
Je tiens à remercier tout particulièrement et à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes, pour l'expérience enrichissante et pleine d'intérêt qu'elles m'ont fait vivre durant toute ma période de stage à PROMOPHARM:

Monsieur S. TAHIRI : Directeur du site industriel, pour m'avoir accueilli au sein de l'entreprise.

Monsieur M. ZOUTEN : Mon maître de stage, Responsable du laboratoire Contrôle Qualité, pour le temps qu'il m'a consacré tout au long de cette période, sachant répondre à toutes mes interrogations ; sans oublier sa participation au cheminement de ce rapport.

Madame K. SKALLI : Responsable du Produit Fini. Son accueil, sa confiance ont rendu ce stage intéressant.

Madame J. JIAR : Responsable des Matières Premières, pour sa patience, l'amabilité et le soutien technique qu'il m'a apporté.

Ainsi que tous les autres qu'ils soient responsables, chefs de secteurs ou bien opérateurs.

Enfin, je remercie vivement tous les membres du jury qui ont voulu accepter d'assister et de juger ce travail, qu'ils veuillent trouver ici l'expression de mes profondes gratitude.

Sommaire

[Glossaire](#)

Introduction	1
Chapitre I : Présentation de PROMOPHARM.....	2
I. Historique.....	3
II. Organigramme	4
III. Description des cycles de production.....	5
1. Pesée et fractionnement	5
2. Fabrication	5
3. Conditionnement primaire.....	6
4. Conditionnement secondaire	6
5. Stockage	6
IV. Laboratoire de contrôle de qualité	7
Chapitre II: Rappel sur le mode d'action des principes actifs étudiés et les techniques de contrôle des médicaments.....	8
I. Définition des principaux concepts.....	9
1. Pharmacopée européenne.....	9
2. Médicament	9
3. Médicament générique.....	9
4. Spécialité pharmaceutique.....	9
5. Substance chimique de référence	9

6. Article de conditionnement	9
7. Lot	10
II. Rappel sur le mode d'action des deux principes actifs: Fluconazole et Sertaconazole Nitrate	10
1. Généralités.....	10
2. Cas du principe actif Fluconazole.....	12
3. Cas du principe actif Sertaconazole Nitrate	13
III. Description de quelques techniques de contrôle des médicaments.....	15
1. Spectroscopie ultra violet et visible	15
2. Chromatographie liquide à haute performance	15
3. Karl fischer	15
4. Viscosimètre	16
5. Test de désagrégation des formes orales solides	16
6. Test de désagrégation des ovules et des suppositoires	16
7. Test de dissolution des formes solides	16
8. Densimètre.....	16
Chapitre III : Suivi des deux principes actifs : Fluconazole et Sertaconazole Nitrate.....	18
A. Cas du Fluconazole	19
I. Présentation de la matière active.....	19
1. Description de la matière.....	19
2. Structure de la molécule	19
3. Nomenclature.....	19
II. Contrôle de la matière première	19
1. Identification du Fluconazole par spectrophotomètre UV-Vis	19
2. Aspect de la solution à 5% dans le méthanol	20
3. Teneur en eau	20
4. Dosage par rapport à la substance anhydre	20
5. Cendres sulfuriques.....	21
6. Métaux lourds	21
7. Fer	22
8. Dosage des impuretés	22
Impureté I	23
Impureté II, III, IV, et V	24
III. Contrôle du produit fini.....	27
1. Description	27
2. Masse moyenne	27

3. Uniformité de masse	27
4. Teneur en eau	27
5. Test de désagrégation.....	28
6. Dosage du Fluconazole par spectrophotométrie.....	28
7. Identification du Fluconazole.....	29
8. Uniformité de teneur.....	31
9. Test de dissolution	31
10. Etanchéité.....	33
B. Cas du Sertaconazole Nitrate	33
I. Présentation de la matière active.....	33
1. Description de la matière.....	33
2. Structure de la molécule	33
3. Nomenclature.....	34
II. Contrôle de la matière première	34
1. Aspect de la solution à 1%	34
2. Identification A : Point de fusion.....	34
3. Identification B : Spectrométrie d'absorption dans l'UV-Vis.....	34
4. Identification D : Chromatographie sur couche mince.....	35
5. Identification E : Réactions des nitrates	36
6. Teneur en eau.....	36
7. Dosage par rapport à la substance anhydre	36
8. Cendres Sulfuriques.....	37
9. Substances apparentées.....	37
III. Contrôle du produit fini.....	40
III.1. Dermofix gel à 2% flacon de 100 g.....	40
III.2. Dermofix poudre flacon de 30g.....	43
A. Contrôle du produit semi œuvré (PSO).	43
B. Contrôle du produit semi fini (PSF).....	43
III.3. Dermofix solution à 2% flacon de 30 ml.....	45
III.4. Gyno-Dermofix 300 mg boîte à un ovule.....	49
III.5. Dermofix crème 2% tube de 30 g.....	52
A. Contrôle du produit semi œuvré (PSO).	52
B. Contrôle du produit semi fini (PSF).....	53
Partie expérimentale.....	58
Conclusion	65
Bibliographie	

Glossaire

Ph. Eu	: Pharmacopée Européenne.
USP	: Pharmacopée de l'Etat Unis.
PA	: Principe actif.
AC	: Article de conditionnement.
SCR	: Substance Chimique de Référence
ET	: Etalon de travail.
EI	: Etalon Interne.
D.O	: Date d'Ouverture.
D.L.U.O	: Date Limite d'Utilisation après Ouverture.
BPF	: Bonnes Pratiques de Fabrication.
ISO	: Organisation Internationale de standardisation.
DMF	: Dossier du Fabricant des Matières Premières.
TR	: Temps de Rétenion.
UV-Vis	: Ultra Violet-Visible.
IR	: Infrarouge.
SI	: Système International.
E	: étalonné.
R	: Réétaloné.
MPF	: Matière Première qui a servie à la Fabrication.
DO	: Densité Optique.
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince.
HPLC	: Chromatographie Liquide à Haute Performance.
ddp	: Différence De Potentiel.
D, M, F	: Début, Milieu, Fin.
rpm	: rotation par minutes.
pH	: Potentiel d'Hydrogène.
ppm	: Partie par million.
PSO	: Produit Semi Œuvré
PSF	: Produit Semi Fini
PF	: Produit Fini
Se	: Surface du pic dans la solution essai.
St	: Surface du pic dans la solution témoin.
Pe	: Prise d'essai de l'échantillon à contrôler.
Pt	: Prise d'essai du témoin.

Bibliographie

-
- [1] : Documents internes à la société.
- [2] : M.MOULIN, A.COQUEREL, Pharmacologie, édition 2, page 11,14, (2002).
- [3] : GERACFAS, Module AS, aide soignant: Module 3, les soins, Volume 3, page 2, (2007).
- [4] : Av. Faure, M. Fontaine et all, Pharmacologie, page 3-4, édition 4, (2007).
- [5] : Pharmacopée Européenne, édition 6.
- [6] : Dominique Chabasse, Claude Guiguen, Nelly Contet-Audonneau, Mycologie médicale, pages 99-109, (1999) - 324 pages.
- [7] : Laurence Million, Antifongique : traitement des mycoses invasives, DIU chimiothérapie anti-infectieuse, décembre 2006.
- [8] : www.effik.fr/dbimages/prodsmc/SPC%20BEAGYNE%20EFFIK.pdf
- [9] : Notices des différentes formes de la spécialité pharmaceutique Dermofix.
- [10] : Notice Mynazol 150 mg.
- [11] : Philippe GALEZ, Techniques Spectroscopiques, Spectrophotométrie UV/visible, (2008/2009).
- [12] : Les contrôles pharmacotechniques Lncpp/cecomed 2010.
- [13] : Dossier technique de Fluconazole.
- [14] : Dossier technique de Mynazol.
- [15] : Pharmacopée Européenne, édition 7.
- [16] : Dossier technique de Sertaconazole.
- [17] : Dossier technique de Dermofix gel à 2 %.
- [18] : Dossier technique de Dermofix poudre.
- [19] : Dossier technique de Dermofix solution à 2%.
- [20] : Dossier technique de Gyno-Dermofix.
- [21] : Dossier technique de Dermofix crème à 2 %.

Introduction

L'industrie pharmaceutique marocaine a connu ces dernières années une évolution tant quantitative que qualitative. L'Organisation Mondiale de la Santé l'a même notée à égalité avec ses consœurs européennes.

Conscient de la place stratégique qu'occupe le médicament dans notre système de santé et de la nécessité d'accompagner. L'industrie pharmaceutique s'occupe d'assurer le contrôle de qualité des médicaments.

Assurer la qualité des médicaments regroupe toutes les mesures prises pour garantir qu'un médicament est sûr, efficace, de bonne qualité et acceptable pour le patient et c'est dans cette mesure que vient l'importance du suivi : afin de juger la conformité à chaque point de contrôle du produit analysé commençant par sa production, et passant par son contrôle qualité jusqu'à sa mise en quarantaine en attente de libération.

Ces raisons et bien d'autres, m'ont mené à effectuer mon stage de fin d'étude dans une industrie pharmaceutique telle que PROMOPHARM, reconnue par sa place dans le marché national et international, son expérience de plus de 20 ans, son outil industriel performant, sa technologie de pointe ainsi que par son personnel qualifié et opérationnel.

Cet établissement est chargé de la fabrication des médicaments génériques dont le brevet de propriété industrielle porte en général sur son principe actif et non sur le mélange avec les excipients nécessaires à l'obtention du produit fini. Des excipients différents, des conditions de fabrication non identiques peuvent être responsables d'altération dans la libération du principe actif à partir d'un comprimé ou d'une capsule.

Outre l'usage des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF), la qualité d'un médicament est principalement conditionnée par la qualité des matières premières utilisées pour sa fabrication.

Notre activité principale a donc consisté à mener des analyses physico-chimiques appliquées à plusieurs médicaments. Elles ont été effectuées sur la base de la pharmacopée Européenne, la pharmacopée des Etats Unis, le DMF (documentation référentielle et confidentielle rédigé par les fournisseurs de matière première) ainsi que sur la base du dossier technique fourni par le laboratoire fabricant des spécialités pharmaceutiques. Ces documents nous apportent les renseignements nécessaires à l'identification et au dosage des produits pharmaceutiques contrôlés ainsi que la recherche du profil impureté.

Dans le présent travail nous présentons le flux analytique de deux principes actifs à savoir le Fluconazole et le Sertaconazole Nitrate qui ont une activité thérapeutique des antifongiques et les différentes formes des spécialités pharmaceutiques qui ont découlent.

A ces fins, ce mémoire s'articule en trois volets :

- ◆ Le premier volet (chapitre 1) est une présentation du laboratoire et ses missions.
- ◆ Le deuxième volet (chapitre 2) sera consacré au mode d'action des médicaments antifongiques et aux méthodes analytiques de contrôle.
- ◆ Le troisième volet (chapitre 3) est réservé à l'étude expérimentale réalisée au sein du laboratoire de contrôle qualité.

Chapitre I :

Présentation de PROMOPHARM S.A

Historique :

1947, pendant la colonisation, les laboratoires LAFRABIOL ont été créés par les français. PROMOPHARM fut créé en 1985 à la suite du rachat des laboratoires LARAFRABIOL par un groupe de pharmaciens marocains. Les laboratoires PROMOPHARM (Société de promotion pharmaceutique du Maghreb) sont devenus de ce fait une entreprise sous contrôle marocain.

Initialement installée à Casablanca, PROMOPHARM a été transférée dès 1997 à Had Soualem, site conçu selon les normes internationales des laboratoires pharmaceutiques. Ce site offre une plus grande capacité de production, et de stockage.

Depuis 2001, l'unité de production de PROMOPHARM s'est agrandie avec la construction d'une nouvelle zone exclusivement réservée à la production de médicament antibiotique de la famille des β -lactamines.

Aujourd'hui PROMOPHARM relève le défi d'une croissance soutenue grâce notamment à l'acquisition de nouvelles licences de fabrication, de représentation et de distribution de médicaments. Ce partenariat avec des laboratoires pharmaceutiques aussi connues que BOUCHARA et CHIESI, couplé avec la volonté de développer des médicaments génériques, a permis à PROMOPHARM de consolider sa position dans la carte industrielle marocaine.

A fin d'améliorer la qualité de ses produits et de consolider sa position sur le marché, PROMOPHARM est entrée dans une dynamique d'amélioration continue, en effet le site est certifié ISO 9001.

Le développement et la diversité du catalogue de PROMOPHARM concernant les produits essentiellement génériques lui permettent, aujourd'hui, de consolider et de diversifier son exportation vers d'autres horizons.

La politique d'investissement en ressources humaines et en équipement dernière génération s'est révélée payante puisqu'elle a permis le développement et l'enrichissement de son catalogue. Cela permettra inévitablement de conquérir d'autres marchés, devenus aujourd'hui à sa portée.

