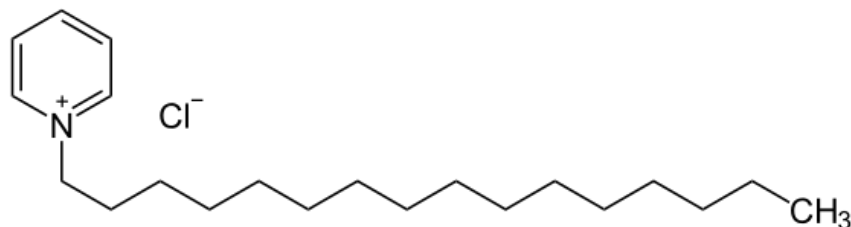
- Généralement les solutions utilisées localement, ne provoquent pas d'irritation, mais à des concentrations élevées pouvant déclencher une **irritation** cutanée ou des brûlures. <sup>(59-60)</sup>
- La dose mortelle administrée à l'homme par voie orale est estimée à **1–3 g**

### 2.1.5.3. Chlorure de cétypyridinium :

#### Propriétés physico-chimiques:

Le chlorure de cétypyridinium est une poudre blanche avec une odeur caractéristique. Il est légèrement savonneux au toucher.

C'est un composé bipolaire, très hydrosoluble, ayant des propriétés tensioactives.



**Figure 13:** Structure chimique de chlorure de cétypyridinium <sup>(62-63)</sup>

#### Applications en formulation pharmaceutique :

- ✓ Le chlorure de cétypyridinium est un surfactant cationique à base d'ammonium quaternaire, utilisé dans les formulations pharmaceutiques et cosmétiques comme conservateur antimicrobien.
- ✓ Il est utilisé à des fins thérapeutiques comme agent **antiseptique** seul ou en association avec d'autres médicaments pour le soin de la bouche et de la gorge et dans les formulations **non**



parentérales autorisées au Royaume-Uni et aussi utilisé dans des préparations **orales** et par **inhalation** à des concentrations de **0,02 à 1,5 mg** .

- ✓ Il a été démontré que les bains de bouche contenant du chlorure de cétylpyridinium inhibent la formation de plaque , bien que l'efficacité soit variable en raison du nombre limité des données publiées <sup>(62-63)</sup>
- ✓ Les applications du chlorure de cétylpyridinium sont similaires à celles d'autres surfactants cationiques tels que le cétrimide

### **Propriétés typiques :**

**Activité antibactérienne :** le cétylpyridinium est **bactéricide** pour les bactéries à **Gram positif** ; il est inefficace contre certaines bactéries à Gram négatif et certain nombre de bactéries buccales.

### **Mécanisme d'action:**

Il agit principalement par son activité **détergente** plus ou moins puissante, conduisant à la dissolution des parois et des membranes bactériennes, la destruction de la couche semi-perméable cytoplasmique et au relargage du contenu intracellulaire. <sup>(61)</sup>

### **Sécurité :**

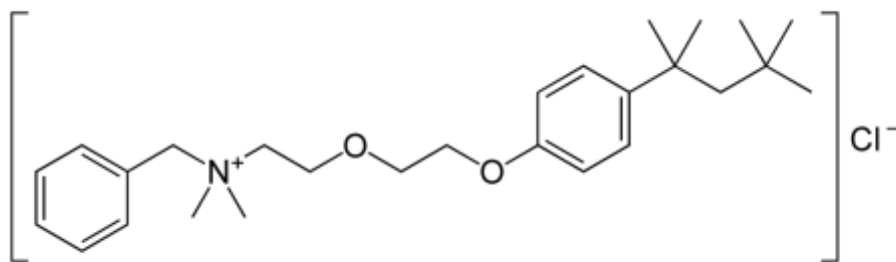
- Le chlorure de cétylpyridinium est largement utilisé dans les bains de bouche en tant **qu'antiseptique bactéricide**.
- Il est généralement considéré comme une substance relativement toxique en C 157 lorsqu'il est utilisé à une concentration de **0,05% p / v**, bien que des effets secondaires mineurs, tels que des sensations de brûlure sur la langue aient été rapportés.
- À des concentrations plus élevées, le chlorure de cétylpyridinium peut endommager les muqueuses de la bouche. Il est nocif en cas d'ingestion ou d'inhalation.
- Il peut provoquer une irritation des yeux, du système respiratoire et de la peau. <sup>(62)</sup>

#### 1.1.5.4. Chlorure de benzéthonium :

##### Propriétés physico-chimiques :

Le chlorure de benzéthonium se présente sous la forme d'un matériau cristallin blanc à odeur légère et au goût très amer.

Ce sont des composés bipolaires, très hydrosolubles, ayant des propriétés **tensioactives**.



**Figure 14:** Structure de chlorure de benzéthonium <sup>(64)</sup>

##### Applications en formulation pharmaceutique :

- Le chlorure de benzéthonium est un composé d'ammonium quaternaire utilisé dans les formulations pharmaceutiques en tant que conservateur **antimicrobien**. Typiquement, il est utilisé dans les injections, les préparations ophtalmiques et otiques à des concentrations de **0,01 à 0,02% p / v**.
- Le chlorure de benzéthonium peut être utilisé comme agent mouillant et solubilisant, ainsi que comme désinfectant topique.
- Les propriétés physiques et les applications du chlorure de benzéthonium sont similaires à celles d'autres surfactants cationiques tels que le cétrimide. <sup>(64-65)</sup>

### Propriétés typiques:

**Acidité / alcalinité** : pH = 4,8–5,5 pour une solution aqueuse à 1% p / v.

**Activité antimicrobienne** : Une activité antimicrobienne optimale se produit entre pH 4 et 10. L'efficacité de l'agent conservateur est renforcée par l'éthanol et réduite par les savons et autres agents de surface anioniques.

### Mécanisme d'action :

Il agit principalement par son activité **détergente** plus ou moins puissante, conduisant à la dissolution des parois et des membranes bactériennes, la destruction de la couche semi-perméable cytoplasmique et au relargage du contenu intracellulaire. <sup>(61)</sup>

### Sécurité :

- Le chlorure de benzéthonium est facilement absorbé et est généralement considéré comme une substance **toxique** lorsqu'il est administré par voie orale. L'ingestion peut provoquer des vomissements, un collapsus, des convulsions et un coma.
- La concentration maximale généralement utilisée dans les formulations pharmaceutiques telles que les **injections** et les préparations **ophtalmiques** est de **0,02%**. <sup>(64)</sup>
- La dose orale mortelle probable chez l'homme est estimée à **50–500 mg / kg** de poids corporel.

### 2.1.6. Mercuriels :

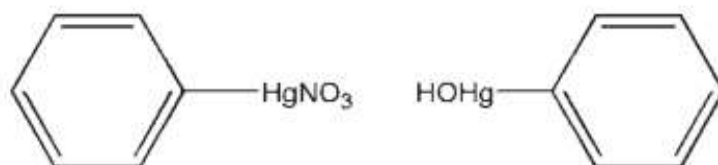
Ce sont les phénylmercures (acétate, borate ou nitrate) il sont efficaces grâce aux propriétés thioloprives de l'ion mercuriel.

Les dérivés mercuriels sont de moins en moins utilisés en thérapeutique. Compte tenu de leur absence d'un effet bactéricide, ils ont des indications très limitées.

#### 2.1.6.1. Nitrate de phénylmercurique :

##### Propriétés physico-chimiques :

Le nitrate phénylmercurique est un composé équimoléculaire d'hydroxyde phénylmercurique et de nitrate phénylmercurique ; il se présente sous la forme d'une poudre cristalline blanche avec une légère odeur aromatique. (selon PH EUR 6,0 et USP32 – NF27)



**Figure 15:** Nitrate de phénylmercurique <sup>(66)</sup>

##### Applications en formulation pharmaceutique :

- Les sels phénylmercuriques sont utilisés comme conservateurs **antimicrobiens** principalement dans les préparations pharmaceutiques ophtalmiques, parentéral et topique.

- Les sels phénylmercurique sont actifs dans une large gamme de pH contre les bactéries et les champignons et sont utilisés dans des solutions neutres à alcalines, bien qu'ils aient été utilisés efficacement à pH légèrement acide.
- Dans les formulations **acides**, le nitrate phénylmercurique peut être préféré à l'acétate phénylmercurique ou au borate phénylmercurique car il ne précipite pas.
- Le nitrate de phénylmercure est un **spermicide** efficace, bien que son utilisation dans les contraceptifs vaginaux ne soit plus recommandée
- Certain nombre de réactions indésirables aux sels phénylmercuriques ont été rapportées et des préoccupations concernant la toxicité des composés du mercure peuvent empêcher leurs utilisation dans certaines circonstances. <sup>(66)</sup>

#### Propriétés typiques :

- **Activité antimicrobienne:** Les sels phénylmercuriques sont des agents **bactériostatiques** à large spectre aux concentrations normalement utilisées pour la conservation des produits pharmaceutiques. Ils possèdent une activité **bactéricide** et **fongicide** lente.
- L'activité antimicrobienne tend à augmenter avec l'augmentation du pH, bien que l'activité contre *Pseudomonas aeruginosa* ait été démontrée dans les solutions de pH inférieur ou égal à **6**.
- Les sels phénylmercuriques sont inclus dans plusieurs formulations de gouttes ophtalmiques du pH acide.
- L'activité est augmentée en présence **d'alcool phényléthylique** et en présence de **métabisulfite de sodium** à pH acide. Mais elle est diminuée en présence de **métabisulfite de sodium** à pH **alcalin**

- Lorsqu'il est utilisé comme agent de conservation dans les crèmes topiques, les sels phénylmercuriques sont actifs aux pH 5-8. <sup>(66)</sup>
- **Bactéries (Gram-négatif):** L'activité inhibitrice contre la plupart des bactéries Gram- est similaire à celle des bactéries Gram+.
- **Champignons:** La plupart des champignons sont inhibés par une concentration de **0,3 à 1 mg/ml**; les sels phénylmercuriques présentent à la fois une activité **fongistatique** et **fongicide**; par exemple:
  - Pour l'acétate phénylmercurique contre **Candida albicans**, la CMI est de 0,8 mg / ml; et pour **Aspergillus niger**, la CMI est d'environ 1mg / ml.
- **Spores:** Les sels phénylmercuriques peuvent être actifs en conjonction avec la chaleur. (Le BP 1980 comprenait un chauffage à 100 ° C pendant 30 minutes en présence d'acétate de phénylmercurique à 0,002% p/v ou de nitrate de phénylmercurique en tant que méthode de stérilisation. Cependant, dans la pratique, cela pourrait ne pas suffire pour tuer les spores et le chauffage par un bactéricide n'apparaît plus comme méthode de stérilisation dans le test BP 2009). <sup>(66)</sup>

### Mécanisme d'action :

Les mercuriels ont deux cibles d'action : la paroi et la membrane bactériennes. <sup>(14-15)</sup>

### Sécurité :

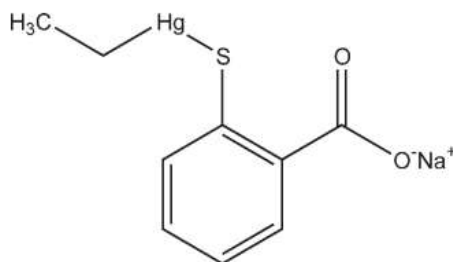
- Le nitrate phénylmercurique et d'autres sels phénylmercuriques ont été largement utilisés en tant que conservateurs antimicrobiens dans les formulations pharmaceutiques à usage **parentéral** et **topique**.
- Les sels phénylmercuriques sont irritants pour la peau à une concentration de **0,1% m/m** dans la vaseline.
- En solution, ils peuvent provoquer un **érythème** et des **cloques** 6 à 12 heures après l'administration.

- Les gouttes oculaires contenant du nitrate phénylmercurique comme agent de conservation ne doivent pas être utilisées de façon continue pendant une période prolongée, car le mercure peut provoquer une pigmentation brune de la capsule antérieure du cristallin.
- L'incidence est de 6% chez les patients utilisant des gouttes ophtalmiques pendant plus de 6 ans; toutefois, cet état n'est pas associé à une déficience visuelle. Des cas de **kératopathie atypique** à bande ont été attribués à un agent de conservation au nitrate phénylmercurique dans des gouttes pour les yeux. <sup>(66)</sup>
- Le nitrate phénylmercurique ne devrait pas être utilisé dans les formulations intravaginales à cause de la l'absorption de mercure par le vagin, qui est nocive <sup>(66)</sup>.

#### 2.1.6.2. Thimérosal :

##### Propriétés physico-chimiques :

Le thimérosal est une poudre cristalline de couleur crème claire avec une légère odeur caractéristique.



**Figure 16:** Structure chimique de thimérosal <sup>(67)</sup>

##### Applications en formulation pharmaceutique :

- Le thimérosal est utilisé comme conservateur **antimicrobien** dans les préparations biologiques et pharmaceutiques depuis les années 1930

- Il est utilisé comme alternative au **chlorure de benzalkonium** et à d'autres conservateurs.
- Phénylmercuriques et possède une activité **bactériostatique** et **fongistatique**.
- Sur le plan thérapeutique, le thimérosal est parfois utilisé comme antiseptique mercuriel bactériostatique et fongistatique, qui est généralement appliqué par voie topique à une concentration de 0,1% p / p <sup>(2)</sup>. Cependant, son utilisation diminue en raison de sa toxicité et de ses effets sur l'environnement. <sup>(67)</sup>
- Des études plus récentes évaluant l'innocuité du thimérosal dans les **vaccins** ont toutefois suggéré que le risque relatif de lésions neurologiques chez les nourrissons est négligeable compte tenu des quantités de thimérosal présentes dans les vaccins. En Europe et aux États-Unis, des organismes ont donc mis à jour leurs conseils sur l'utilisation du thimérosal dans les vaccins en indiquant qu'il serait souhaitable que le thimérosal ne soit pas inclus dans les vaccins et autres formulations, les avantages des vaccins l'emportent de loin sur les risques d'effets indésirables associés aux médicaments. <sup>(67)</sup>

### **Propriétés typiques :**

**Acidité / alcalinité** pH = 6,7 pour une solution aqueuse à 1% p / v à 20 ° C.

**Activité antimicrobienne :** Le thimérosal est un agent **bactéricide** à pH acide, **bactériostatique** et **fongistatique** à pH alcalin ou neutre. Le thimérosal n'est pas efficace contre les spores. <sup>(67)</sup>

### **Mécanisme d'action :**

Bien que son mécanisme d'action ne soit pas entièrement compris,

- Le thimérosal **inhibe** les sites actifs contenant les composés sulfhydryles (les groupes glutathion, cystéine et sulfhydryle des protéines,).
- Le thimérosal peut inhiber diverses fonctions cellulaires dépendant de la signalisation du calcium (il active le canal calcique InsP3 sur la membrane réticulaire



endoplasmique, déclenchant la libération de calcium intracellulaire, ce qui entraîne un afflux de calcium extracellulaire induit par le calcium.

### **Sécurité:**

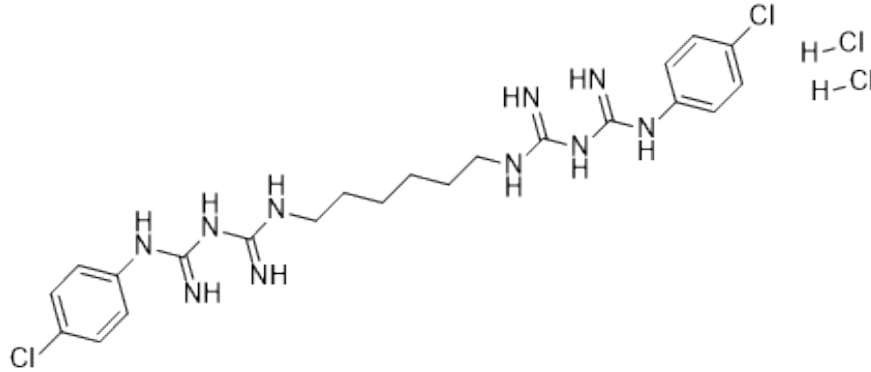
- Le thimérosal est largement utilisé comme conservateur antimicrobien dans les formulations pharmaceutiques **parentérales** et **topiques**, leur utilisation dans les produits pharmaceutiques suscite de plus en plus d'inquiétudes, grâce à une prise de conscience accrue de la toxicité du **mercure** et d'autres composés du mercure associés. <sup>(67)</sup>
- Le nombre croissant de déclarations d'effets indésirables, en particulier d'hypersensibilité, au thimérosal et des doutes quant à son efficacité en tant qu'agent de conservation ont conduit à suggérer qu'il ne soit pas utilisé comme agent de conservation dans les **collyres** ou les **vaccins**. En Europe et aux États-Unis, des organismes de réglementation ont recommandé d'éliminer progressivement le thimérosal dans les vaccins. <sup>(67)</sup>
- La réaction indésirable au thimérosal la plus fréquemment rapportée, en particulier chez les vaccins est une hypersensibilité, généralement associée à un érythème et à des éruptions papuleuses ou vésiculaires. Bien que tous les patients sensibles au thimérosal ne développent pas d'effets indésirables avec les vaccins contenant du thimérosal, il existe un risque potentiel.
- Des effets indésirables graves et certains décès ont été rapportés après l'utilisation parentérale et topique de produits contenant du thimérosal. <sup>(67)</sup>.

### **2.1.7. Biguanide «chlorhexidine» :**

#### **Propriétés physico-chimiques :**

La chlorhexidine se présente sous forme d'une poudre cristalline blanche, inodore et au goût amer.

Elle se présente généralement sous forme d'acétate, de gluconate ou de chlorhydrate et un certain nombre de pharmacopées contiennent des monographies relatives à ces substances.



**Figure 17:** Structure chimique de chlorhexidine <sup>(68)</sup>

#### Applications en formulation pharmaceutique :

- Les sels de chlorhexidine sont largement utilisés dans les formulations pharmaceutiques en Europe et au Japon pour leurs propriétés antimicrobiennes. Bien qu'ils soient principalement utilisés comme **désinfectants**, les sels de chlorhexidine sont également utilisés comme **conservateurs antimicrobiens**.
- En tant qu'excipients, les sels de chlorhexidine sont principalement utilisés pour la conservation des gouttes oculaires à une concentration de 0,01% p / v; généralement, le sel d'acétate ou de gluconate est utilisé à cette fin. Des solutions contenant du gluconate de chlorhexidine à 0,002-0,006% p / v ont également été utilisées pour la désinfection des lentilles de contact hydrophiles.
- Pour la désinfection de la peau, la chlorhexidine a été formulée sous forme de solution (Ex: **Isoméline<sup>®</sup> 2%**), conjointement avec des détergents, comme gommage chirurgical à 4% p /v. Les sels de chlorhexidine peuvent également être utilisés dans les crèmes antiseptiques topiques, les bains de bouche, les gels dentaires et en urologie pour la stérilisation par cathéter et l'irrigation de la vessie.

- Les sels de chlorhexidine ont également été utilisés comme composants de pansements médicamenteux, de poudres à saupoudrer, de sprays et de crèmes. <sup>(68)</sup>

### Propriétés typiques :

L'activité antimicrobienne optimale se produit à un pH de 5–7. Au-dessus de pH 8, la base de chlorhexidine peut précipiter à partir de solutions aqueuses.

**Activité antimicrobienne :** La chlorhexidine et ses sels présentent une activité antimicrobienne contre les bactéries à Gram + et Gram - .

**Bactéries à Gram positif :** Les sels de chlorhexidine sont actifs contre la plupart des espèces. la concentration minimale inhibitrice (CMI) est comprise entre **1- 10 mg / mL**, bien que des concentrations beaucoup plus élevées soient nécessaires pour *Streptococcus faecalis*.

**Bactéries à Gram négatif :** Les sels de chlorhexidine sont moins actifs contre les espèces Gram négatives. Les CMI typiques vont de **1 à 15 mg / mL**, mais *Pseudomonas aeruginosa*, peuvent être plus résistants.

- Des combinaisons d'acétate de chlorhexidine avec les substances suivantes ont montré une activité supérieure à celle d'additif vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*: chlorure de benzalkonium; l'alcool benzylique; le bronopol; acide édétique; phényléthanol et phénylpropanol.

A faibles concentrations normalement utilisées pour la conservation et l'antisepsie, les sels de chlorhexidine sont rapidement bactéricides. Cependant, les espèces de *Proteus* et de *Pseudomonas* sont moins sensibles à la chlorhexidine, qui est également inactive contre les bacilles acido-résistants, les spores bactériennes et certains champignons.

Les sels de chlorhexidine sont efficaces contre certains virus lipophiles tels que *l'adénovirus*, le virus de *l'herpès* et le virus de la *grippe*.

**Champignons :** Les sels de chlorhexidine sont lentement actifs contre les moisissures et les levures, bien qu'ils aient généralement une activité inhibitrice moins efficace contre les champignons que contre les bactéries.

**Spores :** Les sels de chlorhexidine sont inactifs contre les spores à la température ambiante normale. <sup>(68)</sup>

#### **Mécanisme d'action :**

La chlorhexidine agit en détruisant la couche semi-perméable des membranes cytoplasmiques. Elle inhibe le transport transmembranaire des cations ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) et l'hydrolyse de l'ATP membranaire.

- **À faible concentration :** Elle induit une perte des constituants cytoplasmiques par désorganisation de la bicouche lipidique
- **À forte concentration :** Elle agit par précipitation des protéines et des acides nucléiques après pénétration dans la cellule bactérienne.

#### **Sécurité :**

- La chlorhexidine et ses sels sont largement utilisés, comme désinfectants topiques, en tant qu'excipients. Ces sels sont principalement utilisés comme conservateurs antimicrobiens dans les formulations **ophtalmiques**. <sup>(68)</sup>
- Les études chez l'animal suggèrent que la toxicité orale aiguë de la chlorhexidine est faible, avec une absorption faible ou nulle par le tractus gastro-intestinal.
- Cependant, les humains aient consommé jusqu'à **2 g** de chlorhexidine par jour pendant une semaine, sans symptômes indésirables, la chlorhexidine n'est généralement pas utilisée comme excipient dans les formulations ingérées par voie orale.

- Des rapports ont suggéré que la consommation orale de la chlorhexidine pourrait avoir certains effets systémiques chez l'homme . De même, leur application topique a montré une très faible absorption percutanée.
- Des réactions d'hypersensibilité sévères, notamment un choc anaphylactique, ont été rapportées après l'administration topique de chlorhexidine , bien que ces cas soient rares étant donné l'utilisation intensive de la chlorhexidine et de ses sels.
- Dans les préparations ophtalmiques, se produit une irritation de la conjonctive avec des solutions de chlorhexidine d'une concentration **supérieure à 0,1% p/v**. Un contact accidentel des yeux des solution de gluconate de chlorhexidine à 4% p/v peut provoquer des lésions de la cornée.
- La concentration aqueuse de chlorhexidine normalement recommandée pour le contact avec les surfaces muqueuses est de **0,05% p/v**. À cette concentration, il n'y a pas d'effet irritant sur les tissus mous, ni de guérison retardée. Le sel de gluconate (1% p/v) est fréquemment utilisé dans les **crèmes**, les **lotions** et les **solutions désinfectantes**.
- L'instillation directe de chlorhexidine dans l'oreille moyenne peut entraîner une ototoxicité. Lorsqu'elle est utilisée dans des préparations dentaires, des taches sur les dents et des lésions buccales peuvent survenir <sup>(68)</sup>.
- L'utilisation de chlorhexidine sur le cerveau ou les méninges est extrêmement dangereuse. <sup>(68)</sup>

## 2.2. LES CONSERVATEURS ANTIOXYDANTS :

### 2.2.1. Acide citrique :

#### Propriétés physico-chimiques :

Sous sa forme anhydre, l'acide citrique est composé de cristaux incolores alors que sous sa forme monohydratée, les cristaux sont blancs sans odeur et ont un goût acide fort. La structure cristalline est orthorhombique.

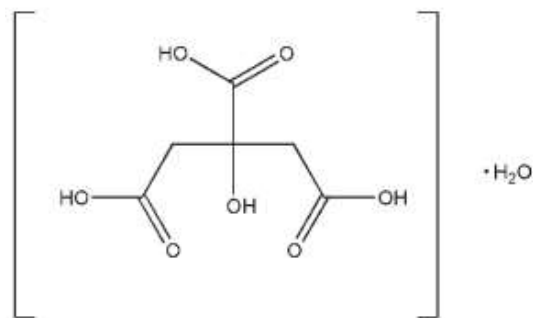


Figure 18: Structure chimique de l'acide citrique <sup>(69)</sup>

#### Applications en formulation pharmaceutique :

- L'acide citrique (monohydrate ou anhydre) est largement utilisé dans les formulations pharmaceutiques, principalement pour ajuster le pH des solutions.
- L'acide citrique **monohydraté** est utilisé dans la préparation des **granulés effervescents**; alors que l'acide citrique **anhydre** est communément utilisé dans la préparation des **comprimés effervescents** (Ex : **Calcibronat<sup>®</sup> 2g ; comprimés effervescents**)
- Il a également été utilisé expérimentalement pour ajuster le pH des matrices des comprimés dans des formulations à enrobage entérique pour l'administration de médicaments spécifiques du colon.

- L'acide citrique améliore la stabilité de la poudre d'insuline séchée par pulvérisation dans les préparations pour inhalation. <sup>(69)</sup>
- L'acide citrique monohydraté est utilisé comme agent **séquestrant** et **synergiste** antioxydant, c'est également un composant des solutions anticoagulantes de citrate.
- Sur le plan thérapeutique, des préparations contenant de l'acide citrique ont été utilisées pour dissoudre les calculs rénaux.

### Propriétés typiques :

**Acidité / alcalinité** pH = 2,2 (solution aqueuse à 1% p / v)

### Mécanisme d'action :

L'acide citrique est un agent **chélatant puissant** des métaux, spécifiquement **le calcium** et réduire leur biodisponibilité dans l'intestin.

### Sécurité :

- Sur la base de plusieurs études toxicologiques réalisées chez l'animal, l'acide citrique n'est pas suspecté d'être **ni cancérigène ni reprotoxique ni tératogène**. Dans des études plus générales, après administrations répétées par voie orale, les effets toxiques majeurs se limitent à des changements dans la formulation sanguine et à une modification de la cinétique d'absorption / excrétion des métaux.
- L'acide citrique est un agent **chélatant puissant** et il a été démontré qu'il peut réduire la biodisponibilité du fer et du calcium
- L'acide citrique et les citrates améliorent également l'absorption intestinale de **l'aluminium** chez les patients insuffisants rénaux, ce qui peut entraîner une augmentation des concentrations nocives d'aluminium sérique. Il a donc été suggéré de ne pas prescrire d'acide citrique ou de produits contenant du citrate aux patients insuffisants rénaux prenant des composés d'aluminium pour contrôler l'absorption du phosphate <sup>(69)</sup>.