II.kklmkl

Description des cycles de production [1]:

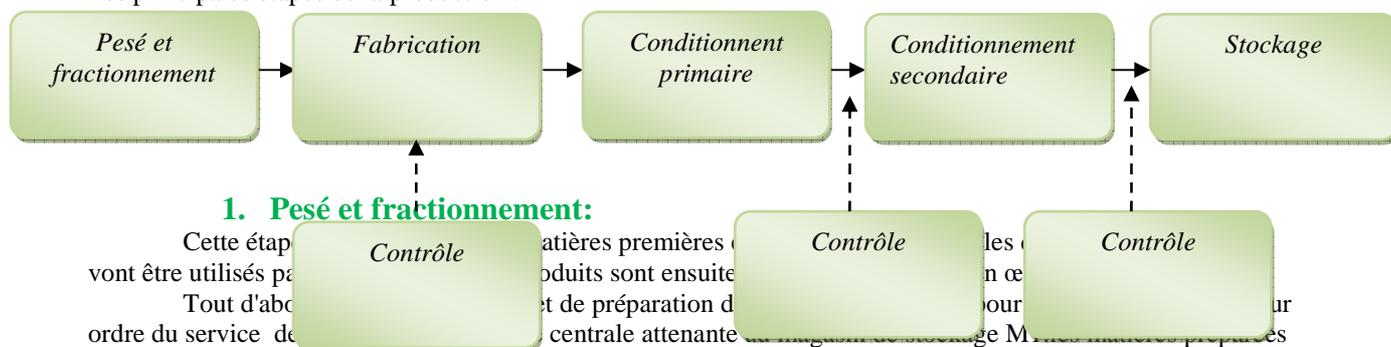
Les ateliers de production sont regroupés en fonction des formes galéniques qui y sont fabriquées. Ils sont identifiés par un étiquetage indiquant, à tout moment, les activités qui s'y déroulent. Chaque groupe d'ateliers est encadré directement par un agent de maîtrise qui supervise tous les actes pharmaceutiques qui s'y déroulent et veille au respect des normes, des procédures et des règles de traçabilité.

☞ procédés de fabrication:

Les procédés de fabrication répondent à des charges bien précis, formalisés spécifiques à chaque produit, disponibles sur les lieux de travail. La stricte application des procédures est garantie par des enregistrements sur les dossiers de lot (traçabilité) et contrôlée à divers niveaux :

- ◆ Opérateur ;
- ◆ Agent de maîtrise ;
- ◆ Responsable de production ;
- ◆ Assurance qualité avant libération du produit fini

Les principales étapes de la production :



1. Pesé et fractionnement:

Cette étape consiste à peser et à fractionner les matières premières qui vont être utilisées pour la fabrication. Les produits sont ensuite conditionnés. Tout d'abord, les matières premières sont envoyées au service de préparation de l'ordre du service de pharmacie centrale attenante au Centre de Recherche. Les matières sont ensuite regroupées et livrées à chaque atelier, 24 heures avant la date prévue pour la fabrication. Ces matières sont vérifiées avant leurs mises en œuvre (pesée, étiquetage, etc...). Un système d'identification des articles de conditionnements par code à barre a été mis en place en 2006.

2. Fabrication:

Les Matières premières subissent un traitement spécifique indiqué dans un protocole de fabrication précisent non seulement les différents étapes du process mais, également les conditions de température, de processus, de filtration d'air, de stérilisation, etc qui doivent être respecté.

3. Conditionnement primaire:

Le produit semi-ouvert (PSO) obtenu est ensuite dans son conditionnement primaire (en contact direct avec les produits): blisters ou piluliers pour les comprimés et les gélules, flacons pour les sirops, tubes pour les pommades et ampoules pour les injectables et les buvables.

4. Conditionnement secondaire:

Le produit semi-fini (PSF) obtenu précédemment est emballé dans son conditionnement secondaire (sans contact avec le produit). Le produit est ainsi mis en étui, ensuite en carton. Celui-ci doit laisser apparaître clairement le nom du produit, son dosage, sa présentation, son prix, son numéro de lot et sa date de péremption.

5. Stockage:

Les lots de produits finis sont ensuite transférés, en quarantaine au magasin de distribution, en attente d'une libération à l'assurance qualité ; ils seront alors disponibles pour la vente. Le cycle de production de Promopharm S.A varie selon les produits et les formes de galéniques à produire. Le processus de fabrication par forme se présente comme suit :

Formes solides:

Les produits solides se présentent sous la forme de gélules, de comprimés ou de sachets. Leur production est entièrement automatisée. Les procédés utilisés sont essentiellement les granulations par voie humide ou sèche, le séchage en étuve ou en lit d'air fluidisé et la lubrification.

Différents équipements de capacités différentes permettent d'adapter les tailles de lots aux besoins du marché.

Formes pâteuses:

Trois chaînes de production sont spécialisées dans la fabrication de formes pâteuses comprenant les suppositoires, les pommades dermatologiques et les pommades ophtalmologiques. Ces chaînes sont entièrement automatisées.

Formes liquides:

Les formes liquides se présentent sous la forme de sirops, de gouttes et d'ampoules buvables. Le processus de fabrication de sirops et des gouttes est identique.

Forme injectable:

Pour les injectables et étant donné la nature des produits fabriqués (thermostables), Promopharm S.A utilise des ampoules à col fermé. Ces produits sont fabriqués en salle blanche et les solutions obtenues sont filtrées sur filtres 0,22 µ. Enfin, la répartition est effectuée en milieu stérile sous hotte à flux laminaire.

Tous les produits subissent une stérilisation terminale par passage à l'autoclave (chaleur humide). Les cycles utilisés sont exécutés de façon automatique, avec édition de rapports, évitant ainsi les risques d'erreurs inhérents aux manipulations.

Laboratoire de contrôle de qualité :

Parallèlement à chaque étape du processus de production et à la fin de l'étape de conditionnement secondaire, le produit subit des contrôles devant garantir que le lot fabriqué respecte au moins toutes les prescriptions réglementaires figurant dans le dossier d'ADSP. Cette étape est suivie d'un examen complet de tous les éléments du dossier de lot (enregistrement des différents actes effectués) par l'assurance de qualité, avant d'autoriser la mise en vente du lot.

Le laboratoire contrôle qualité de PROMOPHARM S.A. se compose de 5 unités :

- Unité Produit Fini ;
- Unité Matières Premières et Articles de Conditionnement ;
- Unité d'étude de stabilité ;
- Unité validation technique analytique et procédé de fabrication ;
- Unité de microbiologie.

Le département assurance qualité veille, quand à lui, à l'application stricte des procédures de fabrication. Sa mission consiste également à gérer la mise en place de la documentation technique, assurer le suivi des conditionnements d'environnement, et participer activement à la formation du personnel.

Chapitre II :

Rappel sur le mode d'action des principes actifs étudiés et les techniques de contrôle des médicaments.

Avant d'entamer la partie principale du présent travail, il s'avère nécessaire de faire un rappel sur le médicament et son environnement.

Définition des principaux concepts :

1. Pharmacopée européenne [1]:

Institution du Conseil de l'Europe qui a pour but l'élaboration d'une pharmacopée commune c'est-à-dire un ouvrage réglementaire destiné à être utilisé par les professionnels de la santé dont elle définit les critères de pureté des matières premières ou des préparations entrant dans la fabrication des médicaments et les méthodes d'analyses à utiliser pour en assurer leur contrôle.

2. Médicament [2]:

On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques.

Les principaux constituants du médicament sont [3]:

Principe actif : Le principe actif (PA) est une substance responsable de l'action thérapeutique du médicament. Cette dernière a été établie par des études chimiques, toxicologiques et pharmacologiques.

Excipients : L'excipient ou les excipients sont des composants sans action pharmacologique mais ils sont nécessaires pour donner au médicament une forme utilisable, assurer sa conservation, lui donner un arôme ou une couleur.

Les plus courants sont l'amidon, le sucre, la gélatine, les graisses, les huiles, l'eau, l'alcool...

3. Médicament générique [2]:

Un médicament générique est une copie d'un médicament original (princeps) dont la production et la commercialisation sont rendues possibles notamment par la chute des brevets dans le domaine public, une fois écoulée la période légale de protection.

4. Spécialité pharmaceutique [4]:

Tout médicament préparé à l'avance, présenté sous un conditionnement particulier et caractérisé par une dénomination spéciale.

5. Substance Chimique de Référence (SCR) [5]:

Substance ou mélange de substances destinées à être utilisées selon les indications d'une monographie. Les SCR sont des étalons primaires.

6. Article de conditionnement:

Tout élément utilisé lors du conditionnement d'un médicament, à l'exception de l'emballage qui est destiné au transport ou à l'expédition. Les articles de conditionnement sont appelés primaires ou extérieurs selon leur destination à être en contact direct avec le médicament ou non.

7. Lot:

Quantité définie d'une matière première, d'un article de conditionnement ou d'un produit fabriqué en une opération ou en une série d'opérations, telles qu'elles puissent être considérées homogènes.

Rappel sur le mode d'action des deux principes actifs : Fluconazole et Sertaconazole Nitrate

1. Généralités :

Toute substance susceptible d'agir sur la cellule fongique doit être capable de traverser la paroi chitineuse et épaisse du champignon. La plupart des antifongiques agissent sur les stérols membranaires, principalement sur l'ergostérol constituant essentiel de la membrane cytoplasmique du champignon (Figure 1). [6]

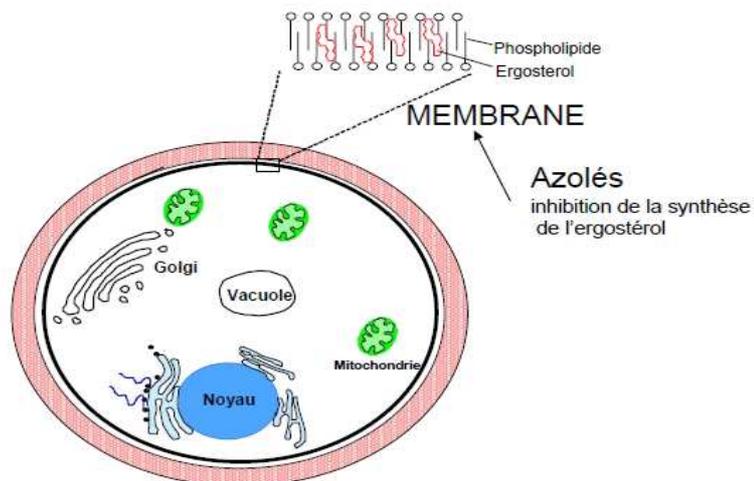


Figure 1: Zoom sur l'ergostérol : constituant essentiel de la membrane fongique. [7]

Cette action résulte de l'inhibition du cytochrome P 450 catalyseur de la 14 α -déméthylase enzyme participant à la synthèse de l'ergostérol entraînant une accumulation des précurseurs α -méthylés (lanostérol, éburicol, obtusifolione, etc.) et donc une modification de la fluidité membranaire (Figure 2) ou de la formation avec ce dernier des complexes insolubles qui altèrent la perméabilité de la membrane cytoplasmique (Figure 3). [4]

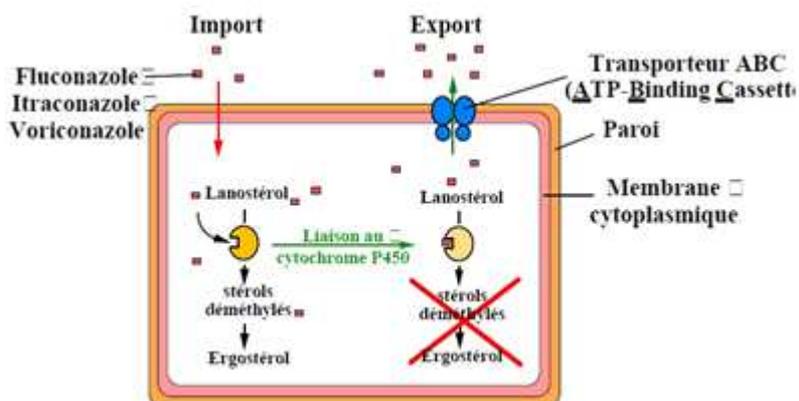


Figure 2: inhibition de la 14 α -déméthylase, déplétion d'ergostérol et accumulation de métabolites intermédiaires. [7]

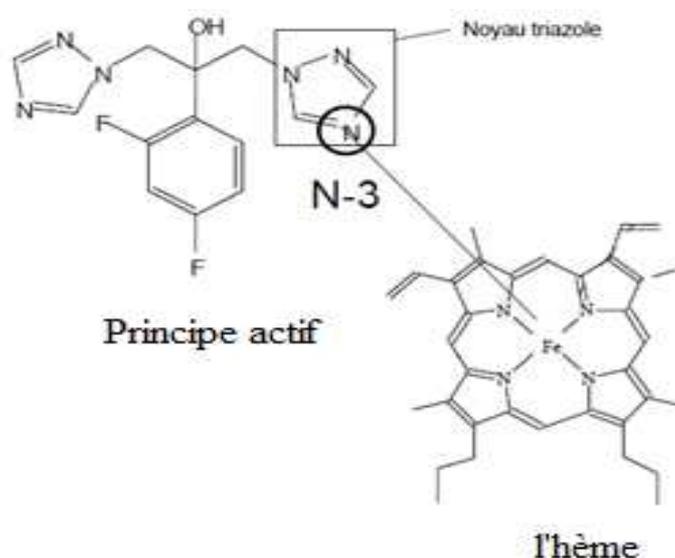


Figure 3: Liaison au cytochrome P450 par la molécule d'azote en position N-3 du noyau triazole au fer de l'hème. [7]

(L'hème : association des protéines qui ont comme centre un atome minéral).