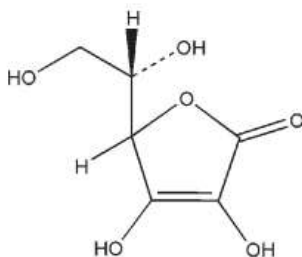
- L'érosion des dents par la dissolution de l'émail due à l'effet acide citrique contenu dans les solutions aqueuses (ex: soda) a été signalée comme une conséquence possible de la surexposition à long terme à l'acide citrique
- De plus, l'acide citrique n'a pas montré de caractère génotoxique que ce soit après des études in vitro ou in vivo.
- L'apport quotidien maximal atteint un taux de **2-25 g**.

### 2.2.2. Acide ascorbique :

L'acide ascorbique ou la vitamine C, est l'antioxydant hydrophile le plus puissant en terme de réactivité avec une cinétique d'oxydation des plus rapides.

#### Propriétés physico-chimiques :

L'acide ascorbique est un composé cristallisé, une poudre blanche, inodore et de saveur acide. Il est stable à l'état anhydre (sous forme réduite), à l'abri de l'humidité, de la lumière et s'assombrit progressivement lorsqu'il est exposé à celle-ci. La Vitamine C est très hydrosoluble, peu soluble dans l'alcool et les polyols et insoluble dans l'éther et le chloroforme (Munnich et al. 1987).



**Figure 19:** Structure chimique de l'acide ascorbique <sup>(70)</sup>



Il s'oxyde de façon réversible en acide déhydro-L-ascorbique (DHA). La forme réduite et la forme oxydée sont **en équilibre** avec une forme radicalaire instable, le radical ascorbyle. L'agent oxydant habituel est l'oxygène dont l'activité est catalysée par des traces de métaux comme le cuivre et le fer.

### **Applications en formulation pharmaceutique :**

- L'acide ascorbique est utilisé en tant qu'antioxydant dans les formulations pharmaceutiques aqueuses à une concentration de 0,01 à 0,1% p / v.
- Il existe maintenant un certain nombre de formulations topiques contenant de l'acide ascorbique et ses dérivés qui induisent la synthèse du collagène, renforcent les tissus cutanés, réduisent la perte de pigmentation et améliorent la croissance et la santé. <sup>(71)</sup>
- L'acide ascorbique a été utilisé pour ajuster le pH de solutions injectables et comme adjuvant pour les liquides oraux.
- Il est utilisé en tant qu'antioxydant en **ophtalmologie** (Ex: **Rifamycine Chibret, collyre**).
- L'acide ascorbique s'est également révélé utile en tant qu'agent stabilisant dans les micelles mixtes contenant du tétrazépam. <sup>(72)</sup>

### **Mécanisme d'action :**

L'effet antioxydant de l'acide ascorbique peut être direct par neutralisation des radicaux libres ou indirect par régénération de l'activité antioxydante des tocophérols (vitamine E).

### **Sécurité :**

- Les besoins en vitamine C diffèrent d'un individu à l'autre, néanmoins il est recommandé un apport journalier de **60-100 mg** pour un adulte. A des fortes doses peuvent provoquer une diarrhée ou d'autres troubles gastro-intestinaux. <sup>(73)</sup>

- Des dommages aux dents ont été signalés. Cependant, aucun effet indésirable n'a été signalé aux niveaux employés en tant qu'antioxydant dans les aliments, les boissons, et les produits pharmaceutiques.

L'acide ascorbique étant très instable, il est difficile à formuler dans certains produits pharmaceutiques et cosmétiques. En effet, il est sensible à la lumière, température élevée, pH élevé, présence d'oxygène dissous.

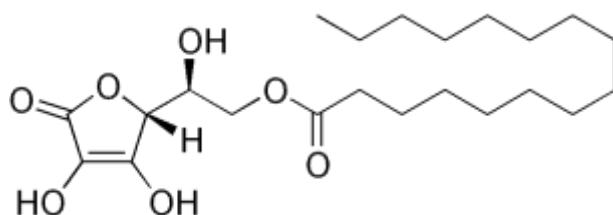
Pour remédier à ce problème, des dérivés de l'acide ascorbique sont utilisés dans les formulations. L'acide ascorbique a été chimiquement modifié par estérification du groupe hydroxyle avec une longue chaîne organique ou un acide inorganique. Trois dérivés sont largement utilisés dans les formulations topiques : le palmitate d'ascorbyle, le phosphate d'ascorbyle de sodium et le phosphate d'ascorbyle de magnésium.

### 2.2.3. Palmitate d'ascorbyle :

Le palmitate d'ascorbyle est un ester d'acide ascorbique et d'acide palmitique permettant à la vitamine C d'être liposoluble.

#### Propriétés physico-chimiques :

Le palmitate d'ascorbyle est une poudre inodore, blanche à jaunâtre



**Figure 20:** Structure chimique de palmitate d'ascorbyle <sup>(74)</sup>

## Applications en formulation pharmaceutique :

- Le palmitate d'ascorbyle est principalement utilisé seul ou en association avec **l'alpha-tocophérol** comme stabilisant pour les huiles pharmaceutiques orales, formulations et les produits alimentaires; on utilise à une teneur de **0,05% p/v**.
- La combinaison de palmitate d'ascorbyle avec l'alpha-tocophérol montre une synergie marquée qui augmente l'effet des composants et permet la quantité utilisée être réduit.
- En peut également être utilisé palmitate d'ascorbyle dans les préparations orales et topiques comme antioxydant pour les médicaments instables en oxygène.
- La solubilité du palmitate d'ascorbyle dans l'alcool permet d'être utilisé dans les émulsion et les systèmes aqueux et non aqueux. <sup>(74)</sup>
- Grâce à son caractère lipophile, le palmitate d'ascorbyle pénètre plus facilement la peau possède deux utilisations à des concentrations de **0.05 - 0.01%** il est utilisé comme antioxydant pour stabiliser la formulation; et à des concentrations de **1-2%**, il est utilisé comme agent actif .

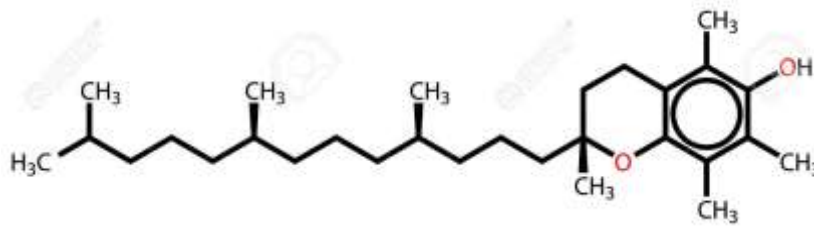
## Sécurité :

- Le palmitate d'ascorbyle est généralement considéré comme un produit essentiellement **non toxique et non irritant**.
- L'OMS a fixé une estimation acceptable dose journalière de palmitate d'ascorbyle jusqu'à **1,25 mg / kg** de poids corporel <sup>(74)</sup>

### 2.2.3. Alpha-Tocophérol :

#### Propriétés physico-chimiques :

L'alpha tocophérol (c'est l'un des composants de la **vitamine E**) est un produit naturel qui présente, à température ambiante, sous la forme d'une huile visqueuse de coloration jaune pâle. Il est insoluble dans l'eau, très soluble dans les graisses, les huiles et les solvants organiques.



**Figure 21:** Structure chimique de l' $\alpha$ -tocopherol <sup>(75)</sup>

### Applications en formulation pharmaceutique :

- L' $\alpha$ -tocopherol est un composé hautement lipophile et est un excellent solvant pour de nombreux médicaments peu solubles.
- L'efficacité antioxydante peut être augmenté par l'ajout de synergistes solubles dans l'huile tels que **la lécithine** et **le palmitate d'ascorbyle**.
- De nombreux médicaments possèdent l' $\alpha$ -tocopherol comme principe actif permettant une action locale bénéfique à l'organisme. (Exemple : **cicatryl<sup>®</sup> crème**)
- L' $\alpha$ -tocopherol est considéré comme un antioxydant de référence servant d'étalon pour les nouvelles molécules que l'on souhaite évaluer comme antioxydants

### Mécanisme d'action :

L' $\alpha$ -tocopherol agit contre les espèces réactives de l'oxygène et plus particulièrement dans l'inhibition de la **peroxydation lipidique**.

### Sécurité :

- Les tocophérols sont présents dans de nombreuses substances alimentaires consommées dans le cadre d'un régime alimentaire normal.
- L'utilisation de tocophérols comme antioxydants dans les produits pharmaceutiques et produits alimentaires ne devrait présenter aucun risque pour la santé humaine.
- Les tocophérols sont bien tolérés, bien que l'absorption orale soit excessive peut causer des maux de tête, une fatigue, une faiblesse, des troubles digestifs et des

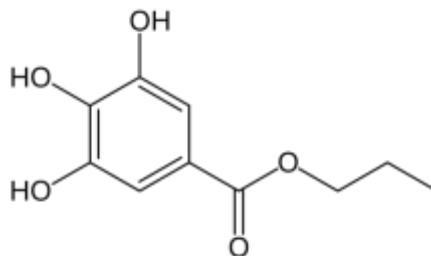
nausées. Un contact prolongé et intensif avec la peau peut provoquer un érythème et une dermatite de contact.

- Les personnes ayant une carence en vitamine E sont généralement traitées par administration orale de tocophérols, bien que l'administration intramusculaire et intraveineuse peuvent parfois être utilisées.
- L'OMS a fixé une dose journalière acceptable de tocophérol utilisé en tant qu'antioxydant à raison de **0,15 à 2,0 mg / kg** de poids corporel. <sup>(75)</sup>

### 2.2.5. Gallate de propyle :

#### Propriétés physico-chimiques :

Le gallate de propyle est un cristallin blanc, inodore ou presque inodore poudre, au goût amer et astringent normalement imperceptible aux concentrations utilisées en tant qu'antioxydant.



**Figure 22:** Structure chimique de gallate de propyle <sup>(76)</sup>

#### Applications en formulation pharmaceutique :

- Le gallate de propyle a été largement utilisé comme antioxydant dans les cosmétiques, parfums, aliments et produits pharmaceutiques depuis que son utilisation en prévention de l'oxydation des huiles a été décrite pour la première fois en 1943. <sup>(76)</sup>
- Principalement utilisé, à des concentrations allant jusqu'à **0,1% p / v**, pour prévenir la rancidité des huiles et des graisses ; il peut également être utilisé à des concentrations

de **0,002% p/v** pour empêcher la formation de peroxyde dans l'éther et à **0,01% w/v** pour empêcher l'oxydation du paraldéhyde.

- Le propyl gallate peut être utilisé seul, mais il est souvent utilisé dans un mélange d'antioxydants phénoliques **synergiques (BHA, BHT)**
- Le propyl gallate stabilise la molécule de l'amphotéricine-B (**fungizone<sup>®</sup>,suspension buvable.**) contre l'autodégradation afin de prolonger l'activité antifongique vis-à-vis de *C. albicans* <sup>(77)</sup>

### Propriétés typiques :

- **Acidité / alcalinité :** pH = 5,9 (solution aqueuse à 0,1% p / v)
- **Activité antimicrobienne:** Il a été rapporté que le gallate de propyle possède une activité antimicrobienne contre Gram négatif, Gram positif, antiviral et antifongique. <sup>(76)</sup>

Son efficacité en tant que conservateur peut être améliorée lorsqu'il est utilisé en association avec **les sels du zinc** (tels que le sulfate de zinc), en raison d'effets synergiques.

### Mécanisme d'action :

- Le gallate de propyle est un capteur de radicaux libres, utilisé pour prévenir la peroxydation des lipides et inhiber l'accumulation de radicaux libres nocifs.
- Le gallate de propyle inhibé la respiration et la synthèse des polymères cellulaires généraux, de l'ARN, de l'ADN et des protéines. <sup>(78)</sup>

### Sécurité :

- Le gallate de propyle est généralement considéré comme **non irritant ni** pour la peau, ni pour les yeux.
- Le gallate de propyle n'a pas eu d'effets toxiques significatifs lorsqu'il a été ingéré.
- L'OMS a fixé une dose journalière acceptable estimée pour gallate de propyle jusqu'à **1,4 mg / kg** de poids corporel <sup>(76)</sup>.

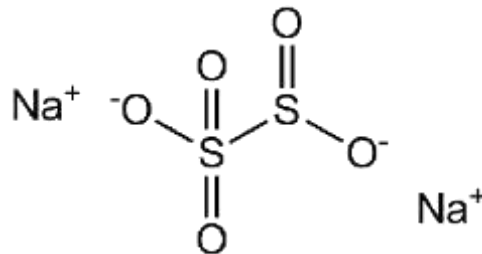
## 2.2.6. Sulfites :

### 2.2.6.1. Métabisulfite de sodium :

#### Propriétés physico-chimiques :

Le métabisulfite de sodium se présente sous forme de cristaux incolores ou poudre blanche à odeur de soufre ; goût acide et salin ; s'oxyde lentement en sulfate lors de l'exposition à l'air et à l'humidité.

Le métabisulfite est moins hygroscopique et **plus stable** que le **bisulfite**.



**Figure 23:** Structure chimique de métabisulfite de sodium <sup>(79)</sup>

#### Applications en formulation pharmaceutique :

- Le métabisulfite de sodium est utilisé comme antioxydant dans le traitement oral, parentéral, et dans préparations pharmaceutiques topiques, à des concentrations de **0,01 à 1,0%** en poids / volume et à une concentration d'environ **27%** en poids / volume dans les préparations d'injection intramusculaire.
- Le métabisulfite de sodium est principalement utilisé dans les préparations acides; pour les préparations alcalines, le sulfite de sodium est généralement préféré. métabisulfite de sodium a également une certaine activité **antimicrobienne**, qui est la plus grande à pH acide, et peut être utilisé comme conservateur dans les préparations orales comme **les sirops**, les solutions auriculaires (**OTOFA®**; **solution auriculaire en gouttes**)

- Dans l'industrie alimentaire et dans la production de vin, le métabisulfite de sodium est également utilisé comme antioxydant, conservateur antimicrobien et agent anti-rouille. Cependant, à des concentrations supérieures à environ **550 ppm**, il confère aux préparations un goût prononcé. <sup>(79)</sup>

### **Sécurité :**

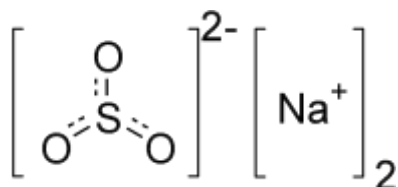
- Le métabisulfite de sodium est largement utilisé comme **antioxydant** par voie orale, dans les formulations pharmaceutiques topiques et parentérales; et il est aussi largement utilisé dans les produits alimentaires.
- Le métabisulfite de sodium et d'autres sulfites ont été associés à un nombre de réactions indésirables généralement des réactions de type hypersensibilité et incluent le **bronchospasme** et l'**anaphylaxie**.
- On pense que l'allergie aux antioxydants sulfiteux se produit chez 5 à 10% des asthmatiques, bien que des effets indésirables puissent également survenir chez les non-asthmatiques sans antécédents d'allergie.
- Après ingestion orale, le métabisulfite de sodium est oxydé en sulfate et est excrété dans l'urine. L'ingestion peut provoquer une irritation de l'estomac, du fait de la libération d'acide sulfureux, tandis que l'ingestion métabisulfite de sodium peut provoquer des coliques, de la diarrhée, des troubles circulatoires, une dépression du SNC.
- L'OMS a de fixer un apport quotidien acceptable de métabisulfite de sodium, et d'autres sulfites, jusqu'à **7,0 mg / kg** de poids corporel calculé en dioxyde de soufre (SO<sub>2</sub>). <sup>(79)</sup>

### **2.2.6.2. Sulfite de sodium :**

#### **Propriétés physico-chimiques :**

Le sulfite de sodium se présente sous forme de poudre blanche inodore.





**Figure 24:** Structure chimique de sulfite de sodium <sup>(80)</sup>

### Applications en formulation pharmaceutique :

- Le sulfite de sodium est utilisé comme antioxydant dans des applications similaires à **métabisulfite de sodium**. <sup>(80)</sup>
- Le sulfite de sodium est utilisé dans les cosmétiques, les produits alimentaires et les applications pharmaceutiques telles que les formulations parentérales (**Voltaren<sup>®</sup> ;injectable 75 mg**), les inhalations, les formulations orales, et les préparations topiques. (**KETODERM<sup>®</sup> ;crème**)

### Sécurité :

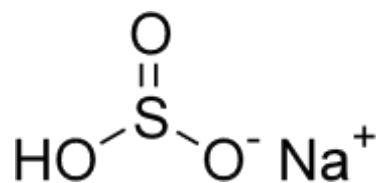
- Le sulfite de sodium est largement utilisé dans les domaines pharmaceutique et alimentaire en tant qu'antioxydant. Il est généralement considéré comme **non toxique** et **non irritant** lorsqu'il est utilisé comme **excipient**.
- La dose journalière acceptable pour le sulfite de sodium a fixé à **350 mg / kg de poids corporel par jour**. <sup>(80)</sup>

### 2.2.6.3. Bisulfite de sodium :

#### Propriétés physico-chimiques :

Le bisulfite de sodium se présente sous forme d'une poudre cristalline blanche, d'une légère odeur de soufre.

Le bisulfite de sodium ne soit pas un article officiel dans **USP** ou **NF**, il est répertorié dans la section excipients de NF et dans la section réactive d'USP, où il indique l'utilisation du **métabisulfite de sodium** de qualité réactif pour le bisulfite de sodium. <sup>(81)</sup>



**Figure 25:** Structure de bisulfite de sodium <sup>(82)</sup>

### Sécurité :

- Les agents sulfatants ont été identifiés récemment comme additifs à l'alimentation et aux médicaments responsables des réactions indésirables. Ces réactions ne sont pas rares et peuvent causer **un asthme** et **une anaphylaxie** menaçant la vie. <sup>(75)</sup>

- **Preuves de la non cancérogénicité:**

Les preuves de la cancérogénicité chez l'homme et même chez les animaux de laboratoire des bisulfites sont insuffisantes. Donc ; les **bisulfites** et les **métabisulfites** ne peuvent être classés quant à leur cancérogénicité pour l'homme. <sup>(75)</sup>

- Le bisulfite est oxydé in vivo en sulfate, principalement par la sulfite oxydase hépatique, avec une quantité moindre métabolisée par les reins, les intestins, le cœur et les poumons.
- Une ingestion de **4 à 5,8 g / jour** a provoqué des douleurs abdominales et des vomissements, alors qu'une ingestion de **1 g / jour** a été bien tolérée.
- L'ingestion de **10 mg de bisulfite / kg /jour** pendant 25 jours par des volontaires sains n'a provoqué aucun changement des paramètres neurophysiologiques, biochimiques ou chimiques <sup>(75)</sup>

### 2.2.7. Dérivés phénoliques :

Ce sont des antioxydants synthétiques **lipophiles** plus stables et résistent mieux aux températures élevées.

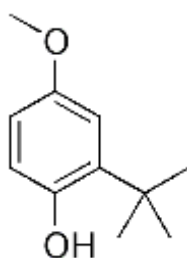
### Mécanisme d'action :

Les antioxydants phénoliques agissent comme **réducteurs** et comme **capteurs** de radicaux libres. Ils réduisent les radicaux issus de l'oxydation des corps gras en leur cédant un atome d'hydrogène; ils sont alors transformés en radicaux stables, non réactifs, en raison de leur encombrement stérique et de la stabilisation par résonance.

#### 2.2.7.1. Hydroxyanisole butylé « BHA » :

##### Propriétés physico-chimiques :

L'hydroxyanisole butylé se présente sous la forme d'une poudre cristalline blanche ou presque blanche ou d'un solide cireux blanc jaunâtre avec une légère odeur aromatique caractéristique.



**Figure 26:** Structure chimique de butylhydroxyanisole <sup>(83)</sup>

##### Applications en formulation pharmaceutique :

- L'hydroxyanisole butylé est un antioxydant ayant certaines propriétés antimicrobiennes. Il est utilisé dans une large gamme de produits pharmaceutiques, produits cosmétiques et aliments (utilisé pour retarder ou prévenir la rancidité oxydative des graisses et des huiles et prévenir la perte d'activité des vitamines solubles dans l'huile).
- L'hydroxyanisole butylé est fréquemment utilisé en association avec d'autres antioxydants, en particulier **l'hydroxytoluène butylé (BHT) et les gallates**

d'alkyle (gallate de propyle...), et avec des séquestrants ou des synergistes tels que l'acide citrique.

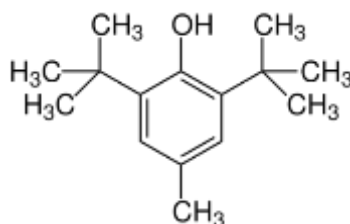
### Sécurité :

- L'hydroxyanisole butylé est absorbé par le tractus gastro-intestinal et est métabolisé et excrété dans l'urine avec moins de 1% inchangé dans les 24 heures suivant son ingestion.
- Bien que des quelques cas isolés de réactions cutanées indésirables au **BHA**, il est généralement considéré comme **non irritant** et **non sensibilisant** aux niveaux employés en tant qu'antioxydant.
- L'utilisation d'BHA a suscité des inquiétudes après des études prolongées sur l'alimentation animale.
- La dose journalière de BHA acceptable par l'OMS a été fixée à **500 mg / kg** de poids corporel. <sup>(83)</sup>

### 2.2.7.2. Hydroxytoluène butylé « BHT » :

#### Propriétés physico-chimiques :

L'hydroxytoluène butylé se présente sous forme d'une poudre blanche ou jaune pâle. solide cristallin ou poudre ayant une légère odeur phénolique caractéristique.



**Figure 27:** Structure chimique de hydroxytoluène butylé <sup>(84)</sup>

#### Applications en formulation pharmaceutique :

- Le BHT est utilisé comme antioxydant dans des cosmétiques, aliments et des produits pharmaceutiques. Il est principalement utilisé pour retarder ou empêcher la rancidité oxydative des graisses et des huiles et pour empêcher la perte d'activité des vitamines solubles dans l'huile.
- Le BHT améliore la stabilité de produits pharmaceutiques, de vitamines et de cosmétiques. En effet, il est retrouvé dans plusieurs cosmétiques, produits de soins et d'hygiène tels que les démaquillants, les fards à paupières, les rouges à lèvres, les produits bronzants, les huiles, les parfums, les déodorants, les shampoings et les crèmes.
- L'hydroxytoluène butylé a une activité antivirale et a été utilisé en thérapeutique pour le traitement de l'herpès simplex labial <sup>(84)</sup>.

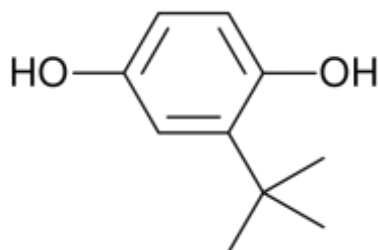
#### Sécurité :

- L'hydroxytoluène butylé est facilement absorbé par le tractus gastro-intestinal et est métabolisé et excrété dans l'urine principalement sous forme de conjugués glucuronides de produits d'oxydation.
- Quelques cas isolés de réactions indésirables de la peau ont été signalés, mais l'hydroxytoluène butylé est généralement considéré comme **non irritant** et **non sensibilisant** aux niveaux employés en tant qu'antioxydant.
- L'ingestion de **4 g** d'hydroxytoluène butylé, bien que causant des nausées et des vomissements graves ont été rapportés comme non mortels. <sup>(84)</sup>
- L'OMS a fixé une dose journalière acceptable estimée temporaire pour l'hydroxytoluène butylé jusqu'à **125 mg / kg** de poids corporel. <sup>(84)</sup>

#### 2.2.7.3. Butylhydroquinone tertiaire « TBHQ » :

##### Propriétés physico-chimiques :

Le butylhydroquinone tertiaire se présente sous forme d'une poudre cristalline blanche à beige clair ou fine poudre beige, très légère ; d'odeur aromatique.



**Figure 28:** Structure chimique de TBHQ <sup>(85)</sup>

Le TBHQ est largement utilisé en tant qu'antioxydant approuvé par la FDA (à des concentrations allant jusqu'à **0,02%** en termes d'huile et de teneur en graisse) dans certains aliments tels que les huiles, les graisses et les produits carnés pour ralentir l'oxydation et prévenir le rancissement.

Il est utilisé comme inhibiteur de polymérisation du styrène, du butadiène et d'autres alcènes. <sup>(85)</sup>

#### Sécurité :

##### Danger pour la santé :

- Les symptômes de l'exposition à ce composé comprennent une irritation de la peau et des yeux et une dermatite. Les symptômes tardifs peuvent inclure une intoxication pulmonaire. En cas d'aspiration dans les poumons, une pneumonie chimique peut survenir.
- Dangers aigus / chroniques: Ce composé est toxique par ingestion. Lorsqu'il est chauffé jusqu'à décomposition, il dégage une fumée âcre, des émanations irritantes et des émanations toxiques du monoxyde de carbone et de dioxyde du carbone.
- Le **TBHQ** est utilisé seul, ou en mélange avec du **BHT** et du **BHA**, et en association avec des synergistes tels que **l'acide citrique** ou d'autres agents chélateurs de métaux.
- Le TBHQ est le plus efficace contre l'oxydation dans les huiles végétales polyinsaturées et est souvent utilisé dans l'huile de soja. <sup>(85)</sup>

**Chapitre 3 :**  
**Analyses des conservateurs**  
**dans les produits**  
**pharmaceutiques**

### **3. Analyses des conservateurs dans les produits pharmaceutiques:**

#### **3.1. Définition :**

Dans les produits pharmaceutiques, les cosmétiques, les échantillons biologiques et les produits alimentaires on peut utiliser un seul conservateur, mais le plus souvent des combinaisons d'agents de conservation sont utilisées pour empêcher l'altération et la dégradation des formulations des produits. Cependant, ces conservateurs peuvent être nocifs pour le consommateur en raison de leur tendance à induire un contact allergique. Cependant, ces conservateurs peuvent être nocifs pour le consommateur en raison de leur tendance à induire un contact allergique. Par conséquent, la détermination simultanée de ces conservateurs dans les produits pharmaceutiques commerciaux est particulièrement importante pour l'assurance qualité et la sécurité des consommateurs. (86)

Pour la quantification des agents de conservations dans ces produits, qui se trouvent généralement en tant que composants mineurs, des méthodes analytiques sont conçues pour éviter les problèmes associés aux interférences provenant d'autres constituants.

Il existe plusieurs examens pour l'analyse des conservateurs dans les aliments, (87-88) les échantillons biologiques (89-90) et les cosmétiques. (91-92) Cependant, la littérature est médiocre en ce qui concerne l'analyse des conservateurs dans les produits pharmaceutiques, il existe dans certaines revues, par exemple la revue publiée en langue chinoise par **Ho** et **Chen**. (93)

Le présent chapitre est consacré à l'analyse des conservateurs dans les produits pharmaceutiques.