Quelques rares antifongiques agissent en perturbant la synthèse de la paroi fongique. D'autres agissent sur le métabolisme intracellulaire. Pour certains produits les actions sont multiples. [6]

Paroi	Membrane cytoplasmique	Métabolisme intracellulaire
cilofungine	polyènes	ciclopiroxolamine
échinocandine	azolés	polyènes
aculacéine	tolnaftate	Griséofulvine
allylamines	allylamines	5- fluorocytosine
morpholine	morpholine	

Tableau 1: Sites d'action des antifongiques.

L'efficacité des dérivés azolés (imidazolés, triazolés) s'explique par leur affinité plus grande pour la 14 α -déméthylase fongique que pour celle des cellules mammifères. En intervenant aussi au niveau du métabolisme oxydatif et peroxydatif, ils entraînent une accumulation de peroxyde d'oxygène qui aboutit à l'asphyxie de la cellule fongique.

Les dérivés azolés ont un large spectre d'activité. Certaines levures (*Candida Krusei*, *C.glabrata*, etc.) ont une sensibilité diminuée ou nulle à ces produits. [6]

2. Cas du principe actif Fluconazole :

Le Fluconazole est un principe actif dont la structure chimique contient un dérivé triazolé. Le Fluconazole est un antifongique ayant comme cible d'action la membrane fongique, son mécanisme d'action consiste à inhiber la synthèse de l'ergostérol, stérol majeur de la membrane des champignons. Il bloque la 14 α -déméthylase, dépendante du cytochrome P450, entraînant une accumulation des précurseurs α -méthylés et donc une modification de la fluidité membranaire.

❖ Propriétés pharmacocinétiques :

- Absorption importante (90%)
- Demi-vie prolongée (30 h)
- Fixation protéique (10%)
- Elimination urinaire 70 à 90 %

Antifongique de choix dans le traitement des mycoses urinaires.

❖ Propriétés pharmacodynamiques :

Le Fluconazole est un agent antifongique bis triazolé utilisable par voie orale. Il agit en inhibant la biosynthèse de l'ergostérol d'origine fongique. Il est plus spécifique de la synthèse des stérols des champignons que de celle des stérols des mammifères. L'activité in vivo du Fluconazole paraît nettement plus marquée que ne le laissent éventuellement prévoir les tests in vitro.

❖ Espèces habituellement sensibles :

Candida en particulier *albicans* - *Cryptococcus neoformans*.

❖ Espèces habituellement résistantes :

Candida krusei - Dermatophytes (*microsporum*, *trichophyton*). [8]

❖ Indications thérapeutique :

- Candidoses vaginales et périnéales, aiguës et récidivantes.
- Toxicité hématologique chez l'immunodéprimé.
- Balanites candidosiques.
- Dermoépidermomycoses
- Candidoses buccales atrophiques.
- Cryptococcoses neuroméningées
- Candidoses systémiques incluant les candidoses disséminées et profondes.

❖ **Contre indications :**

- Hypersensibilité au Fluconazole et/ou à d'autres dérivées azolés ou à l'un des constituants.
- Association avec le Cisapride : risque majoré de troubles du rythme ventriculaire, notamment de torsades de pointes.
- Grossesses et allaitement.
- En raison de la présence de lactose, ce médicament est contre indiqué en cas de galactosémie congénitale, de syndrome de malabsorption du glucose et du galactose ou de déficit en lactase.

◆ **Effet indésirables :**

- Nausées
- Douleurs abdominales
- Vomissement
- Diarrhées. ^[9]

3. Cas du principe actif Sertaconazole Nitrate:

Au Maroc, le nitrate de sertaconazole est commercialisé sous forme de Dermofix crème à 2%, gel à 2%, solution à 2%, poudre, et aussi sous forme de Gyno-Dermofix. Le mécanisme d'action est un effet inhibiteur sur la synthèse de l'ergostérol.

Le Sertaconazole nitrate est parmi les antifongiques qui ont la particularité d'associer un composant imidazolé et un ion nitrate.

L'action propre de l'ion nitrate NO_3^- n'a, semble-t-il, jusqu'à présent, jamais été évoquée. On sait pourtant, dans un autre domaine, que, du fait de leur réduction bactérienne en nitrites, les nitrates salivaires jouent un rôle majeur dans la prévention des mycoses buccales.

Il serait intéressant que, dans les études à venir, de chercher à évaluer les effets antimycosiques respectifs du composant imidazolé et de l'ion nitrate.

Les propriétés pharmacologiques et d'autres indications thérapeutiques sont résumés dans le tableau ci-dessous : [10]



Description de quelques techniques de contrôle des médicaments:

Afin de recueillir le maximum d'informations possibles sur la qualité des médicaments, PROMOPHARM assure le contrôle dans le cadre de la législation et de la réglementation en vigueur. Plusieurs techniques physico-chimiques sont donc utilisées.

La norme ISO9001 stipule que les équipements de mesure doivent être étalonnés ou vérifiés à intervalles spécifiés, ou avant utilisation, afin d'obtenir des résultats de mesure fiables et pour garantir la sécurité des processus.

Ces méthodes sont décrites brièvement dans ce chapitre.

1. Spectroscopie ultra violet et visible [11]:

La spectrophotométrie UV / Visible repose sur l'interaction du rayonnement électromagnétique et de la matière dans le domaine s'étendant du proche UV au très proche IR soit entre 180 et 1100 nm.

L'absorption UV visible est une technique de dosage et d'identification des molécules qui ont la propriété d'absorber les radiations de courtes longueurs d'onde.

2. Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC):

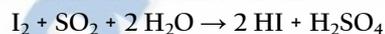
La chromatographie liquide à haute performance constitue une technique séparative très générale d'emploi ou pratiquement la seule obligation pour l'échantillon est d'être soluble dans la phase mobile.

Cette technique analytique permet la séparation d'un ou de plusieurs composés d'un mélange pour leur identification et leur quantification.

Le principe repose sur les équilibres de concentration qui apparaissent entre deux phases dont l'une est dite stationnaire, généralement emprisonnée dans une colonne et l'autre, dite mobile qui se déplace par rapport à la phase fixe et qui induit un entrainement différentielle des composés dans la colonne et donc conduit à leur séparation.

3. Karl Fischer:

Le dosage de l'eau par la méthode de Karl Fischer repose sur la réaction quantitative entre l'eau et un réactif de Karl Fischer composé de SO_2 et I_2 selon le schéma réactionnel suivant:



Le méthanol anhydre peut être utilisé comme solvant pour solubiliser les échantillons, alors qu'une base faible, l'imidazole, est introduite dans le système afin de neutraliser l'acide sulfurique produit et ainsi déplacer l'équilibre chimique vers la droite.

Il est primordial que l'échantillon analysé soit soluble dans le méthanol pour qu'un titrage direct soit réalisable.

L'appareil procédera à un pré-titrage, qui permet d'éliminer l'eau présente dans le système.

Une agitation constante du milieu réactionnel permet d'assurer l'homogénéité de la conduction ionique, et par le fait même la reproductibilité des résultats analytiques.

4. Viscosimètre:

Le viscosimètre Brookfield permet d'évaluer la viscosité à différents gradients de vitesse et de quantifier la dégradation d'un échantillon.

Le principe de mesure de la viscosité retenu par Brookfield est d'appliquer une force de mouvement à un produit en mettant en rotation à vitesse fixe, un mobile de taille fixe. La résistance du produit au mouvement de rotation du mobile est enregistrée à l'aide d'un ressort spiralé interne, puis convertie en unité viscosimétrique. Afin d'élargir les plages de viscosité mesurables, plusieurs spindles, vitesses et types de ressort sont utilisés.

La viscosité est exprimée en unités centipoises visualisées en « cP » en système CGS ou en milliPascal.secondes visualisées en « mPa.s » en S.I. ($1 \text{ cP} = 1 \text{ mPa.s}$).



5. Test de désagrégation des formes orales solides [12]:

Principe : Cet essai est destiné à déterminer l'aptitude des comprimés ou des capsules à se désagréger dans un temps prescrit en milieu liquide et dans des conditions expérimentales décrites dans la technique de contrôle.

La désagrégation n'implique pas une dissolution complète de l'unité soumise à l'essai ni même de son composant actif.

La désagrégation est complète lorsqu'il ne subsiste aucun résidu sur la grille à l'exception des fragments insolubles de l'enrobage et s'il reste un résidu il ne doit pas contenir un noyau palpable.

6. Test de désagrégation des ovules et des suppositoires [12]:

Cet essai est destiné à déterminer la plus ou moins grande aptitude des suppositoires ou des ovules à se ramollir ou se désagréger, en milieu liquide, dans le temps prescrit en utilisant l'appareil dans des conditions expérimentales bien définies.

L'essai est réalisé sur 3 échantillons testés simultanément. Les compartiments échantillons sont positionnés à 180°, le bain à une contenance de 12 litres (4 pour chaque échantillon).

7. Test de dissolution des formes solides [12]:

Cet essai est destiné à :

- Déterminer la vitesse de dissolution des principes actifs des formes solides dans des conditions opératoires bien définies relatives au produit à contrôler (T= 37°C, temps, milieu, et vitesse).

- Estimer la libération du principe actif de sa forme galénique dans tractus digestif.

Il faut noter que toutes les parties de l'appareil qui peuvent être en contact avec l'échantillon ou avec le milieu de dissolution sont chimiquement inertes, n'absorbent pas la substance à examiner, ne réagissent pas en sa présence et n'influencent pas son comportement. Donc toutes les parties métalliques en contact avec le milieu doivent être en acier inoxydable.

8. Densimètre:

Les densimètres DE40 permettent de déterminer les masses volumiques d'échantillons liquides et de calculer la densité à une certaine température.

Son principe consiste à mesurer la fréquence de vibration d'un tube creux rempli avec l'échantillon et de la convertir en densité. En effet, plus la masse de l'échantillon est élevée, moins la fréquence est élevée.

N.B: La stabilisation de température est indispensable pour la détermination correcte de la masse volumique car cette dernière dépend fortement de la température.

Lors de l'injection de l'échantillon, il faut éviter la formation des bulles d'air.

Les contrôles pharmacotechniques restent incontournables dans l'évaluation de la qualité des médicaments car ils fournissent une idée sur le comportement du produit in vivo à savoir la libération du principe actif de sa forme galénique, l'aptitude à se désagréger dans un temps prescrit ...



Chapitre III :

Suivi des deux principes actifs :

- *Fluconazole*
- *Sertaconazole Nitrate*

Dans ce chapitre nous nous sommes intéressés au flux analytique des deux principes actifs à savoir le Fluconazole et le Sertaconazole Nitrate, ainsi que des produits finis qui en découlent.

A. Cas du Fluconazole lot : C100194:

I. Présentation de la matière active:

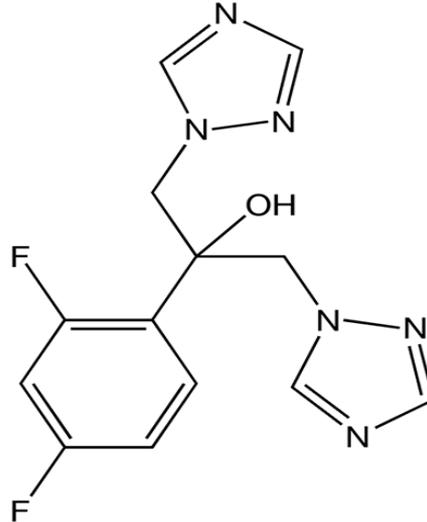
1. Description de la matière [5]:



Il s'agit de poudre fine, microcristalline, blanche et hygroscopique.

Le Fluconazole a pour formule brute $C_{13}H_{12}F_2N_6O$. Il est facilement soluble dans le méthanol, soluble dans l'acétone et peu soluble dans l'eau.

2. Structure de la molécule:



$C_{13}H_{12}F_2N_6O$

$M = 306.3 \text{ g/mol}$.

3. Nomenclature:

2-(2,4-difluorophényl)-1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol.

II. Contrôle de la matière première [13]:

La matière première est réceptionnée dans des fûts.

Pour le cas des principes actifs, on prépare un homogène pour chaque 5 fûts compte aux excipients, un homogène est préparé par un nombre de fût dépassant 50.

1. Identification du Fluconazole par spectrophotomètre UV-Visible:

L'identification du Fluconazole a été réalisée sur un appareil spectrophotomètre UV visible.

a. Préparation des solutions :

Solvant : HCl 0,01 N méthanolique : 25 ml de HCl 0,1 N lot : NC0320 (préparé le : 26/02/10 ; péremp le : 13/03/10) compléter à 250 ml avec du méthanol.

Solution témoin : 25 mg de Fluconazole SCR lot : FLO 1-07 compléter à 50 ml avec le solvant.

Solution essai : P (fût1) = 25,1 mg ; P (fût2) = 25,2 mg compléter à 50 ml le même solvant.

b. Résultats et discussions :

On effectue un balayage de longueur d'onde entre 220,1 et 340 nm, les spectres enregistrés sont les suivants :

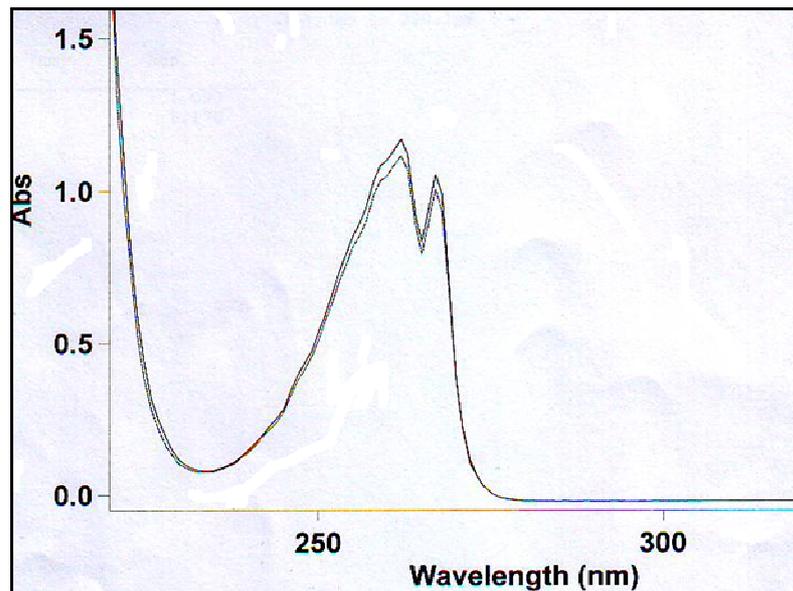


Figure 4: spectre de l'essai et du témoin

Le spectre relatif à la matière première présente une allure similaire à celui de la substance chimique de référence. En effet, la position des bandes d'absorption et leurs intensités relatives sont pratiquement les mêmes. Ceci indique qu'il s'agit de la même substance.

2. Aspect de la solution à 5% dans le méthanol:

On dissolvait une prise d'essai de 500,2 mg de la matière à examiner lot : K39348009 dans le méthanol et on complète à 10 ml avec le même solvant.

La Solution est limpide et incolore, ce qui est en concordance avec le dossier technique.

3. Teneur en eau : exigence : $\leq 0,5$ %.

En utilisant un Karl Fischer Titrator, on détermine la teneur en eau sur une pesée entre 0,1 et 0,2 g de la matière, on trouve :

$$T_e = 0,0598 \%$$

Donc nos résultats comparés aux spécifications du dossier technique sont conformes.

4. Dosage par rapport à la substance anhydre: exigence : 98 à 102%

Le dosage du Fluconazole a été réalisé par potentiométrie dont la solution titrante est l'acide perchlorique 0,1 M lot : NC 0363.

a. Préparation des solutions :

On dissolvait 110,5 mg de Fluconazole dans 60 ml d'acide acétique anhydre et on titre par l'acide perchlorique 0,1 M. Le point de fin de titrage est déterminé par potentiométrie.

1 ml d'acide perchlorique 0,1 M correspond à 15,32 mg de Fluconazole.

b. Résultats et discussions :

On procède d'abord à un dosage de la teneur en eau, la valeur obtenue est retirée de la formule du calcul du dosage par rapport à la substance anhydre.

Pour ceci, la teneur en eau et le dosage par rapport à la substance anhydre doivent se faire le même jour pour éviter que la matière prenne l'humidité.



Le titre par rapport à la substance anhydre est calculé comme suivant :

$$T = \frac{V \times 15,315}{P_e(mg)} \times 100 \times \frac{100}{100 - T_e}$$

$$T = 100,5154 \%$$

Volume de titration : 7, 248 ml ; avec : $T_e = 0,0598\%$

La valeur trouvée est en accord avec les exigences du dossier technique, donc nos résultats obtenus sont conformes.

5. Cendres sulfuriques : exigence : $\leq 0,2 \%$

Déterminé sur une prise d'essai de $P_e = 1,0804$ g de Fluconazole.

Le pourcentage des cendres sulfuriques susceptible d'être présent dans la matière est calculé comme suit :

$$\%C_s = \frac{T_f - T_v}{P_e} \times 100$$

$$\%C_s = 0\%$$

Avec: $T_f = 29,6098$ g ; $T_v = 29,6098$ g ;

Notre matière active est exempte des cendres sulfuriques. Résultat dans les normes.

6. Métaux lourds : exigence : ≤ 20 ppm.

Ce test est déterminé selon le mode opératoire décrit dans la pharmacopée de l'Etat Unis (USP).

a. Préparation des solutions :

Solution témoin : 2 ml d'une solution à 20 ppm de Pb, diluer à 25 ml avec H_2O . Ajuster le pH entre 3-4 avec l'acide acétique 1N ou l'hydroxyde d'ammonium 6 N selon la nature de la solution, compléter à 40 ml avec H_2O , agitation.

Solution essai : A 2 g de la matière à examiner ajouter une quantité suffisante de H_2SO_4 cc pour solubiliser la matière, mener sur plaque chauffante pour carbonisation puis 2 ml d'acide nitrique (HNO_3) et 5 gouttes de H_2SO_4 cc, porter à une température entre 500-600 °C jusqu'à carbonisation totale (jusqu'à coloration blanche), refroidissement, ajouter 4 ml HCl 6 N, évaporation. Au résidu, ajouter 1 goutte de HCl puis 10 ml H_2O chaude, laisser reposer 2 min. Diluer à 25 ml, ajuster le pH entre 3-4 avec l'acide acétique 1N ou l'hydroxyde d'ammonium 6 N avec papier pH et compléter à 40 ml.

Aux deux solutions, ajouter 2 ml tampon pH 3,5 et 1,2 ml de thioacétamide compléter à 50 ml et laisser reposer 2 min. comparer la coloration des deux solutions.

b. Résultats et discussions :

Théoriquement, la coloration brune de l'essai doit être moins intense que celle du témoin.

Dans notre cas, la coloration brune de l'essai est limite qu'à celle du témoin donc le résultat est conforme. Notre matière ne contient pas de métaux lourds.

7. Fer : exigence : ≤ 20 ppm.

Ce test est réalisé selon la méthode adoptée par le fabricant décrite dans le Dossier des Matières premières du Fabricant (DMF) car ce dernier adopte un certain nombre d'analyse qu'il valide en se basant sur des normes plus rétrécit par rapport à toutes les monographies (plus exigeant) :

a. Préparation des solutions :

Solution essai : Dans un creuset en porcelaine, on met 1 g de la matière à examiner, et on procède à une calcination à flamme jusqu'à élimination des vapeurs, mener à 600 °C jusqu'à carbonisation, refroidissement, ajouter 10 ml de HCl dilué et porter à chauffage 1 min, refroidissement, filtration, et on refait la même chose avec 10 ml de HCl dilué, enfin rincer le filtre dans une fiole de 50ml avec H_2O afin de récupérer le mélange.

Solution témoin : dans une fiole de 50 ml, on introduit 1 ml d'une solution à 10 ppm de fer qsp à 50 ml avec l'eau.

Procédure : à chaque solution, on ajoute 2 ml d'acide citrique à 20% et 0,1 ml d'acide thioglycolique, agitation, alcalinisation avec l'ammoniaque concentrée, compléter à 50 ml H_2O , agitation, repos 5 min. Et on compare la coloration des deux solutions.



b. Résultats et discussions:

L'absence de la coloration rose au niveau de la solution à examiner confirme que la solution essai est exempte des traces de Fer, donc conforme.

8. Dosage des impuretés:

Le contrôle des impuretés dans les produits pharmaceutiques fait l'objet d'une préoccupation essentielle des analystes de l'industrie pharmaceutique et d'une attente particulière des autorités de santé. Il s'agit de s'assurer non seulement de la qualité du produit fini, mais également de la matière première dont il est fabriqué. La recherche du profil impureté dans notre matière active va suivre deux chemins différents de point de vue préparation, compositions des solutions et conditions chromatographiques en Impureté I et Impuretés II, III, IV, V.

❖ **Impureté I :**

a. Préparation des solutions :

Solution Tampon : on dissout dans 1 l d'eau une quantité de 1,0270 g de l'ammonium dihydrogène phosphate NaH_2PO_4 lot : 408073/1 et 500,2 mg d'hexane sulfonique acide sodium sel monohydrate lot : 016K5425. Ajuster le pH à 4 avec l'acide phosphorique H_3PO_4 dilué lot : BCBB0522.

Phase mobile lot: 10157: Tampon pH 4, Acétonitrile CH_3CN lot: 14506308 (85:15 V/V).

Solution Témoin 1: On dissout 25,06 mg du Fluconazole impureté I SCR lot: MP9150 dans une fiole de 50 ml, compléter avec l'acétonitrile.

Dilution : 1/ 50 ml et on complète avec la phase mobile.

Solution Témoin 2: On dissout 25,08 mg du Fluconazole étalon lot : FLO 1-07 dans une fiole de 50 ml, et on complète avec l'acétonitrile.

Dilution : 1/ 50 ml puis compléter avec la phase mobile.

Solution essai: On dissout 50,13 mg de Fluconazole, on fait une dilution à 10 ml avec la phase mobile.

Test de suitability: Ce test a pour but d'écarter tous problème dû au système.

- ♣ Injecter 6 fois la solution témoin.
- ♣ Le RSD est $< 5\%$: chaîne validée.
- ♣ La résolution entre le pic de l'impureté I et celui du Fluconazole est de l'ordre de 7 (n'est pas inférieur à 3). Ce qui prouve que le système chromatographique est conforme.

b. Résultats et discussions :

Les figures ci-dessous présentent les différents chromatogrammes réalisés pour identifier les impuretés dans le Fluconazole.

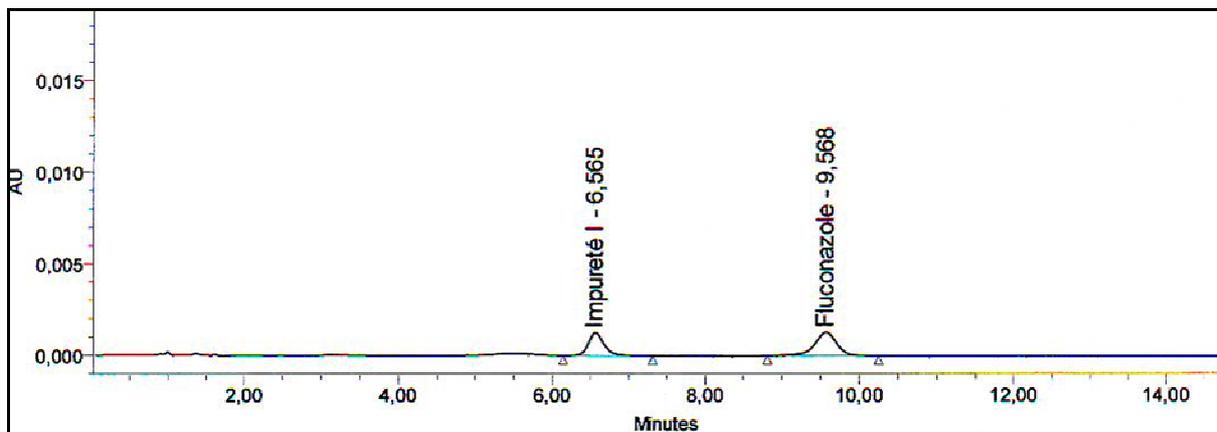


Figure 5: Chromatogramme témoin de l'impureté I Fluconazole.

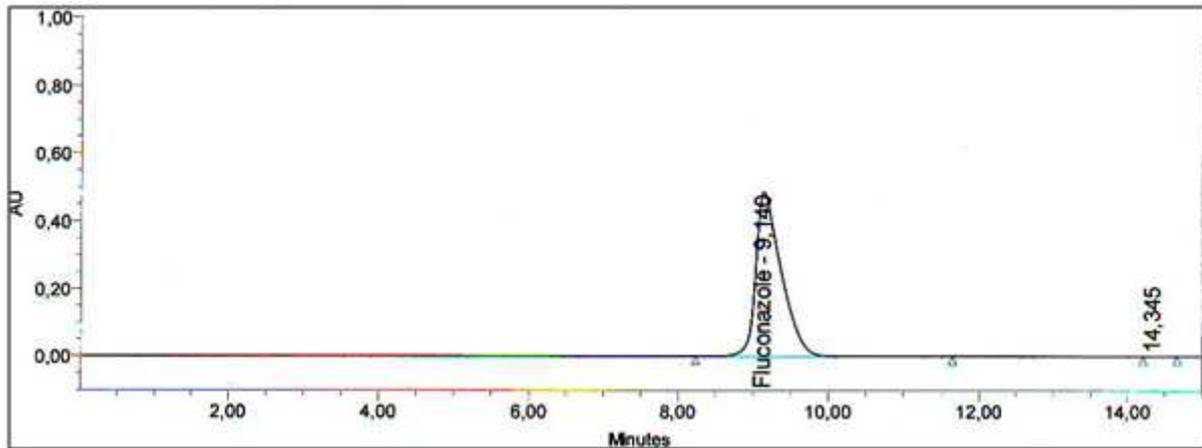


Figure 6: Chromatogramme essai de l'impureté I Fluconazole.