Selon la recommandation d'ICH :

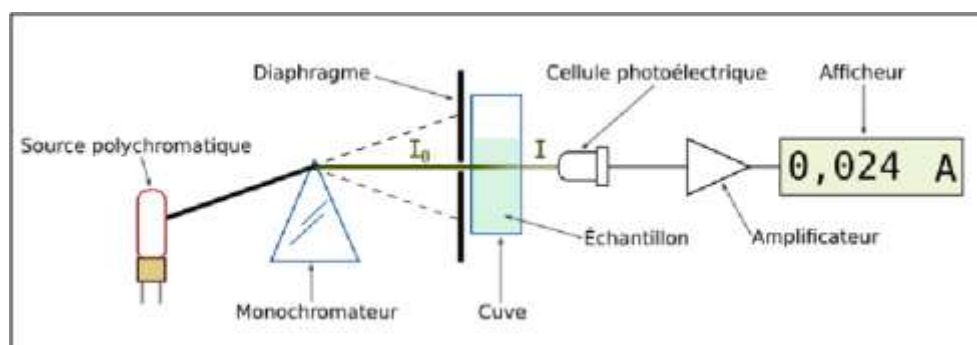
- **L'analyse de la teneur en agents antimicrobiens: doit** généralement être réalisée lors de la mise en circulation. Dans certains cas, des tests en cours de fabrication peuvent suffire pour remplacer les essais avant la mise en circulation du produit fini. Si l'on effectue une analyse de la teneur en agents antimicrobiens en cours de fabrication, les critères d'acceptation doivent demeurer dans la spécification. (10)



- **L'analyse de la teneur en agents antioxydants** : Des essais de mise en circulation doivent être réalisés sur la teneur en antioxydants. Dans certains cas et si la législation le permet, les tests sur la durée de conservation peuvent être inutiles, et des tests en cours de fabrication peuvent suffire pour remplacer les essais de mise en circulation, en fournissant une justification fondée sur les données issues du développement et sur la stabilité. Si l'on effectue une analyse de la teneur en antioxydants en cours de fabrication, les critères d'acceptation doivent demeurer dans la spécification. (10)

### Méthodes les plus utilisées :

**spectrophotométrie UV-Visible** : La spectroscopie ultraviolet-visible ou spectrométrie ultraviolet-visible est une technique de spectroscopie mettant en jeu les photons dont les longueurs d'onde sont dans le domaine de l'ultraviolet (100 nm - 400 nm), du visible (400 nm - 750 nm) ou du proche infrarouge (750 nm - 1 400 nm). Soumis à un rayonnement dans cette gamme de longueurs d'onde, les molécules, les ions ou les complexes sont susceptibles de subir une ou plusieurs transitions électronique(s). Cette spectroscopie fait partie des méthodes de spectroscopie électronique. Les substrats analysés sont le plus souvent en solution, mais peuvent également être en phase gazeuse et plus rarement à l'état solide. (94)



**Figure 29** : Schéma du principe de spectrophotométrie UV-visible (94)

**HPLC** : L'HPLC est l'une des techniques les plus employées dans les laboratoires d'analyses chimiques. Elle permet l'identification, la séparation et le dosage des composés chimiques dans un mélange. Sa grande précision permet la recherche des traces et il est possible de la coupler à un spectromètre de masse. (95)

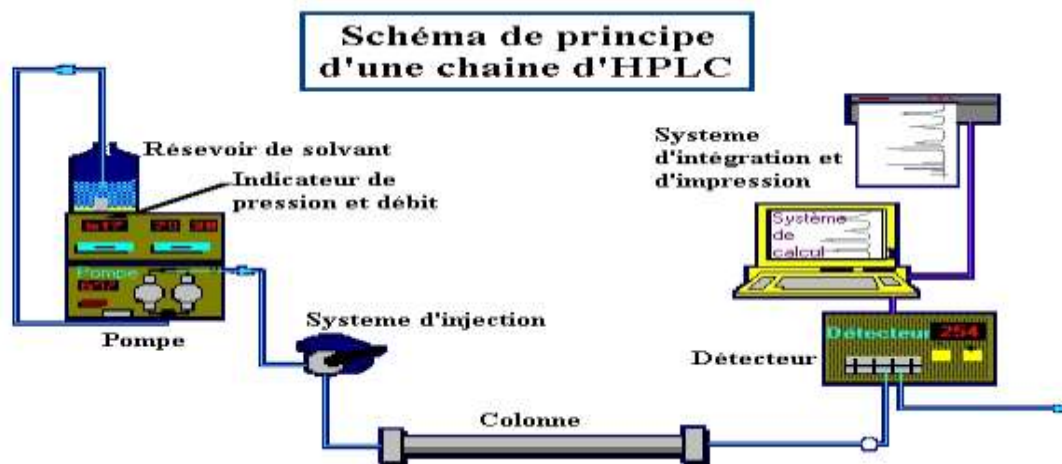


Figure 30 : Schéma du principe du HPLC (95)

**CCM** : La chromatographie sur couche mince (CCM, en anglais TLC pour Thin layer chromatography) est une technique de chromatographie planaire<sup>1</sup> dont la phase mobile est liquide. Elle est couramment utilisée pour séparer des composants dans un but d'analyse (CCM analytique) ou de purification (CCM préparative).

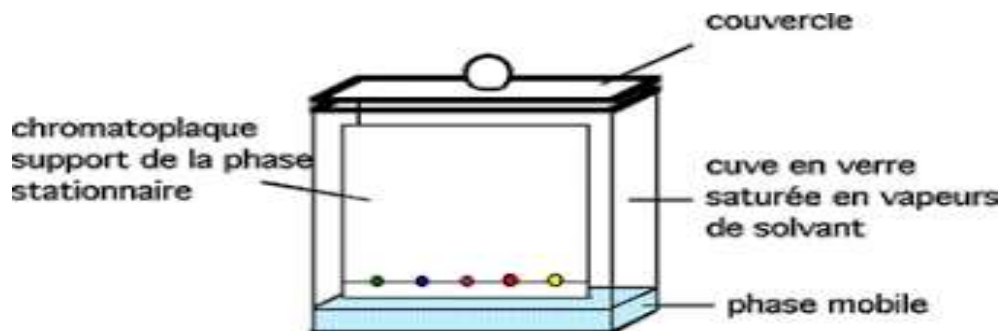


Figure 31 : Schéma de principe du CCM (96)

Elle comprend :

- une phase stationnaire : une couche mince de matériel absorbant (usuellement du gel de silice, de l'oxyde d'aluminium ou de la cellulose).

- une phase liquide, dite phase mobile ou éluant : un solvant ou un mélange de solvants qui va entraîner les composés à séparer le long de la phase stationnaire.

Le phénomène d'adsorption est prépondérant (mais il y a également partage si le solvant est un mélange) pour les phases stationnaires polaires. Dans le cas des phases inverses, c'est-à-dire hydrophobes, c'est le phénomène de chromatographie de partage qui prédomine. (96)

### **Electrophorèse capillaire :**

L'électrophorèse capillaire (en anglais capillary electrophoresis : EC) peut être utilisée pour séparer des espèces ioniques selon leur charge et les forces de friction qui s'exercent sur elles.

En électrophorèse traditionnelle, les éléments chargés électriquement se déplacent dans le liquide conducteur sous l'influence d'un champ électrique. Introduite dans les années 1960, la EC a été conçue pour séparer des espèces chimiques selon leur rapport charge / taille à l'intérieur d'un petit tube capillaire rempli d'un électrolyte. (97)

### 3.3. Analyse des conservateurs antimicrobiens :

Les conservateurs antimicrobiens ont été analysés à la fois par des méthodes microbiologiques <sup>(98)</sup> et chimiques. La portée de cet examen décrira les procédures chimiques.

#### 3.3.1. Parabens :

Les parabens sont des esters d'acide  $\beta$ -hydroxybenzoïque. Ils sont inclus dans les produits pharmaceutiques et les cosmétiques en tant que conservateurs antimicrobiens. Les esters méthyliques et propyliques sont les parabens les plus fréquemment utilisés

Selon la pharmacopée européenne <sup>(99)</sup> Le dosage des parabens implique une saponification suivie du titrage d'un échantillon et une méthode d'identification par CCM.

Des méthodes chromatographiques telles que la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), l'électrophorèse Capillaire (EC) et la spectrophotométrie UV ont été rapportées comme méthodes sélectives de dosage des parabènes dans les produits pharmaceutiques. Les méthodes d'analyse rapportées peuvent être classées comme suit:

##### 3.3.1.1. **Electrophorèse capillaire :**

On a signalé une électrophorèse capillaire électrocinétique (EC) pour la détermination de méthyle, éthyle, propyle et butyle parabens dans des préparations cosmétiques en utilisant une colonne capillaire en silice fondue et des tensions appliquées de 22, 25, 27 et 30 kV respectivement. La détection UV a été réalisée à 220 nm. <sup>(100)</sup>

- **Ho et Lee** <sup>(101)</sup> ont signalé un CE micellaire pour la détermination de l'acide hydroxybenzoïque et de ses esters méthyliques, éthyliques et propyliques (parabens) dans des préparations liquides par l'utilisation d'une colonne capillaire en silice fondue et une tension appliquée de 30 kV sous UV détection à 205 nm.

### 3. 3. 1. 2. Chromatographie en phase liquide à haute performance :

La méthode de chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) est la technique la plus appropriée pour les échantillons **complexes**. Ainsi, plusieurs méthodes de HPLC ont été rapportées pour la détermination des parabens dans les produits pharmaceutiques.

Les colonnes C18 ou C8 régulières ou désactivées au silanol, associées à la détection UV-Visible, constituent la configuration la plus courante pour l'analyse des parabènes dans les produits pharmaceutiques et les cosmétiques.

On a quelques exemples pour les méthodes HPLC les plus récentes pour la détermination des parabènes dans divers produits pharmaceutiques :

- Dans les produits pharmaceutiques liquides : ont été déterminés par RP-HPLC (HPLC en phase inversé) en utilisant une colonne C18 dont la phase mobile est un mélange de méthanol et de tampon phosphate à pH 7,05, la détection a été effectuée à 254 nm. <sup>(102)</sup>
- On a également signalé la RP-HPLC avec colonne C18 pour le dosage des méthyles et propyl parabens en plus de l'hydrocortisone et de ses produits de dégradation dans une crème topique. <sup>(103)</sup> La phase mobile était un mélange de méthanol-acétonitrile et d'eau, la détection a été effectuée à 238 nm.
- Une configuration similaire, avec différentes phases mobiles de pH (pH 2,5), a été utilisée pour l'analyse des parabènes avec **le diclofénac sodique** et ses produits de dégradation. <sup>(104)</sup>
- Une autre configuration RP-HPLC, avec une phase mobile différente (à pH 3,45 avec l'acide acétique glacial), a été utilisée pour l'analyse des parabènes avec l'expectorant ambroxol. La détection a été effectuée à 247 nm. <sup>(105)</sup>

### **3. 3. 1. 3. Chromatographie sur couche mince :**

Plusieurs procédures de chromatographie sur couche mince (CCM) et HP-CCM ont été rapportées pour la détermination de parabens dans les produits pharmaceutiques.

- La Pharmacopée européenne <sup>(99)</sup>, spécifie une méthode de CCM pour la détection de parabens dans les composés pharmaceutiques.  
Par exemple : la détermination des parabens dans les peptides antibiotiques, les pommades à la néomycine sulfate, à la polymyxine B sulfate et à la bacitracine de zinc se fait par CCM, en utilisant un mélange d'acide acétique glacial n-pentane comme phase mobile. La détection a été effectuée par mesure densitométrique à 260 nm.
- De même, les parabens en suspension antiacide ont été déterminés à l'aide de plaques RP-CCM. La détection a été effectuée par mesure densitométrique à 254 nm.
- Une procédure similaire a été mise au point par Thomassin et al, où une étude comparative de l'application de HP-CCM et de HPLC dans l'analyse des parabens a été lancée. Pour HP-CCM, des plaques RP-CCM fluorescentes ont été utilisées et la détection a été effectuée à 260 nm. Pour la HPLC, une colonne C18 a été utilisée avec du méthanol aqueux en tant que phase mobile et une détection UV à 254 nm.

### **3. 3. 1.4. Spectrophotométrie UV-visible :**

La spectrophotométrie UV-visible est toujours considérée comme une méthode commode et peu coûteuse pour la détermination des conservateurs. Plusieurs méthodes spectrophotométriques et colorimétriques ont été rapportées pour la détermination des parabens dans les matériaux en vrac.

### **3. 3. 2. Acides et sels :**

Plusieurs méthodes de dosage ont été décrites pour l'analyse de l'acide benzoïque, de l'acide sorbique et de leurs sels, dans des produits pharmaceutiques et du substances biologique. Certaines de ces méthodes ont été discutées sous les parabens.

Les méthodes d'analyse des acides sorbique et benzoïque et de leurs sels peuvent être classées comme suit:

### **3. 3. 2. 1. Electrophorèse capillaire :**

La chromatographie électrocinétique micellaire et la chromatographie électrochimique <sup>(106,107)</sup> en microémulsion ont été utilisées pour la détermination de l'acide benzoïque, de l'acide sorbique et des parabènes dans <sup>(106)</sup> produits pharmaceutiques. Ces méthodes ont été discutées sous les parabens.