Pour le chromatogramme blanc, il ne présente aucun pic.

D'après les chromatogrammes, on constate que :

- ◆ Le pic du Fluconazole dans le chromatogramme témoin sort à un temps de rétention de 9,568 min voisin que celui dans le chromatogramme essai ($T_R = 9,140$ min) ce qui identifie bien l'existence du Fluconazole dans notre principe actif.
- ◆ *L'impureté I est non détectée* du fait que le chromatogramme essai ne présente aucun pic représentatif de cette dernière.
- ❖ Impureté II, III, IV, et V :

a. Préparation des solutions :

Solution Tampon: On dissout une prise d'essai de 1,6438 g de sodium acétate anhydre lot : 445372/1 compléter à 2 l avec l'eau distillée, ajuster le pH à 5 avec l'acide acétique lot : 80790.

Phase mobile lot: 10149: Méthanol lot: K40120207-921/Acétonitrile lot: 1450630 835 en mode gradient.

Solution essai: On dissout 100,02 mg de Fluconazole dans 7,5 ml de méthanol et on complète à 50 ml avec le tampon.

Solution Témoin: On dissout 20 mg de chaque impuretés (II, III, IV, et V) et 20,03 mg Fluconazole Etalon de Travail (ET) lot : FLO 1-07 dans le méthanol et on complète avec le même solvant. Ensuite, on transfère 2 ml de chaque solution dans une fiole de 100 ml, on ajoute 7,5 ml de méthanol et on complète au volume avec le tampon.

Solution blanc: On dissout 7,5 ml de méthanol dans 50 ml, et on complète avec le tampon.

Les solutions préparées seront injectées dans le système chromatographique selon les conditions prescrites dans le dossier technique.

b. Résultats et discussions :

Les figures ci-dessous présentent les chromatogrammes du blanc et celui de l'essai :

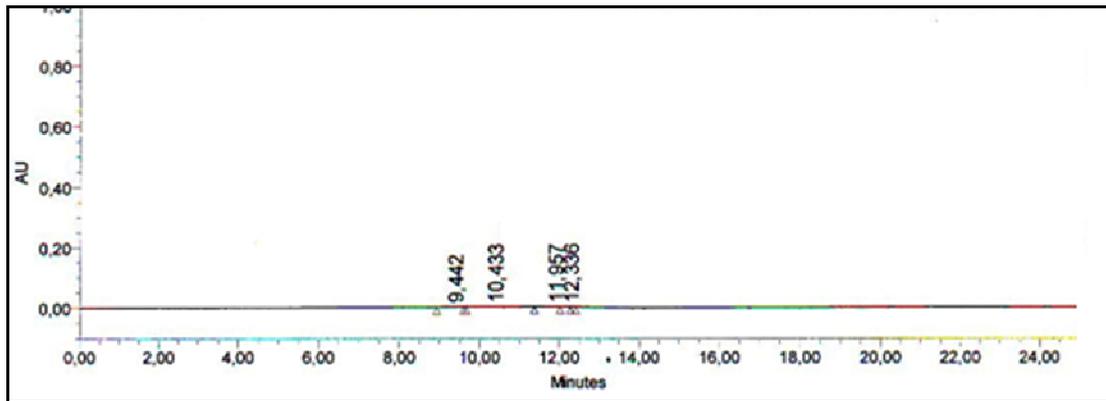


Figure 7: Chromatogramme blanc des impuretés II, III, IV, V Fluconazole.

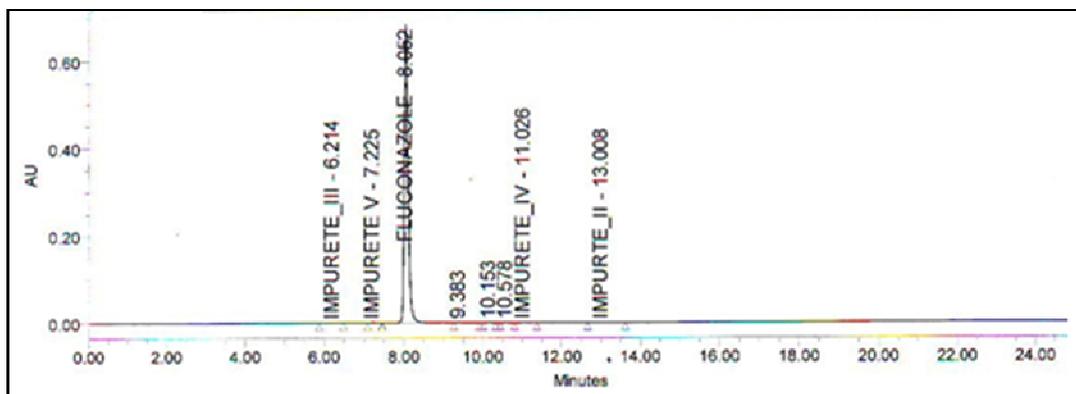


Figure 8: Chromatogramme essai des impuretés II, III, IV, V Fluconazole.

Tous les pics qui sont présent dans le chromatogramme obtenue avec la solution à blanc et qui ne figure pas dans le chromatogramme essai ne sont pas pris en considération. Par contre ceux qui figurent dans les deux chromatogrammes sont considéré comme blanc.

Le pic à TR = 10,15 min correspond à une impureté inconnue.

La résolution entre le pic dû au Fluconazole et celui dû à l'impureté V est : $5,05 \geq 4$.

Nom composant	TR	Surface	Type d'int.	Fact. de sym.	Résolution
Impureté III	6,21	1640	BB	0,75	---
Impureté V	7,22	2023	BB	1,12	6,21
Fluconazole	8,05	4638316	BB	1,39	5,05
Blanc	9,38	1226	BB	2,72	6,22
Imp. Inconnue	10,15	2039	BB	1,05	3,75
Blanc	10,58	1200	BB	1,28	2,48
Impureté IV	11,03	2049	BB	1,05	2,61
Impureté II	13,01	1621	BB	1,00	11,13

Tableau 3: Résultats dosage impuretés II, III, IV, et V.

La répétabilité RSD entre les 6 injections du témoin est $< 5\%$ (D'après le chromatogramme superposé) ; donc le résultat est conforme.



La procédure adoptée pour calculer le % des impuretés est la suivante:

$$\% \text{ imp}(i) = \frac{S \text{ imp}(i) (E)}{S \text{ imp}(i) (T. \text{sup})} \times \frac{P_t}{V_{\text{dill}}} \times \frac{V_{\text{dill}}}{P_e} \times R \times 100$$

Avec : S : La surface de chaque impuretés.

Pt : La prise témoin.

R : La richesse.

V_{dil} : volume de dilution.

❖ **Pour l'impureté II:** max 0,2 %

On a : R = 99,1% ; Pe = 100,02 mg ; P_{impII} = 20,01 mg ; S_{impII} (témoin superposé) = 9478.

$$\% \text{ imp}(i) = \frac{S \text{ imp}(i) (E)}{S \text{ imp}(i) (T. \text{sup})} \times \frac{P_{Ti}}{100} \times \frac{2}{100} \times \frac{50}{P_e} \times R$$

$$\% \text{ imp II} = 0,0339 \% (\ll 0,2\%)$$

Donc, le pourcentage de l'impureté II appartient à la limite d'acceptation. Ainsi de la même façon on calcul le % des autres impuretés.

◆ **Impureté III:** max 0,2 %

R = 93,9% ; Pe = 100,02 mg ; P_{impIII} = 20,07 mg ; S_{impIII} (témoin superposé) = 7947.

$$\% \text{ imp III} = 0,0389 \%$$

◆ **Impureté IV:** max 0,2 %

R = 98,1% ; Pe = 100,02 mg ; P_{impIV} = 20,05 mg ; S_{impIV} (témoin superposé) = 9177.

$$\% \text{ imp IV} = 0,0439 \%$$

◆ **Impureté V:** max 0,2 %

R = 99,6% ; Pe = 100,02 mg ; P_{impV} = 20,02 mg ; S_{impV} (témoin superposé) = 11517.

$$\% \text{ imp V} = 0,0351 \%$$

◆ **Toutes impuretés isolées:** max 0,1 %

L'impureté à T_R = 10,15 min correspond à une impureté inconnue. Le pourcentage de cette impureté est calculé comme suit :

$$\% (i) = \frac{S \text{ imp}(i) (E)}{S \text{ fluconazole } (T. \text{sup})} \times \frac{P_i \text{ fluconazole } (T)}{100} \times \frac{2}{100} \times \frac{50}{P_e} \times R$$

On a : R = 99,9% ; Pe = 100,02 mg ; P_{fluconazole SCR} = 20,03 mg ; S_{imp. inconnue} (témoin superposé) = 9718.

On trouve, $\% \text{ imp inconnue} = 0,04197 \%$

Donc nos résultats sont conformes.

◆ **Somme des impuretés :** max 0,1 %

Dans notre cas, la somme des impuretés est de l'ordre de **0,1937 %** ce résultat est non satisfaisant.

Donc cette analyse est à refaire par un autre technicien de laboratoire.



III. Contrôle du produit fini ^[14]:

Le principe actif qu'on vient de contrôler, le Fluconazole, entre dans la fabrication du produit fini nommé Mynazol. Ce dernier passe par les contrôles suivant pour confirmer que le lot fabriqué, lot : 10001, soit conforme.

1. Description: Satisfaisant

Il s'agit de Gélule de taille 1, de corps blanc et coiffe bleue, contenant une poudre homogène blanche, dont le Fluconazole est le principe actif ce dernier est dosé à 150 mg.

2. Masse moyenne: 362,9 à 401,1 mg

La détermination du poids moyen se fait en prélevant 20 gélules au hasard dans un même lot et les peser une à une au moyen d'une balance à précision préalablement programmer pour donner la masse individuelle ainsi que le poids moyen des 20 unités prélevés.

$$MM = 380,35 \text{ mg}$$

Ce résultat comparé aux spécifications du dossier technique est conforme.

3. Uniformité de masse: conforme: $\pm 7,5\%$; $\pm 15\%$

Le calcul du poids moyen des comprimés permet déterminer en pourcentage la variation de poids positive et négative du comprimé le plus lourd et le moins lourd par rapport au poids moyen.

Les normes préconisent que la masse individuelle de 2 au plus des 20 unités peut s'écarter de la masse moyenne d'un pourcentage plus élevé que 7,5% mais la masse d'aucune unité ne peut s'écarter de plus du double de ce pourcentage (15%).

4. Teneur en eau: $\leq 7,5\%$

A l'aide d'un appareil Karl Fischer Titrator, on détermine la teneur en eau sur une pesée entre 0,1 et 0,2 g de la poudre, on trouve :

$$T_e = 3,4720\%$$

La valeur trouvée est en accord avec les exigences du dossier technique, donc nos résultats obtenus sont conformes.

5. Test de désagrégation: $\leq 30 \text{ min}$.

La désagrégation de la gélule dispersible du Fluconazole est mesurée à l'aide d'un appareil de désagrégation. Le milieu de désagrégation choisi étant le jus gastrique artificiel à pH 1,2 porté à une température de 37°C.

Préparation du milieu : Dans une fiole jaugée de 1000 ml, on introduit 2 g de chlorure de sodium et 7 ml d'acide chlorhydrique puis on complète au trait de jauge avec H₂O.

On vérifie le pH de cette solution qui doit être voisin de 1,2.

On trouve :

$$T = 5 \text{ min}$$

Le résultat trouvé à partir de la désagrégation de la gélule est en concordance avec les normes du dossier technique, donc il est conforme.

6. Dosage du Fluconazole par spectrophotométrie: 142,5 à 157,5 mg/gel

Ce dosage consiste à déterminer la quantité du principe actif que contient notre spécialité pharmaceutique, ceci est réalisé au moyen d'un appareil spectrophotomètre UV-Vis, selon la méthode suivante :

a. Préparation des solutions :

Préparation du solvant :



Solution d'acide chlorhydrique 1M : Dans une fiole jaugée de 1000 ml, on introduit 103g d'acide chlorhydrique concentré et on complète au volume avec de l'eau distillée.

Solution d'acide chlorhydrique 0,01M dans le méthanol : Dans une fiole jaugée de 1000 ml, on introduit 10 ml d'acide chlorhydrique 1M et on complète au volume avec de l'eau méthanol.

Solution témoin : La matière première (MPF) de Fluconazole lot : C090921a servi de témoin. En effet, 50,11mg de poudre dissoute dans 25ml de HCl 0,01 M méthanolique.

Une dilution de 5/50 ml de cette solution a donné une solution qui a été utilisée comme étalon dans le dosage spectrophotométrique.