### **3. 3. 2. 2. Chromatographie en phase liquide à haute performance :**

Outre les méthodes mentionnées sous Parabens, les méthodes HPLC suivantes ont été décrites pour l'analyse des acides sorbique et benzoïque et de leurs sels.

- Mikami et al. <sup>(108)</sup> ont mis au point une méthode d'extraction en phase solide et HPLC pour la détermination simultanée de l'acide déhydroacétique, de l'acide benzoïque, de l'acide sorbique et de l'acide salicylique en cosmétique, en utilisant de l'hydroxyde de tétra-n-butylammonium comme réactif à paire d'ions.
- El-Gindy et al. Ont développé la RP-HPLC <sup>(109)</sup> en plus de deux méthodes spectrophotométriques; méthodes de régression en composantes principales et des moindres carrés partiels pour la détermination de l'acide sorbique, l'analyse a été réalisée à 220 nm et 288 nm.
- Bousquet et al. Ont rapporté une dérivatisation de pré-colonne avec de la 1 (2,5-dihydroxyphényl) -2-bromoéthanone <sup>(110)</sup> suivie d'une méthode RP-HPLC pour la détermination de l'acide sorbique en cosmétique. La détection du dérivé a été réalisée par voie électrochimique à un potentiel de +0.45 V.
- La RP-HPLC avec colonne C8 utilisant un détecteur UV à 247 nm a été décrit pour la détermination du chlorhydrate d'ambroxol et de l'acide benzoïque dans un sirop.
- L'acide <sup>(111)</sup> sorbique a été déterminé par RP-HPLC avec une colonne C18 dans des crèmes.

### **3. 3. 2. 3. Chromatographiques en couche mince :**

La technique de CCM bidimensionnelle à deux phases a été discutée sous les parabens et son application aux acides carboxyliques dans les produits pharmaceutiques.

- El-Bayoumi et al. <sup>(112)</sup> ont mis au point une méthode de CCM pour la détermination des parabens, des acides benzoïque et sorbique en poudre brute et des formulations pharmaceutiques utilisant différents solvants de développement et la détection UV à été effectuée à 254 nm.
- Mandrou et Bresolle ont présenté une autre méthode de CCM pour la détermination de l'acide sorbique <sup>(113)</sup> et de l'acide benzoïque dans les produits pharmaceutiques et les liquides biologiques.

### **3. 3. 3. Composés d'ammonium quaternaire :**

Les composés d'ammonium quaternaire sont utilisés en clinique comme additifs antimicrobiens depuis 1935. Ils ont été utilisés pour maintenir la stérilité d'une variété d'ordonnances et de produits en vente libre tels que les cosmétiques, les produits de soins pour nourrissons; solutions nasales en aérosol pharmaceutiques, solutions ophtalmiques.

#### **3. 3. 3. 1. Ectrophorèse capillaire :**

La procédure analytique développée démontre que l'EC est une méthode fiable et sensible et offre une technique analytique commode pour déterminer les composés d'ammonium quaternaire, en raison de la présence d'une charge positive. Pour ces raisons, plusieurs méthodes analytiques basées sur l'utilisation de la technique d'électrophorèse capillaire (CE) ont été rapportées pour la détermination de ce groupe de conservateurs.

- Hou et al. Ont développé une méthode d'électrophorèse à zone capillaire (CZE) <sup>(114)</sup> pour déterminer les BKC (chlorures de benzalkonium) dans des solutions ophtalmiques; l'échantillon a été séparé à un potentiel de 15 kV et détecté avec un détecteur UV-VIS à 200 nm. CZE était supérieur à la HPLC en termes de sensibilité et de précision.



### 3. 3. 3. 2. Chromatographie en phase liquide à haute performance :

Des méthodes de HPLC avec différents impacts de type garniture de colonne, différents composition de phase mobile, de tampon, force ionique et température de colonne ont été décrites pour la détermination des composés d'ammonium quaternaire dans divers produits pharmaceutiques. Des colonnes de groupe fonctionnel aminé, <sup>(115)</sup> de phase inversée <sup>(116-117)</sup> et de garnissage cyano <sup>(118-119)</sup> ont été développées.

- La Pharmacopée européenne <sup>(99)</sup> spécifie la HPLC pour la détermination des BKC sous forme pure. En plus des méthodes mentionnées précédemment, les méthodes suivantes ont été décrites pour leur détermination dans des produits pharmaceutiques. Les BKC, dans les préparations en aérosol, ont été déterminées par HPLC avec cyano-colonne et la phase mobile était de l'acétonitrile aqueux à pH 5, et la détection a été effectuée à 262 nm.

### 3. 3. 3. 3. Chromatographie en couche mince :

Les homologues de la chaîne de BKC, de cétrimide, de CPB (bromure de cetylpyridium) et de CPC (chlorure de cetylpyridium) ont été séparés par CCM et détectés par les taches brun jaunâtre sur un fond incolore. Ils ont été quantifiés par densitométrie UV.

### 3. 3. 3. 4. Spectrophotométrie :

Plusieurs procédures spectrophotométriques ont été rapportées dans la littérature pour la détermination de composés d'ammonium quaternaire dans des produits pharmaceutiques. Gorog, dans son manuel, a passé en revue la méthode spectrophotométrique de détermination des conservateurs à l'ammonium quaternaire <sup>(120)</sup>. Les conservateurs comprenant le bromure de cetyltriméthyl ammonium, le CPB et le bromure de diméthyl dodécylbenzyl ammonium réagissent avec le 1- (4-nitrophényl) -3- (4-phénylazophényl) triazène et les colorants produits sont mesurés à 530, 540 et 590 nm, respectivement.

### **3. 4. Analyse des conservateurs antioxydants :**

Les antioxydants sont des substances ajoutées aux produits pharmaceutiques et aux aliments pour inhiber leur oxydation. Ils sont couramment utilisés dans les produits pharmaceutiques

#### **3. 4. 1. Antioxydants phénoliques :**

Les antioxydants phénoliques comprennent l'hydroxyanisole butylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHT), les tocophérols (Vitamine E), le propylgallate (PG), le 4-hydroxy-méthyl-2,6-di-tri-butylphénol, le tri-butyl-hydroquinone (TBHQ). ) et la 2,4,5-trihydroxy-butyrophénone (THBP). Plusieurs méthodes de dosage ont été rapportées pour l'analyse des antioxydants phénoliques dans les produits pharmaceutiques. Certaines de ces méthodes ont été discutées dans le cadre des conservateurs antimicrobiens. Les méthodes d'analyse des antioxydants phénoliques rapportées peuvent être classées comme suit:

##### **3. 4. 1. 1. Electrophorèse capillaire :**

- Summanen et al. Ont utilisé CE pour la résolution et la détermination de neuf antioxydants phénoliques (121) par l'utilisant d'une colonne capillaire en silice fondue non revêtue et une tension appliquée de 22 kV.
- Delgado-Zamarreno et al (122), Saifar et al (123), et Abidi et Rennick (124) ont appliqué les procédures similaires pour l'analyse d'antioxydants phénoliques à différentes tensions. Dans toutes les études, la détection a été réalisée à l'aide d'un détecteur UV.
- Boyce et Spickett ont décrit une méthode MECC pour la détermination des antioxydants phénoliques (125) et des autres conservateurs (BHT et gallate de dodécyle) dans les produits cosmétiques.

##### **3. 4. 1. 2. Chromatographie en phase liquide à haute performance :**

Plusieurs études expérimentales ont été menées pour déterminer les antioxydants phénoliques dans les produits alimentaires et pharmaceutiques par des méthodes chromatographiques. Comme le montre la littérature, il existe plusieurs revues pour la détermination des antioxydants phénoliques.

- Robards et Dilli <sup>(126)</sup> ont passé en revue les méthodes chromatographiques et spectrophotométriques pour la détermination des antioxydants phénoliques.
- Une autre revue rédigée par Abidi <sup>(127)</sup> s'est concentrée sur les différentes techniques d'isolement, de purification, de séparation chromatographique et de détection des tocophérols par HPLC en phase normale et inversée.
- Les méthodes HPLC utilisées pour la détermination des antioxydants phénoliques (PG, BHA, BHT, THBP, TBHQ et autres) ont été passées en revue par Karovicova et Simko <sup>(128)</sup>.
- L' $\alpha$ -tocophérol, l'acétate d' $\alpha$ -tocophérol et le rétinol ont été concentrés sur une cartouche d'extraction en phase solide emballée C18, puis analysés par HPLC en utilisant du méthanol / acétonitrile (3: 7) comme phase mobile et une détection UV à 290 nm <sup>(129)</sup>.

### 3. 4. 1. 3. Chromatographie en couche mince :

Des méthodes chromatographiques en couche mince ont été rapportées pour l'identification et l'estimation de l'activité des antioxydants phénoliques dans les produits pharmaceutiques.

- El-Mansouri et al. Ont décrit la chromatographie planaire couplée à la détection photodensitométrique pour l'identification d'antioxydants phénoliques dans les produits pharmaceutiques <sup>(130)</sup>. Les produits ont été dissous dans du toluène, séchés et extraits avec du méthanol. L'extrait méthanolique a été appliqué à un RP-CCM en utilisant un mélange acétonitrile-méthanol-tétrahydrofurane et détecté par photodensitométrie <sup>(131)</sup>.

### 3. 4. 1.4. Méthodes spectrophotométriques :

- **Robards et Dilli** <sup>(126)</sup> ont passé en revue les méthodes spectrophotométriques pour la détermination de antioxydants phénoliques jusqu'en 1987. L'  $\alpha$ -tocophérol a été déterminé par formation d'un complexe ternaire avec du chlorure de cuivre (II) et du néocuproin dans un tampon d'acétate. La couleur formée a été mesurée à 450 nm. <sup>(132)</sup>

- **Pranjothy** <sup>(133)</sup> a décrit une méthode de spectrophotométrie UV directe pour la détermination de l' $\alpha$ -tocophérol dans des produits pharmaceutiques. Il a extrait l' $\alpha$ -tocophérol des produits dans le tétrachlorure de carbone et l'a mesurée à 287 nm.

### **3. 4. 2. Analyse des agents réducteurs :**

#### **3. 4. 2. 1. Acide ascorbique (ASA) et ses sels :**

Comme le montre la littérature, il existe plusieurs revues pour la détermination de l'acide ascorbique. En 1982, Al-Meshal et Hassan ont passé en revue les différentes méthodes d'analyse de l'acide ascorbique <sup>(134)</sup>.

- Une autre étude de Pachla et al., En 1985, portait sur les diverses techniques permettant de <sup>(135)</sup> déterminer l'AAS dans des produits pharmaceutiques, des échantillons biologiques et des produits alimentaires.
- L'acide ascorbique est une vitamine importante ayant une structure chimique qui justifie sa classification en tant que glucide. Il est rapidement oxydé en acide déshydroascorbique par des ions oxygène et métalliques, puis l'acide déshydroascorbique peut être oxydé davantage en acide dicétogluconique.
- Il est difficile de distinguer les méthodes d'analyse de l'acide ascorbique en tant que principe actif ou en tant que conservateur antioxydant. Ces méthodes peuvent être classées comme suit:

#### **3. 4. 2. 1. 1. Electrophorèse capillaire :**

Utilisation des CE pour la détermination de l'ASA et de la biotine dans des produits pharmaceutiques ont été étudiés par Schiewe et al <sup>(136)</sup> en utilisant un détecteur à barrette de diodes. En outre, l'ASA et d'autres vitamines ont été analysés par CE en utilisant une colonne de silice fondue. La détection a été réalisée à l'aide d'un détecteur ampérométrique. <sup>(137)</sup>

- Yin et Wu <sup>(138)</sup> ont déterminé le constituant actif des comprimés de vitamine C par MECC, en utilisant une colonne capillaire en silice fondue, du borate de sodium et du

désoxycholate de sodium à un pH compris entre 9 et 11 comme tampon de traitement. La détection a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS à 254 nm.

### **3. 4. 2. 1. 2. Chromatographie en phase liquide à haute performance :**

- La dégradation de l'AAS stockée dans les produits de nutrition parentérale et pharmaceutiques se produit initialement par oxydation à l'oxygène et est catalysée par des oligo-éléments, en particulier des ions de cuivre. Pour cette raison, Mueller <sup>(139)</sup> a décrit une procédure d'extraction rapide d'échantillon pour la détermination de l'acide ascorbique par RP-HPLC dans un comprimé de minéraux multivitaminés contenant du cuivre interférant.
- En outre, une méthode de HPLC à phase inversée indiquant la stabilité a été utilisée avec détection UV à 278 nm par Gibbons et al. <sup>(140)</sup> Ils ont étudié l'effet de la température et des oligo-éléments sur la dégradation anaérobie de l'acide déhydroascorbique dans des mélanges nutritionnels parentéraux.

### **3. 4. 2. 1. 3. Spectrophotométrie UV-visible :**

Les méthodes spectrophotométriques de détermination de l'AAS dans les produits pharmaceutiques, les aliments et les échantillons biologiques jusqu'en 1998 ont été passées en revue par Arya et al <sup>(141)</sup>.

- Un procédé spectrophotométrique pour la détermination simultanée de l'acide ascorbique dans les produits pharmaceutiques (comprimés et capsules) a été rapporté par Hassan et al <sup>(142)</sup>.
- Les auteurs ont utilisé un programme informatique basé sur le filtre de Kalman d'étalonnage à plusieurs variables. Des extractions en phase solide couplées à un spectrophotomètre UV ont été appliquées pour la détermination de l'ASA dans des produits pharmaceutiques. Les mesures effectuées à 329 267 nm.