Solution essai : On vide 10 gélules et on homogénéise la poudre, on pèse l'équivalent du contenu d'une gélule, soit 382,07 mg qu'on introduit dans une fiole jaugée de 200ml, on dissout et on complète au volume avec HCl 0,01 M méthanolique. On agite pendant 30 min et on filtre sur papier filtre.

On fait une dilution de 5 ml du filtrat dans 20 ml avec la solution d'acide chlorhydrique 0,01 M dans le méthanol.

On fait une lecture de la solution témoin et la solution essai à 260 nm en utilisant comme blanc la solution d'acide chlorhydrique 0,01 M dans le méthanol.

b. Résultats et discussions :

La teneur de Fluconazole par gélule est déterminée par la formule suivante:

$$T = \frac{DO_e}{DO_t} \times \frac{P_t}{P_e} \times \frac{R}{125} \times 4 \times MM$$

Avec : DO_e : absorbance de la solution essai.

DO_t : absorbance de la solution témoin.

P_t : prise témoin (en mg).

P_e : prise d'essai (en mg).

R : richesse du témoin en %

MM : masse moyenne de la gélule.

4/125 : facteur de dilution

AN: DO_e = 0,4314; DO_t = 0,4423; R = 100,44%; MM = 380,35 mg

$$T = 156,3813 \text{ mg/gel}$$

Remarque :

Le facteur de dilution (4/125) peut être déduit à partir de la formule suivante:

D'une façon générale :

$$T = \frac{DO_e}{DO_t} \times \frac{[t]}{[e]}$$

Avec : $[t] = \frac{P_t}{V_t} \times dilution(t)$; $[e] = \frac{P_e}{V_e} \times dilution(e)$

Ainsi on a :

$$T = \frac{DO_e}{DO_t} \times \frac{P_t}{P_e} \times dilution(t) \times \frac{V_e}{P_e} \times dilution(e) *$$

* Cette formule reste applicable pour tout calcul similaire du facteur de dilution, et on multiplie par : soit la richesse (R%), soit la masse moyenne (MM), soit par (100) si on a un pourcentage, selon le protocole décrit dans la technique.

Dans notre cas :

$$T = \frac{DO_e}{DO_t} \times \frac{P_t}{P_e} \times \frac{5}{25} \times \frac{200}{50} \times \frac{20}{P_e} \times \frac{20}{5} \times \frac{R}{100} \times MM$$

$$T = \frac{DO_e}{DO_t} \times \frac{P_t}{P_e} \times 4 \times \frac{R}{(5 \times 25)} \times MM$$

$$T = \frac{DO_e}{DO_t} \times \frac{P_t}{P_e} \times 4 \times \frac{R}{125} \times MM$$

7. Identification du Fluconazole :

Deux types d'identifications sont utilisés :

i. Identification du Fluconazole par CCM : positive



On réalise une CCM sur plaque de Silicagel GF254, et 0,25mm d'épaisseur dont le solvant est le méthanol et la phase mobile est constituée par le mélange Acétate d'éthyle/ Isopropanol/Ammoniac concentré dans les proportions 72: 28: 12.

a. Préparation des solutions :

Solution témoin : On pèse 75,04 mg de Fluconazole Matière Première qui a servie à la Fabrication (MPF) lot : C090921 et on les introduit dans une fiole jaugée de 50 ml.
On dissout et on complète au trait de jauge avec du méthanol.

Solution essai : On vide le contenu de 5 gélules et on mélange la poudre, On pèse l'équivalent d'une gélule soit 382,46 mg de poudre et les introduire dans une fiole de 100 ml.
On ajoute 10 ml de méthanol et on agite pendant 15 min après avoir compléter au trait de jauge. On filtre sur un filtre en papier. Le filtrat est utilisé comme solution essai.

b. Résultats et discussions :

A la fin du développement (fin de la migration), la plaque a été retirée de la chambre chromatographique, puis séchées à l'air libre pendant 10 minutes, ensuite elle a été examinée en UV à 254 nm.

La solution essai présente un spot de même R_f et de même intensité que celui de la solution témoin.

ii. Identification du Fluconazole par spectrométrie UV-Vis : positive

Nous avons utilisés les solutions essai et témoin ayant servi au dosage spectral du Fluconazole.

On fait un balayage des deux solutions entre 220 et 340nm.

La figure ci-dessous présente le spectre d'absorption de la solution essai ainsi que celui de la solution de référence.

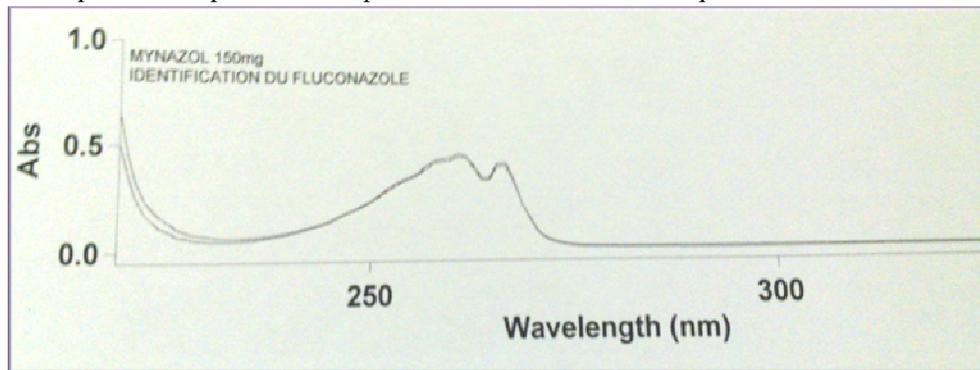


Figure 9: spectre d'identification du Fluconazole par spectrométrie UV-Vis.

Le spectre d'absorption de la solution essai et similaire à celui de la solution témoin et présentent un maximum d'absorption à 260nm, ce qui confirme l'existence du Fluconazole dans la spécialité pharmaceutique MYNAZOL®.

8. Uniformité de teneur: 85 à 115 % de la teneur moyenne en Fluconazole

On suit le même protocole décrit dans le paragraphe du dosage spectrophotométrique du Fluconazole.

On prélève 10 gélules et on dose le Fluconazole contenu dans chaque gélule.

a. Préparation des solutions :

Solution témoin: On travail avec la même solution préparée lors du dosage spectrophométrique puisqu'il s'agit de la même préparation.

Solution essai: Transvaser le contenu d'une gélule dans une fiole jaugée de 200ml. Dissoudre et compléter au volume avec la solution d'acide chlorhydrique 0,01 M dans le méthanol.

On fait une dilution de 5 ml dans 20 ml avec le même solvant.

On continue l'analyse selon le protocole décrit dans le dosage spectrophotométrique.



b. *Résultats et discussions :*

Les valeurs de la densité optique trouvées par spectrophotomètre UV sont données dans le tableau suivant :

Essai N°	Témoin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
D.O	0,4456	0,4259	0,4358	0,4170	0,4045	0,3960	0,4230	0,4183	0,4214	0,4343	0,4130

Tableau 4: Densité optique du Fluconazole dosé dans chaque gélule.

On détermine l'uniformité de teneur du Fluconazole contenue dans chaque gélule en utilisant la formule suivante :

$$T = \frac{DO_e}{DO_t} \times \frac{P_t}{125} \times R \times 4$$

Les résultats de la teneur du Fluconazole par gélule sont repris dans le tableau suivant:

Essai N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Teneur (mg/gel)	153,94	157,52	150,72	146,20	143,13	152,89	151,19	152,31	156,97	149,27

Tableau 5: Teneur du Fluconazole par gélule.

Les teneurs expérimentales cadrent l'intervalle 85 à 115 % de la teneur moyenne en Fluconazole, donc nos résultats comparés aux spécifications du dossier technique sont conformes.

9. Test de dissolution: $\geq 80\%$ en 30 min :

Le test de dissolution permet l'évaluation de la teneur en Fluconazole libérée dans un milieu de dissolution HCl 0,1N pendant 30 min à une température de 37°C.

Ce test est réalisé à l'aide d'un appareil de dissolution à palette tournante à une vitesse de 100 tours/min.

a. *Procédures opératoires :*

- ❖ On introduit dans chaque récipient 1000 ml du milieu de dissolution (HCl 0,1 N) ;
- ❖ On chauffe le milieu de dissolution à 37°C et on introduit une gélule dans chaque récipient ;
- ❖ A la fin de dissolution (après 30 min), on effectue des prélèvements qui doivent être filtrés à l'aide d'un papier filtre ;
- ❖ On procède à l'analyse des prélèvements par spectrophotomètre UV visible.

b. *Préparation des solutions :*

Solution témoin : On pèse environ 30,27 mg de Fluconazole (MPF) lot : C090921 que l'on introduit dans une fiole de 200 ml, on dissout et on complète au volume avec l'acide chlorhydrique 0,1 N.

Solution essai : On introduit dans chaque récipient 1 gélule, Le contenu des cellules est filtré sur un filtre de 25 mm de diamètre et de 0,8 μ m de porosité.

Les composants de la gélule vide, et en particulier les colorants, peuvent interférer lors du dosage.

Afin d'éviter ce problème, nous ferons des corrections par le dosage du blanc.

Solution blanc: On vide complètement des gélules de leur contenu de façon à obtenir des gélules propres.

Introduire 1 gélule dans une fiole contenant 1000 ml d'acide chlorhydrique 0,1 N à température de 37 °C.

On agite pendant 30 min, et on filtre la solution.

On fait une lecture de la solution témoin, de la solution essai et de la solution blanc à 260 nm en utilisant comme blanc la solution d'acide chlorhydrique 0,1 N.

c. *Résultats et discussions:*

Le test de dissolution a été obtenu en faisant dans chaque récipient une gélule, après dissolution on effectue des prélèvements pour les analyser par spectrophotomètre UV visible à une longueur d'onde de 260 nm.

Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous :



Essai N°	Blanc	Témoin	1	2	3	4	5	6
D.O	0,0222	0,3128	0,3225	0,3294	0,3266	0,3281	0,3223	0,3229

Tableau 6: Densité optique pour test de dissolution.

Le taux de dissolution est calculé comme suit:

$$T \% = \frac{A_e - a}{A_t} \times \frac{P_t}{200} \times \frac{1000}{150} \times 100$$

A_e : absorbance de la solution essai.

A_t : absorbance de la solution témoin.

a : absorbance de la solution blanc.

P_t : prise d'essai du témoin (en mg).

150 : Qualité théorique du Fluconazole par gélule, en mg.

Essai N°	1	2	3	4	5	6	moyenne
%Teneur	96,87	99,09	98,19	98,67	96,80	97	97,77

Tableau 7: Taux de dissolution.

Comme le montre les résultats consignés dans le tableau 7, les échantillons testés ont montré une parfaite concordance avec les normes du dossier technique, donc nos résultats obtenus sont conformes.

10. Etanchéité: Conforme

Ce test est destiné à contrôler l'étanchéité des blisters prélevés des différents points de répartition : début, milieu et fin.

Pour ce faire, On met des blisters (D, M, F) dans un récipient contenant de l'eau coloré avec bleue de méthylène, sous vide pendant 3min.

Après, On vérifie que les gélules ne présentent pas des taches en bleu ou d'aspect modifié.

Dans notre cas, les Blisters sont étanches ce qui est conforme aux exigences du dossier technique.

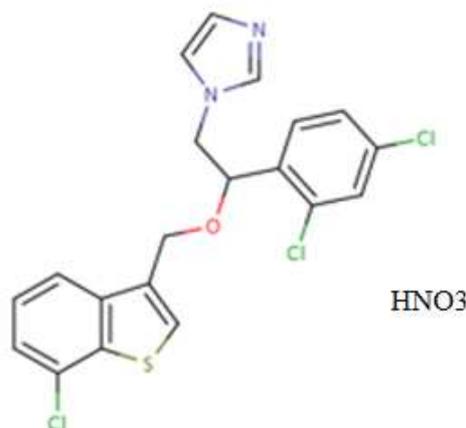
B. Cas du Sertaconazole lot : C091077:

I. Présentation de la matière active [15]:

1. Description de la matière:

La matière active est sous forme d'une poudre blanche ou sensiblement blanche, elle est pratiquement insoluble dans l'eau, soluble dans le méthanol, assez soluble dans l'éthanol à 96% et dans le chlorure de méthylène.

2. Structure de la molécule:



$C_{20}H_{15}Cl_3N_2OS$, HNO_3

$M = 500,8 \text{ g/mol}$.

3. Nomenclature :

Nitrate de (RS) 1-[2-[(7-Chloro-1-benzothiophén-3-yl) méthoxy]-2-(2,4-dichlorophényl) éthyl]-1H-imidazole.

II. Contrôle de la matière première [16]:

1. Aspect de la solution à 1 %: exigence: conforme

On dissolvait 0,10483 g de la matière à examiner dans 10 ml d'éthanol à 96% (V/V)
La solution obtenue est limpide et incolore.
Donc le résultat obtenu est considéré comme étant conforme.