# Conclusion

## Conclusion :

Les conservateurs, seuls ou en combinaisons synergiques, restent nécessaires pour prévenir la contamination microbienne des médicaments liquides ou semi-solides à usages multiples, en particulier des agents pathogènes opportunistes. Leur absence peut avoir de graves conséquences sur la santé du patient.

Il existe un nombre limité de conservateurs approuvés par la réglementation qui peuvent être inclus dans ces produits à usage oral ou topique à usage multiple et leur nombre est encore plus limité dans les produits à usage parentéral. En outre, il serait peut-être temps de revenir sur les tests et les exigences de performance que doivent subir les produits avant d'être considéré comme suffisamment préservés.

Des critères de performance et des techniques d'évaluation, basés sur le type de produit, la dose, les antécédents environnementaux de fabrication, pourraient être plus appropriés que l'application d'une seule norme de qualité définie dans les pharmacopées, ce qui pourrait bien représenter un «excès» dans un contexte microbiologique des produits et de bon sens pour de nombreuses personnes. Les approches sans conservateur en sont encore à leurs débuts et il faut encore beaucoup de recherche avant de pouvoir les considérer sur un pied d'égalité avec les approches préservées. Cependant, plusieurs dispositifs et préparations ophtalmiques sans conservateur sont disponibles et offrent certaines perspectives.

L'utilisation des conservateurs dans les produits pharmaceutiques reste une méthode fiable et sécurisée pour la conservation des médicaments au cours de stockage ou au moment d'utilisation, mais leur intégration dans la formulation reste toujours limitée par des réglementations qui définissent les normes, les situations et limites d'acceptation, pour éviter toute affection pouvant affecter la santé humaine.

# Références



## Bibliographie

- (1)-Chiori CO, Ghobashy AA; A potentiating effect of EDTA on the bactericidal activity of lower concentrations of ethanol. *Int J Pharm*; 1983; 17; 121-128.
- (2)- Evans, G., de Challemaison, B., & Cox, D. N. (2010). "Consumers' ratings of the natural and unnatural qualities of foods". *Appetite*. 54 (3): 557–563. doi:10.1016/j.appet.2010.02.014. PMID 20197074.
- (3)- Ashagrie, Z. Z., & Abate, D. D. (2012). IMPROVEMENT OF INJERA SHELF LIFE THROUGH THE USE OF CHEMICAL PRESERVATIVES. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition & Development*, 12(5), 6409-6423.
- (4)- umar, H., Jha, A., Taneja, K. K., Kabra, K., & Sadiq, H. M. (2013). A STUDY ON CONSUMER AWARENESS, SAFETY PERCEPTIONS & PRACTICES ABOUT FOOD PRESERVATIVES AND FLAVOURING AGENTS USED IN PACKED /CANNED FOODS FROM SOUTH INDIA. *National Journal of Community Medicine*, 4(3), 402-406.
- (5)- H. Y. Hang, Y. C. Lai, C. W. Chiu, J. M. Yeh, *J. Chromatogr.* 993 , 153 (2003).
- (6)- EUROPEAN PHARMACOPOEIA 7. Efficacy of antimicrobial preservation chapitre 5.1.3.
- (7)- USP (the United States Pharmacopeial Convention Inc. Chapter (51) 2007USP30/NF25. Rockville ; MD. Author, 2006 ; 79)
- (8)- Liste des Excipients à Effet Notoire Mise à Jour de la liste et des libellés selon le Guideline européen 2003 Afssaps - Deuxième révision du 3 mars 2009
- (9)- JOF (journal officiel française), bulletin n°99/34 de 29/08/99, liste des excipients à effet notoire
- (10)- ICH Q6A. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE , 16-100136-12

(11)-W. J. Reilly, "Pharmaceutical Necessities", in: "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20 Ed., Edited by A. R. Gennaro, Mack Publishing th Comp., Philadelphia (2000)

(12)-NICKLIN J., GRAEME-PAGET T., KILLINGTON R., l'essentiel en microbiologie, ed Berti, 2000, 365 p, paris.

(13)- Draft Note for Guidance on Excipients, Antioxidants and Antimicrobial Preservatives in the Dossier for Application for Marketing Authorisation of a Medicinal Product, Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP), The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Evaluation of Medicines for Human Use, CPMP/QWP/419/03, London 20th February 2003.

(14)- R.A. Fassihi, Preservation of Medicines against Microbial Contamination, in: S.A.Block (Ed.) Disinfection Sterilization and Preservation, 4th Edition, Lea and Febiger, 1991, pp. 871-886.

(15)- W.B. Hugo, A.D. Russell (Eds.), Pharmaceutical Microbiology, 6th Edition, Blackwell Science, 1998, pp. 201-262 and 365-373.

(16)- J.Zhao, Z.Yang, M.Wang, Y.Lu, Z.Yang, Electrochemical Evaluation of the Inhibitory Effects of Weak Acids on *Zagosccharomyces baili*, J.Agric. Food Chem., 52: 7246-7250 (2004).

(17)-MARTINI M.C., SEILLER M., Actifs et additifs en cosmetologie, ed technique et documentation lavoisier, paris 2emme édition, 1999, 431p, paris

(18)-PEDERSEN K.L . PEDERSEN S.N. CHRESTIANSEN L.B . KORSGAARD B. BJERRE GAARD P. The preservatives ethyl,propyl-and butyl paraben are oestrogenic In an VIVo Fish assay, pharmacology and txicology, 86.110.113

(19)- F.B., Parfums cosmetiques actualités, 1996, 130p, 49-54.

(20)-YOUSSEF M.K., SINA A., KASSEM A.A ., IBRAHIM S.A., ATTIA M.A ., interaction between polyethylene plastic conteners and certain preservatives and vitamins, IDIAN J.PHARM ?1973.35p,155-158

- (21)-KNOWLTON J., PEANCE S., HANDBOOK of cosmetic science and technologie ed  
elsivier Advanced technologie, 1993,581p. oxford.
- (22)- United States Pharmacopeia General Chapter <51> Antimicrobial Effectiveness Testing,  
USP 34-NF29, US Pharmacopeia, Rockville, Maryland, USA, 2010.
- (23)- European Pharmacopoeia 5.1.3 Efficacy of Antimicrobial Preservation, EP 6.4,  
European Directorate for Quality of Medicines, Strasbourg, France, 2010.
- (24)- Japanese Pharmacopeia, General Information: 19. Preservative Effectiveness Test, 15th  
Edition, Society of Japanese Pharmacopeia, Tokyo, Japan
- (25)- P. J. Newby ‘Rapid Methods for Enumeration and Identification in Microbiology’ in  
Handbook of Microbiological Quality Control, Editors R.M. Baird, N.A. Hodges, S.P.  
Denyer, Taylor and Francis, New York, London (2000).
- (26)- S.V.W. Sutton, D. Porter, ‘Development of the Antimicrobial Effectiveness Test as USP  
Chaper <51>’ PDA Journal of Pharmaceutical Sciences and Technology, 56: 300-311 (2002).
- (27)- P. Furrer, J.M. Mayer, R. Gurny, Ocular Tolerance of Preservatives and Alternatives, E.  
J. Pharm. Biopharmac., 53: 263-280 (2002).
- (28)- L.O. Kallings, O. Ringertz, L. Silverstolpe, Microbial contamination of medical  
preparations, Acta Pharm. Suecica, 3: 219-228 (1996)
- (29)-RAYMOND CROWE ,PAUL J SHESKEYAND MARIEN EQUINN, HAND BOOK  
OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6 emme edition.imiduree.page 337.
- (30)-RAYMOND CROWE ,PAUL J SHESKEYAND MARIEN EQUINN, HAND BOOK  
OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6 emme edition. Ethylparaben. P270
- (31)- Merck index encyclopédie des produits chimiques, de médicaments et de produits  
biologiques p 150
- (32)- European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare (EDQM). European  
Pharmacopoeia – State Of Work Of International Harmonisation. Pharmeuropa 2009; 21(1):  
142–143. [http://www.edq- m.eu/site/-614.html](http://www.edq-m.eu/site/-614.html) (accessed 3 February 2009).
- (33)-RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEYAND MARIEN EQUINN, HAND BOOK  
OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6 emme edition. Butylparaben. P78

- (34)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. Methyparaben. P 441
- (35)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. Propylparaben. P 592
- (36)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. alcool benzylique. P64
- (37)- Karabit MS et al. Studies on the evaluation of preservative efficacy II. the determination of antimicrobial characteristics of benzyl alcohol. J Clin Hosp Pharm 1986; 11: 281–289.
- (38)- « Prescribing Information for Ulesfia Lotion » [archive], sur Sciele Pharmaceuticals, Inc., avril 2009 (consulté le 29 août 2009).
- (39)- . France. Institut national de recherche et de sécurité, Fiche toxicologique no 170 : alcool benzylique. Cahiers de notes documentaires. Paris : INRS. (2004). [RE-005509]  
<http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox.html>  
[http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX\\_170](http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_170)
- (40)- Grant, W.M. et Schuman, J.S., Toxicology of the eye : effects on the eyes and visual systems from chemicals, drugs, metals and minerals, plants, toxins and venoms; also, systemic side effects from eye medications. Vol. 1, 4th ed. Springfield (ILL.) : Charles C. Thomas. (1993). [RM-515030]
- (41)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. chlorbutanol, p166.
- (42)- Epstein SP, Ahdoot M, Marcus E, Asbell PA: Comparative toxicity of preservatives on immortalized corneal and conjunctival epithelial cells. J Ocul Pharmacol Ther. 2009 Apr;25(2):113-9. doi: 10.1089/jop.2008.0098. (PubMed ID 19284328)
- (43)- Patwa NV, Huyck CL. Stability of chlorobutanol. J Am Pharm Assoc 1966; NS6: 372–373.
- (44)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. Phenol, p485.
- (45)- Foxall PJD et al. Acute renal failure following accidental cutaneous absorption of phenol: application of NMR urinalysis to monitor the disease process. Hum Toxicol 1989; 9: 491–496.

- (46)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. Bronopol, p70.
- (47)- Croshaw B et al. Some properties of bronopol, a new antimicrobial agent active against *Pseudomonas aeruginosa*. *J Pharm Pharmacol* 1964; 16(Suppl.): 127T–130T.
- (48)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. acide benzoïque. p61
- (49)- Buazzi MM, Marth EH. Characteristics of sodium benzoate injury of *Listeria monocytogenes*. *Microbios* 1992; 70: 199–207.
- (50)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. benzoate de sodium. P627
- (51)- Saleh SI et al. Improvement of lubrication capacity of sodium benzoate: effects of milling and spray drying. *Int J Pharm* 1988; 48: 149–157.
- (52)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. acide sorbique. P 672
- (53)- Charvalos E et al. Controlled release of water-soluble polymeric complexes of sorbic acid with antifungal activities. *Appl Microbiol Biotechnol* 2001; 57(5–6): 770–775.
- (54)- Bonnard N, Brondeau MT, Falcy M, Protois JC, Schneider O. Fiche toxicologique 253, chlorure de benzalkonium. Institut national de recherche et de sécurité (INRS), 2005; <http://www.inrs.fr>.
- (55)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. Chlorure de benzalkonium. p56
- (56)- Fredell D.L. Biological properties and applications of cationic surfactants *Cationic surfactants* New York: Marcel Dekker (1994). 31-60
- (57)- Sklubalova Z. Antimicrobial substances in ophthalmic drops. *Ceska Slov Form* 2004; 53(3): 107–116.

- (58)- Debbasch C., Pisella P.J., De Saint Jean M., Rat P., Warnet J.M., Baudouin C. Mitochondrial activity and glutathione injury in apoptosis induced by unpreserved and preserved beta-blockers on Chang conjunctival cells *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001 ; 42 : 2525-2533
- (59)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEYAND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6 emme edition. Cetrimide.p152
- (60)- Mahmoud YA-G. In vitro and in vivo antifungal activity of cetrimide (cetyltrimethyl ammonium bromide) against fungal keratitis caused by *Fusarium solani*. *Mycoses* 2007; 50(1): 64–70
- (61)-Gilbert P., Moore L.E. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet *J Appl Microbiol* 2005 ; 99 : 703-715
- (62)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEYAND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6 emme edition. Chlorure de cetylpyridinium. P157
- (63)- Holbeche JD et al. A clinical trial of the efficacy of a cetylpyridinium chloride-based mouth-wash. 1. Effect on plaque accumulation and gingival condition. *Aust Dent J* 1975; 20: 397–404.
- (64)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEYAND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6 emme edition. Chlorure de benzethonium . p59
- (65)- Shintre MS et al. Efficacy of an alcohol-based healthcare hand rub containing synergistic combination of farnesol and benzethonium chloride. *Int J Hyg Environ Health* 2006; 209: 477–487.
- (66)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEYAND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6 emme edition.nitrate de phenylmercurique. P496
- (67)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEYAND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6 emme edition.thimerosal. p736
- (68)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEYAND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6 emme edition.chlorhexidine. p162

- (69)**- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. acide citrique
- (70)**- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. Acide ascorbique
- (71)**- Lewin S. Vitamin C: Its Molecular Biology and Medical Potential. New York: Academic Press; 1976
- (72)**- Skoog, et. al., Principles of Instrumental Analysis, 6th ed., Thomson Brooks/Cole, 2007, 169-173.
- (73)**- Eitenmiller RR, Ye L, Landen WO Jr. Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences. Chap. 5. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2008
- (74)**- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. Palmitate d'ascorbyl
- (75)**- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. tocopherol
- (76)**- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. GALLATE DE PROPYLE
- (77)**- Stockmann C, Constance JE, Roberts JK, Olson J, Doby EH, Ampofo K, et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Antifungals in Children and their Clinical Implications. Clin Pharmacokinet. 5 mars 2014;53(5):429-54.
- (78)**- Shih, A.L., and N.D. Harris. 1977. Antimicrobial activity of selected antioxidants. J. Food Prot. 40:520-522.
- (79)**- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. Sodium metabisulfite
- (80)**- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. sodium sulfite
- (81)**- The United States Pharmacopeial Convention Inc. Reagents, indicators, and solutions .2007 USP 30/NF 25. Rockville, MD: Author, 2006.

- (82)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. Sodium bisulfite
- (83)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. butylhydroxyanisol
- (84)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. butylhydroxytolylene
- (85)- RAYMOND CROWE, PAUL J SHESKEY AND MARIEN EQUINN, HAND BOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS 6<sup>ème</sup> edition. Butyl hydroquinone tertiaire
- (86)- The Japanese Standards of Cosmetic Ingredients-with Commentary, 2<sup>nd</sup> ed., nd The Society of Japanese Pharmacopoeia, Yakuginippousha, Tokyo, 1984.
- (87)- A. Miebs, and E. Kirst, MP, Milchforsch. Milchprax. 28, 47 (1986)
- (88)- H. Opfer, GIT-Suppl. 4 , 56 (1985)
- (89)- A. G. Rumley, and J. R. Paterson, Ann. Clin. Biochem. 35, 181 (1998).
- (90)- A. T. Diplock, Anal. Proc. 27 , 223 (1990).
- (91)- M. Streek, Parfuem. Kosmet. 71, 136 (1990).
- (92)- H. Koenig, and E. Walldorf , Fresenius' Z. Anal. Chem. 335, 216 (1989).
- (93)- C. Ho, and G. L. Chen, Yaowu. Shipin. Fenxi. 5, 1 (1997). (Through Internet: <http://legend.kacst.edu.sa/cgi-bin/webspirs.cgi>).
- (94)- Skoog, et. al., Principles of Instrumental Analysis, 6th ed., Thomson Brooks/Cole, 2007, 169-173.
- (95)-<https://www.lachimie.fr/analytique/chromatographie/HPLC/HPLC.php>
- (96)-« planar chromatography [archive] », Compendium of Chemical Terminology [« Gold Book »], IUPAC, 1997, version corrigée en ligne : (2006-), 2<sup>e</sup> éd.)
- (97)- Skoog, D.A.; Holler, F.J.; Crouch, S.R "Principles of Instrumental Analysis" 6th ed. Thomson Brooks/Cole Publishing: Belmont, CA 2007



- (98)- The United State Pharmacopoeia XXIV- The National Formulary XIX; United States, Pharmacopoeial Convention Inc., MD. (2000).
- (99)- European Pharmacopoeia 3 ed., Council of Europe, Strasbourg . (2001).
- (100)- A. B. Prevot, E. Pramauro, M. Gallarate, M. E. Carlotti, and G. Orio, *Anal. Chim. Acta.* 412 , 141 (2001).
- (101)- Y. J. Heo, and K. J. Lee, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 17, 1371 (1998).
- (102)- A. Shabir, *J. Pharm.. Biomed. AnaL.* 34 ,207 (2004).
- (103)- R. Hajkova, P. Solich, J. Dvorak and J. Sicha *J. Pharm. Biomed. Anal.* 32 , 912 (2003).
- (104)- R. Hajkova, P. Solich, J Dvorak and J. Sicha *Anal. Chim. Acta.* 467 , 91 (2002).
- (105)- E. Koundourellis, E.T. Malliou, and T.A.Broussali, *J. Pharm. Biomed. AnaL.* 23 , 469 (2000).
- (106)- H.Y.Huang, Y.C.Lai, C.W.Chiu and J.M.Yeh, *J.Chromatogr.A.* 993 , 153 (2003).
- (107)- R. Driouich, T. Takayanagi, M. Oshima, and S. Motomizu, *J.Chromatogr.A.* 903 , 271 (2000).
- (108)- E. Mikami, T.Goto, T.Ohno, H. Matsumoto and M. Nishida, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 28, 261 (2002).
- (109)- A. El-Gindy, F. El-Yazby, A. Moustafa, and M. Maher, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 35 , 703 (2004).
- (110)- E. Bousquet, A. Spadro, N.A.Santagati, S. Scali and G. Ronsisvalle, *J. Pharm . Biomed. Anal.* 30 , 947 (2002).
- (111)- M. Heinanen and C. Barbas, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 24, 1005 (2001).
- (112)- A. El-Bayoumi, M. S. Tawakkol, and J. M. Diab, *Spectrosc. Lett.* 30 .234, (1997)
- (113)- B. Mandrou, F. Bresolle, *J. Assoc Off. Anal. Chem.* 63 , 675 (1980).
- (114)- Y. H. Hou, C. Y. Wu and W. H. Ding, *J. Chromatogr. A.* 976, 207 (2002).

- (115)- G. Santoni, A. Medica, P. Gratteri, S. Furlanetto, and S. Pinzauti, *Farmaco*. 40, 751 (1994)
- (116)- J. V. Wilcznska, J. Tautt and I. Roman, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 34, 909 (2004).
- (117)- J. L. Bernal, M. J. del Nozal, M. T. Martin J. C. Diez-Masa and A. Cifuentes, *J. Chromatogr. A.* 823, 423 (1998).
- (118)- T. Y. Fan and J. M. Wall, *J. Pharm. Sci.* 82, 1172 (1993).
- (119)- K. Kummerer, A. Eitel, U. Bruan, P. Hubner, F. Daschner, G. Mascart, M. Milandri, F. Reinthaler, J. Verhoef, *J. Chromatogr. A.* 774, 281 (1997).
- (120)- S. Gorog, "Ultraviolet -Visible Spectrophotometry in Pharmaceutical Analysis", CRC Press, Boca Raton, FL.(1995) P. 217
- (121)- J. Summanen, H. Vuorela, R. Hiltunen, H. Siren, H., and M. L. Riekkola, *J. Chromatogr. Sci.* 33, 704 (1995).
- (122)- M. M. Delgado-Zamarreno, A. Sanchez-Perez, I. Gonzalez-Maza, and J. Hernandez-Mendez, *J. Chromatogr. A.* 871, 403 (2000).
- (123)- R. M. Saifar, J. C. Kraak, and W. T. Kok, *Anal. Chem.* 69, 2772 (1997).
- (124)- S. L. Abidi, and K. A. Rennick, *J. Chromatogr. A.* 913, 379 (2001).
- (125)- M. C. Boyce, and E. E. Spickett, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 23, 1689, (2000).
- (126)- K. Robards, and S. Dilli, *Analyst.* 112, 933 (1987).
- (127)- S. L. Abidi, *J. Chromatogr. A.* 881, 197 (2000).
- (128)- J. Karovicova, and P. Simko, *J. Chromatogr.* 882, 271 (2000).
- (129)- I. N. Papadoyannis, G. K. Tsioni, and V. F. Samanidau, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 20, 3203 (1997).
- (130)- H. El-Mansouri, P. Delvardre, N. Yagoubi, and D. Ferrier, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 21, 1845 (1998).
- (131)- N. Dimov, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 22, 77 (1999).

- (132)- E. Tutem, R. Apak, E. Gunayd, and K. Sozgen, *Talanta*. 44, 249 (1997).
- (133)- P. C. B. Pranjothy, *Indian Drugs*. 37, 236 (2000).
- (134)- I. A. Al-Meshal, and M. M. A. Hassan, M. M., "Analytical Profiles of Drug Substances", K. Florey, Vol. 11, Academic Press., NY. (1982) P. 45.
- (135)- L. A. Pachla, D. L. Reynolds, and P. T. Kissinger, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 68, 1 (1985).
- (136)- J. Schiewe, Y. Mrestani, and R. Neubert, *J. Chromatogr.* 717, 255 (1995).
- (137)- G. B. Li, C. S. Fan, and C. Z. Xing, *Sepu*. 15, 65 (1997).
- (138)- C. Yin, and Y. T. Wu, *Yaowu Fenxi Zazhi*. 20, 24 (2000).
- (139)- L. D. Mueller, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 25, 985 (2001).
- (140)- E. Gibbons, M. C. Allwood, T. Neal, and G. Hardy, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 25, 605 (2001).
- (141)- S. P. Arya, M. Mahajan, and P. Jain, *Anal. Sci.* 14, 889 (1998).
- (142)- H. N. A. Hassan, B. N. Barsoum, and I. H. I. Habib, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 20, 315 (1999).

## Résumé :

Depuis plusieurs décennies, les pharmaciens sont conscients de la nécessité de protéger leurs produits contre les contaminations microbiens, mais ce n'est qu'au cours de la dernière décennie, voire de deux décennies, que l'on a sérieusement réfléchi à la science de la conservation.

Les conservateurs sont couramment utilisés comme additifs dans les produits pharmaceutiques, les produits alimentaires et cosmétiques. Certaines des préparations liquides sont susceptibles à la contamination microbienne à cause de la nature des ingrédients présents dans celui-ci.

Ces préparations sont protégées par des conservateurs qui évitent la dégradation et altération du produit. Un conservateur est un produit chimique naturel ou synthétique ajouté à divers produits qui aide à prévenir la décomposition microbienne.

Le présent travail traite de l'étude des propriétés idéales, de la classification, mécanisme d'action, les applications pharmaceutiques et son impact sur la santé de divers conservateurs utilisés dans médicaments.

**Mots clés :** Les conservateurs, Antioxydants, Antimicrobiennes, Médicaments

## ABSTRACT :

For several decades pharmacist have been aware of the need to protect their products against microbial contamination but it is only during the last one or perhaps two decades the serious thought of has been applied to the science of preservation.

Preservatives are commonly used as additives in pharmaceutical products, food and cosmetics. Some of the liquid preparations are susceptible to microbial contamination because of the nature of ingredients present in it.

Such preparations are protected by preservatives which avoids degradation and alteration of the product. A preservative is a natural or synthetic chemical added to various products which helps to prevent microbial decomposition.

Present work deals with the study of ideal properties, classification, and mechanism of action, Pharmaceutical applications and its impact on health of various preservatives used in pharmaceuticals.

**Key words:** Preservatives, Antioxidants, Antimicrobials, Drugs.

### المخلص:

منذ عدة عقود كان الصيدلاني على دراية بالحاجة لحماية منتجاتهم من التلوث الجرثومي ، لكن تم تطبيق التفكير الجاد في علم الحفظ فقط خلال العقد الأخير أو العقدين الأخيرين. يشيع استخدام المواد الحافظة كمادة مضافة في المنتجات الصيدلانية والمواد الغذائية ومستحضرات التجميل. بعض المستحضرات السائلة عرضة للتلوث الجرثومي بسبب طبيعة المكونات الموجودة فيه.

تحمي هذه المواد الحافظة المستحضرات التي تتجنب تدهور المنتج وتغييره. المادة الحافظة هي مادة كيميائية طبيعية أو صناعية تضاف إلى مختلف المنتجات مما يساعد على منع التحلل الميكروبي.

تتناول هذه المذكرة دراسة الخصائص المثالية والتصنيف وآلية العمل والتطبيقات الصيدلانية وتأثيرها على صحة المواد الحافظة المختلفة المستخدمة في المستحضرات الصيدلانية

**الكلمات الرئيسية:** المواد الحافظة، والمواد المضادة للاكسدة، مضادات الميكروبات، الأدوية.

<b>MOUDJED Abderrezak</b> <a href="mailto:moujedabdou@gmail.com">moujedabdou@gmail.com</a>	<b>TEMMAR Oussama</b> <a href="mailto:temmarsami@gmail.com">temmarsami@gmail.com</a>	<b>EDDIB Mohamed</b> <a href="mailto:Mohamededdib96@gmail.com">Mohamededdib96@gmail.com</a>
---	---	--

### **Résumé :**

Depuis plusieurs décennies, les pharmaciens sont conscients de la nécessité de protéger leurs produits contre les contaminations microbiens, mais ce n'est qu'au cours de la dernière décennie, voire de deux décennies, que l'on a sérieusement réfléchi à la science de la conservation.

Les conservateurs sont couramment utilisés comme additifs dans les produits pharmaceutiques, les produits alimentaires et cosmétiques. Certaines des préparations liquides sont susceptibles à la contamination microbienne à cause de la nature des ingrédients présents dans celui-ci.

Ces préparations sont protégées par des conservateurs qui évitent la dégradation et altération du produit. Un conservateur est un produit chimique naturel ou synthétique ajouté à divers produits qui aide à prévenir la décomposition microbienne.

Le présent travail traite de l'étude des propriétés idéales, de la classification, mécanisme d'action, les applications pharmaceutiques et son impact sur la santé de divers conservateurs utilisés dans médicaments.

**Mots clés :** Les conservateurs, Antioxydants, Antimicrobiennes, Médicaments.

### **ABSTRACT :**

For several decades pharmacist have been aware of the need to protect their products against microbial contamination but it is only during the last one or perhaps two decades the serious thought of has been applied to the science of preservation.

Preservatives are commonly used as additives in pharmaceutical products, food and cosmetics. Some of the liquid preparations are susceptible to microbial contamination because of the nature of ingredients present in it.

Such preparations are protected by preservatives which avoids degradation and alteration of the product. A preservative is a natural or synthetic chemical added to various products which helps to prevent microbial decomposition.

Present work deals with the study of ideal properties, classification, and mechanism of action, Pharmaceutical applications and its impact on health of various preservatives used in pharmaceuticals.

**Key words:** Preservatives, Antioxidants, Antimicrobials, Drugs.