2. Identification A: Point de fusion: exigence: 156 à 161°C

L'identification A est déterminée par la méthode au tube capillaire en utilisant un appareil Büchi Melting point B-545 (E: 05/03/10; R: 05/04/10).
Cette identification consiste à remplir le tube capillaire de la matière et pendre le point de fusion pour chaque fût :

	Fût 1	Fût 2	Moyenne
Point de fusion	159,6 °C	158,7 °C	159,15 °C

Tableau 8: Point de fusion du Sertaconazole Nitrate.

Les résultats trouvés à partir de l'identification A sont en concordance avec les normes du dossier technique, donc il est conforme.

3. Identification B: Spectrométrie d'absorption dans l'UV-Visible





Préparation des solutions :

Solution essai: On dissolvé 0,1 g de nitrate de sertaconazole dans du méthanol et on complète à 100 ml avec le même solvant.

$$P_{\text{fût 1}} = 0,10135 \text{ g} ; P_{\text{fût 2}} = 0,10793 \text{ g}$$

Dilution : On prélève 10 ml de cette solution et on complète à 100 ml avec du méthanol.

Blanc: méthanol.

On effectue un balayage de longueur d'onde dans la région spectrale de 240-320 nm au spectre UV des solutions ainsi préparées en utilisant le logiciel « SCAN ».

La matière active est considérée conforme si elle satisfait aux exigences suivantes :

- ◆ Maximums d'absorption : à 260 nm, 293 nm et 302 nm;
- ◆ Rapport d'absorbance : $A_{302}/A_{293} = 1,16$ à $1,28$

Résultats et discussions :

La courbe représentative de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde est la suivante :

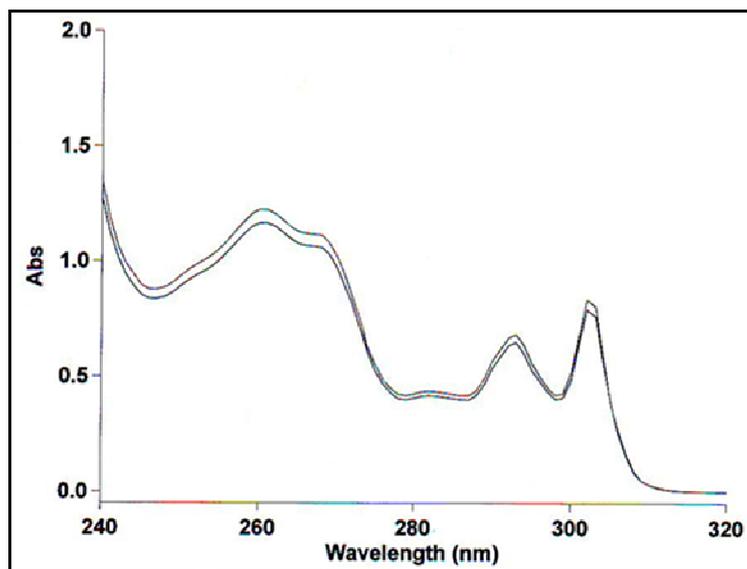


Figure 10: Courbe d'identification B.

D'après la courbe, on distingue bien 3 maximums d'absorption :

Max d'absorption	$\lambda = 301,9 \text{ nm}$	$\lambda = 293,0 \text{ nm}$	$\lambda = 260,9 \text{ nm}$
Fût 1	0,795	0,652	1,167
Fût 2	0,838	0,685	1,225

Tableau 9: Max d'absorption du sertaconazole.

Les résultats des rapports d'absorbance obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :



Rapport d'absorbance	Fût 1	Fût 2	moy	Normes
A_{302}/A_{293}				
Résultats	1,2193	1,2234	1,2287	1,16 - 1,28

Tableau 10: Rapport d'absorbance.

En effet, comme le montre les résultats consignés dans les tableaux 9 et 10, les échantillons testés ont montré l'existence de 3 maximums d'absorption : à 260 nm, 293 nm et 302 nm; ainsi que le rapport d'absorbance A_{302}/A_{293} satisfait bien les exigences du dossier technique. Donc notre matière active est considérée comme étant conforme.

4. Identification D: Chromatographie sur couche mince: conforme

Cette technique permet de comparer le comportement chromatographique de la substance à identifier avec celui d'une substance étalon qui est généralement un spécimen authentique du produit à examiner.

a. Préparation des solutions :

Mélange de solvants : ammoniacque concentré, méthanol (10:90 V/V).

Solution à examiner: On dissout P (fût 1) = 40,12 mg / P (fût 2) = 40,72 mg de nitrate de sertaconazole dans le mélange de solvants et on complète à 10 ml avec le mélange de solvants.

Solution témoin(a): On dissout 40,19 mg de nitrate de sertaconazole SCR lot : 1a dans le mélange de solvants et on complète à 10 ml avec le mélange de solvants.

Solution témoin(b): On dissout 20,26 mg de nitrate de miconazole SCR lot : 1.2 dans la solution témoin(a) et on complète à 5 ml avec la solution témoin(a).

b. Résultats et discussions :

Conformité du système : solution témoin(b) : Le chromatogramme présente 2 taches nettement séparées.

La tache principale du chromatogramme obtenu avec la solution à examiner est semblable quand à sa position, sa coloration et ses dimensions à la tache principale du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a).

Donc nos résultats sont conformes.

5. Identification E: réactions des nitrates : exigence : positive

A un mélange de 0,1 ml de nitrobenzène lot : 77003/1 et de 0,2 ml d' H_2SO_4 lot : K08A/0408/2510/31 on ajoute 1 mg de sertaconazole et on laisse reposer 5 min, après refroidissement dans l'eau glacée on ajoute 5 ml d' H_2O , 5 ml de NaOH concentrée lot : NB0285 (prép le : 23/02/10 ; péremp le : 23/04/10) et 5 ml d'acétone lot : E09A/0509/2603/31. Mener sous agitation puis laisser repos.

La couche supérieure est colorée en violet foncé, ce qui confirme l'existence des traces de nitrates dans notre matière active.



6. Teneur en eau : exigence : $\leq 1 \%$

On cherche le pourcentage d'eau présente dans une pesée entre 0,1 et 0,2 g de la matière à l'aide d'un Karl Fischer Titrator (E: 01/03/10; R: 01/04/10), On trouve :

$$T_e = 0,1512 \%$$

La valeur trouvée est bien inférieure à 0,1 %, donc résultat dans les normes.

Remarque : Puisqu'on va effectuer par la suite un dosage par rapport à la substance anhydre c'est à dire exempte d'eau, La teneur en eau et le dosage doivent être réalisés au même jour pour garder les mêmes conditions opératoires.

7. Dosage par rapport à la substance anhydre: exigence: 98,5 à 101,0 %

Les tests d'identification sont généralement suivis par le dosage du principe actif dans la matière première qui est décrit dans le dossier technique ou dans les monographies.

A l'aide d'un potentiomètre 716 DMS titrino (E : 09/03/10; R: 09/09/10), On procède à un dosage de la matière active en utilisant une électrode de verre DG-113SC.

a. Préparation des solutions :

Solution essai : On dissout 0,40391 g de nitrate de sertaconazole dans 50 ml d'un mélange à volumes égaux d'acide acétique anhydre et de méthylethylcétone. On titre par l'acide perchlorique 0,1 M lot : NC0363 (ouvert le : 09/03/10 ; péremp : 24/03/10).

Blanc : mélange à volumes égaux d'acide acétique anhydre et de méthylethylcétone.

Le point de fin de titrage est déterminé par potentiométrie.

1 ml d'acide perchlorique 0,1 M correspond à 50,08 mg de $C_{20}H_{16}C_3N_3O_4S$.

b. Résultats et discussions :

Le titre par rapport à la substance anhydre est calculé par la relation suivante :

$$T/anhy = \frac{V_{essai} - V_{blanc}}{P_e (mg)} \times 50,08 \times 100 \times \frac{100}{100 - T_e}$$

A.N : V (titration) = 8,065 ml qui correspond à max de différence de potentiel,

$P_e = 0,40391$ g, $T_e = 0,1512\%$, Le blanc contient que le mélange à volumes égaux d'acide acétique anhydre et de méthylethylcétone donc V (blanc) = 0 ml.

$$T/anhy = 100,1478 \%$$

Ce qui est en concordance avec le dossier technique.

8. Cendres sulfuriques : exigence : $\leq 0,1 \%$



Le pourcentage des cendres sulfuriques présentent dans 1,01380 g de la matière est calculé par la formule suivante :

$$\% C_s = \frac{T_f - T_v}{P_e} \times 100$$
$$= 0,0947 \%$$

Avec: $T_f = 23,04370$ g; $T_v = 23,04274$ g ; $P_e = 1,01380$ g.

T_f : Tare finale

T_v : Tare vide

P_e : Prise essai de l'échantillon à contrôler.

La valeur trouvée comparée aux spécifications du dossier technique est conforme.

9. Substances apparentées :

Après avoir identifié la matière première, on passe au dosage des impuretés qu'elles contiennent. La méthode adoptée est celle de la pharmacopée Européenne édition 7. La procédure est la suivante :

a. Préparation des solutions :

Phase mobile lot: 10153: CH_3CN lot: 1450630-835 37V.

Tampon: $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ à 1,5 g/l lot : 1278481 63V.

Solution essai: On dissolvé 10,12 mg de nitrate de sertaconazole dans la phase mobile et on complète à 10 ml avec la phase mobile.

Solution témoin (a): On prélève 5 ml de la solution à examiner et on complète à 100 ml avec la phase mobile. On prélève 1 ml de cette solution et on complète à 20 ml avec la phase mobile.

Solution témoin (b): On dissolvé une prise témoin b1 de 5,56 mg de nitrate de sertaconazole SCR lot : 1.a et une prise témoin b2 de 5,35 mg de nitrate de miconazole SCR lot : 1.2 dans la phase mobile puis on complète à 20 ml avec la phase mobile.

On prélève 1 ml de cette solution et on complète à 50 ml avec la phase mobile.

Les essais et les témoins déjà préparés vont être injectés dans le système chromatographique.

b. Résultats et discussions :

Les figures ci-dessous présentent les chromatogrammes HPLC de l'essai et celui du témoin B :

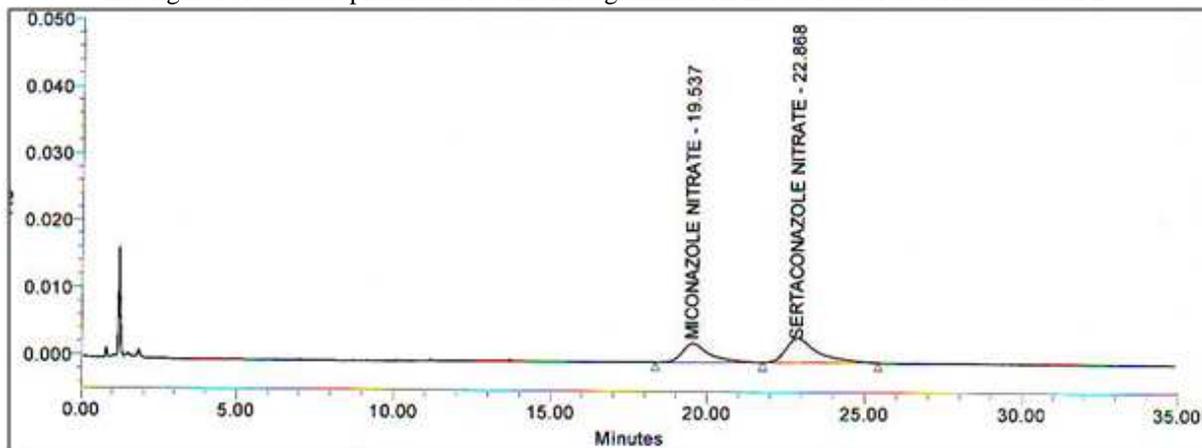


Figure 11: Chromatogramme témoin B du sertaconazole MP.

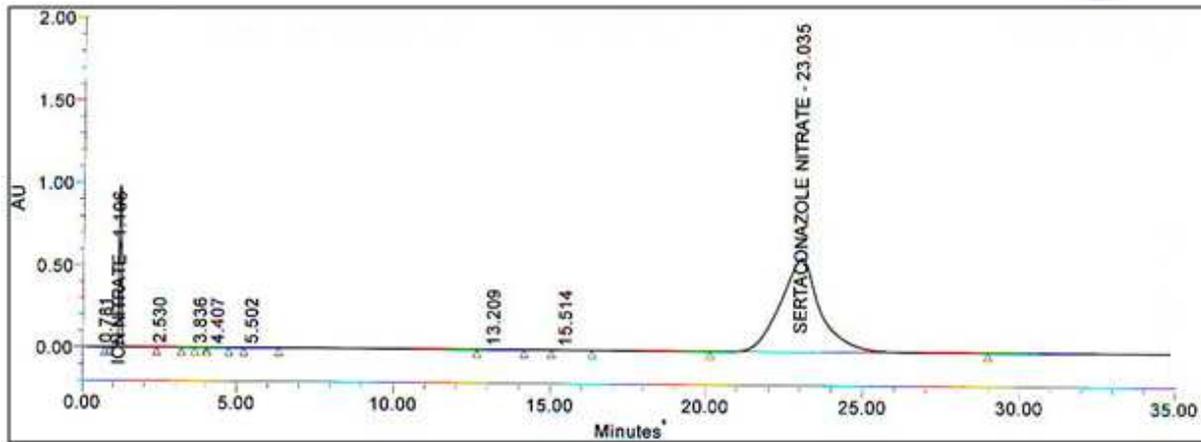


Figure 12: Chromatogramme essai du sertaconazole MP.

Les pics à TR = 0,78 et TR = 2,53 min sont exclus car ils correspondent au blanc.

Le pic de sertaconazole nitrates apparaît à un temps de rétention de 23,03 min avec un facteur de symétrie de 1,1.

La pharmacopée exige les limites suivantes :

- ⊙ Conformité du système : Solution témoin (b) : La résolution entre les pics dus au miconazole et celui du sertaconazole est 2,2. (Exigence: au minimum 2)

Donc, résultat dans les normes.

- ⊙ Limite d'exclusion : 0,2 fois la surface du pic principale du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a) (0,05 %).

Remarque : On ne tient pas compte du pic dû à l'ion nitrate.

Soit : $0,2 \times \text{Surface du témoin a}$ (chromatogramme superposé)

$0,2 \times 122426 = 24485,2$; De ce fait la limite d'exclusion L.E est de l'ordre de **24485,2**

Alors toute impureté dont l'aire est inférieure à la limite d'exclusion n'est pas prise en considération.

Le tableau suivant résume les différents paramètres déduits du chromatogramme essai :

Nom composant	TR	Surface	Type d'intégration	Facteur de symétrie
Blanc	0,78	1295	BB	1,11
ION NITRATE	1,20	5519466	BB	1,34
Blanc	2,53	7876	BB	2,92
< L.E	3,84	1056	BB	0,93
< L.E	4,41	2885	BB	0,90
< L.E	5,50	7161	BB	1,57
< L.E	13,21	1965	BB	1,28
< L.E	15,51	4059	BB	1,21
MICONAZOLE NITRATE	19,56		<i>Missing</i>	
SERTACONAZOLE NITRATE	23,03	50071450	BB	1,10

Tableau 11: Résultats chromatogramme essai du sertaconazole MP.

Limite : D'après les chromatogrammes des solutions à examiner on trouve :

- Impuretés A, B, C : pour chaque impureté, au maximum la surface du pic principale du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a).

Non détectée (exigence : $\leq 0,25$ %).



- Total : au maximum 2 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a).

Total des impuretés : 0% ; (exigence : $\leq 0,5$ %).

Ce qui prouve que notre matière est exempte d'impuretés.

La matière première contrôlée satisfait bien les normes de la pharmacopée, alors elle est déclarée comme étant conforme.

III. Contrôle du produit fini :

On distingue 5 formes de produits finis qui ont comme principe actif le sertaconazole nitrate. Le contrôle de ces différentes formes est décrit ci-dessous :

III.1. Dermofix gel à 2% Flacon 100g Lot:10002 ^[17];

1. Aspet : satisfaisant:

Flacon en polyéthylène contenant un gel transparent, de couleur ambré et odeur agréable.

2. Poids individuel:

On prend 10 flacons et on pèse le contenu de chaque flacon. Aucune des 10 valeurs ne doit être inférieure à 95

g.

Flacons	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Poids (g)	103,8133	102,7684	101,6998	102,9100	103,6558	103,0401	102,8196	103,6829	102,6131	103,4629

Tableau 12: Poids individuels Dermofix gel.

3. Poids moyen: ≥ 100 g

La moyenne des 10 poids individuels est: $P_{moy} = 103,04659$ g, donc le résultat est conforme.

4. Densité:

Déterminée à 20 °C, à l'aide d'un densimètre DE 40.

Densité	Valeurs trouvées	Normes
PSO	1,0694	1,045 – 1,075
PSF	1,0706	

Tableau 13: Densité Dermofix gel.

Les valeurs trouvées pour le Produit Semi Œuvré (PSO) ainsi que pour le Produit Semi Fini (PSF) encadrent bien l'intervalle de tolérance du dossier technique.

5. Viscosité:

Déterminée à l'aide d'un viscosimètre RV type BROOKFIELD à 25 °C, dans les conditions opératoires suivantes :

- ◆ Aiguille : 3 ;
- ◆ Tours par minute : 10 rpm.

Viscosité	Valeurs trouvées (cps)	Normes
PSO	4235	1400 – 4800
PSF	4610	

Tableau 14: Viscosité Dermofix gel.

Donc les résultats trouvés sont dans les normes.



6. Pouvoir moussant: conforme:

On fait une dilution de 10 % du gel dans de l'eau distillée.

On prélève 50 ml de la solution précédente et on laisse tomber depuis une hauteur de 24,5 cm dans une éprouvette graduée de 100 ml. Il se forme une mousse qui doit occuper un volume supérieur ou égal à 25 ml au temps initial et au minimum 20 ml après 15 min.

Les résultats de ces déterminations sont repris dans le tableau 13 :

Pouvoir moussant	PSO	PSF	Normes
0 min	V = 52 ml	V = 55 ml	> 25 ml
15 min	V = 37 ml	V = 47 ml	> 20 ml

Tableau 15: Pouvoir moussant Dermofix gel.

Ce qui montre que nos résultats obtenus sont conformes.

7. pH :

La détermination du pH se fait par lecture directe à l'aide d'un pH mètre Seven Multi.

pH	Valeurs trouvées	Normes
PSO	5,24	4,5 - 6
PSF	5,12	

Tableau 16: pH Dermofix gel.

En effet, ainsi que le montre les résultats consignés dans le tableau 14, les échantillons testés satisfont bien les normes de la pharmacopée Européenne.

8. Identification du Sertaconazole nitrate:

L'identification se fait lors du dosage du principe actif par HPLC.

L'essai présente un temps de rétention **TR = 4,02 min** voisin de celui du témoin **TR = 4,04 min** ce qui confirme l'existence du Sertaconazole Nitrate dans notre essai. (Voir chromatogrammes Fig.13-14).

9. Dosage du Sertaconazole nitrate: 1,9 à 2,1 g / 100 g.

La technique utilisée est la chromatographie liquide haute performance.

a. Préparation des solutions :

Dans une première phase, on procède par la préparation de la phase mobile puis les essais et les témoins.

Phase mobile: Acétonitrile / solution de NaH_2PO_4 0,01 M (55 : 45 V/V).

Solution Essai : On pèse exactement 2,0403 g de gel et on les introduit dans une fiole jaugée de 50 ml. On ajoute 30 ml du mélange acétonitrile-méthanol et on agite 15 min sur un agitateur mécanique et 5 min dans un bain ultrasons pour dégazer d'éventuelles bulles d'air.

On complète à 50 ml avec la même solution et on mélange. Après avoir centrifugé 20 min à 3000 rpm, on prélève le surnageant et on filtre sur acrodisque de membrane de 0,45 μm de porosité et on injecte dans le vial à HPLC.

Solution témoin : On pèse 80,15 mg de Sertaconazole Nitrate Etalon de Travail (ET) et on les introduit dans une fiole jaugée de 100 ml. On fait dissoudre et on complète au volume avec l'acétonitrile. On filtre sur une membrane de 0,45 μm de porosité.

b. Résultats et discussions :

Dans les conditions opératoires prescrites dans la partie expérimentale, le Nitrate de Sertaconazole est élué en moins de 9 minutes.

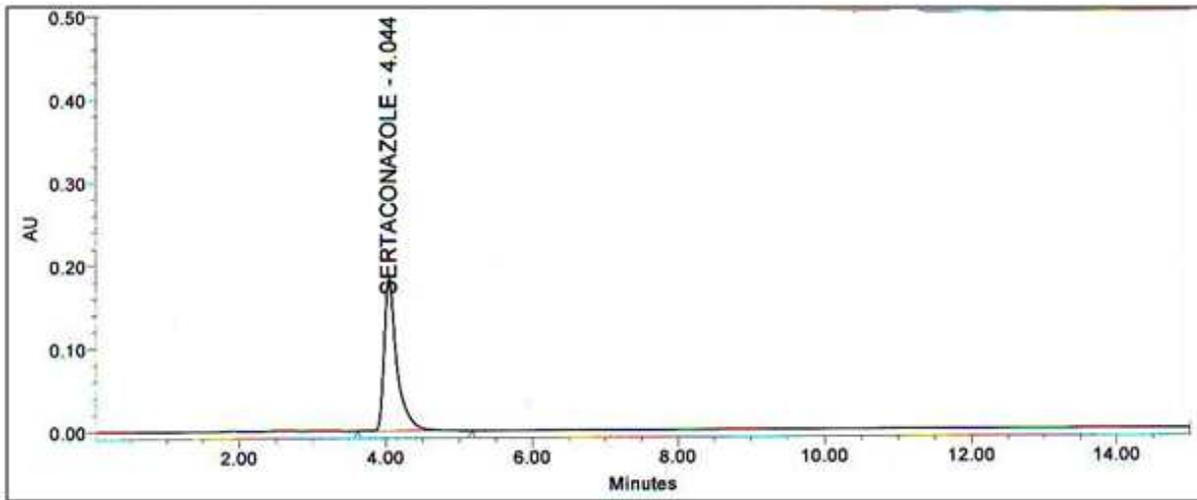


Figure 13: chromatogramme témoin de Dermofix gel.

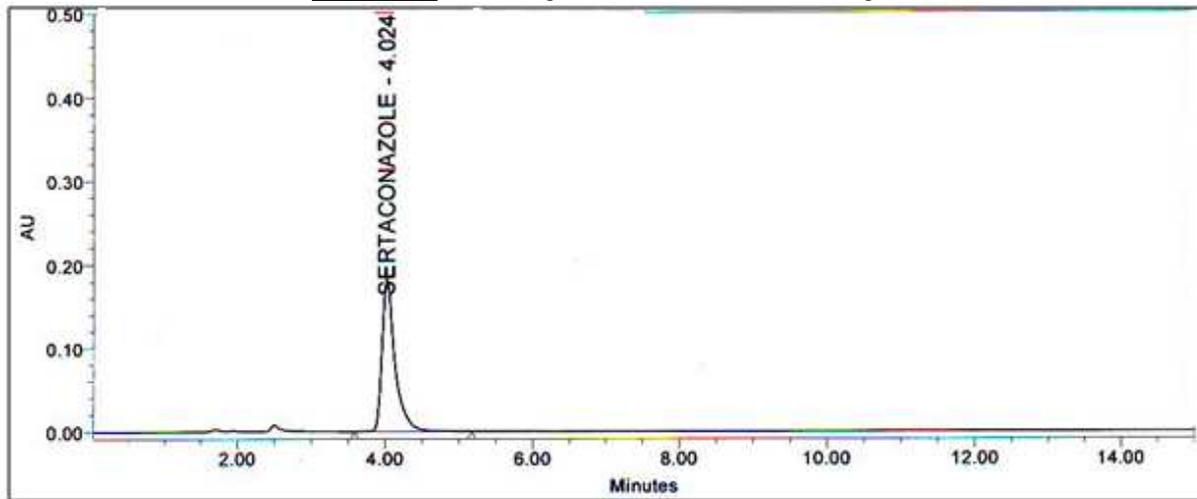


Figure 14: Chromatogramme essai de Dermofix gel.

La quantité de Sertaconazole Nitrate dans 100 g de gel est déduite de la formule suivante:

$$T = \frac{Se}{St} \times \frac{Pt}{pe} \times 0,05$$

$$T = 1,9738$$

Ce résultat est bien encadré, donc notre résultat est conforme.

III.2. Dermofix poudre flacon de 30 g Lot: 10002^[18]:

Contrôle du Produit Semi Œuvré : (PSO)

1. Aspect : satisfaisant :

Poudre fine, blanche et inodore.

2. Détermination du pH : 5,5 à 6,5 :



On prépare une suspension à 1 % à température ambiante et on mesure le pH à l'aide d'un pH mètre Seven Multi (E : 18/03/10 ; R : 18/04/10), on trouve :

$$pH = 6,34$$

Le pH trouvé ne dépasse pas la norme fixée entre 5,5 et 6,5, notre produit est bien conforme aux spécifications.

3. Granulométrie :

Déterminée sur 100 g de poudre en utilisant un tamis de 0,2 mm d'ouverture de maille et une vitesse d'agitation de 100 rpm.

La granulométrie est calculée selon la formule suivante :

$$G = \frac{T_f - T_i}{100} \times 100$$

$$G = 83 \%$$

Avec : $P_e = 100$ g ; T_i (récepteur) = 242 g ; T_f (récepteur) = 325 g

Norme : Le pourcentage des particules de taille inférieure à 0,2 mm doit être $\geq 80\%$.

Le pourcentage des particules de taille inférieure à 0,2 mm est de 83 % ce qui dit que notre résultat est conforme.

Contrôle du Produit Semi Fini : (PSF)

1. Aspect: satisfaisant:

Flacon en polyéthylène contenant une poudre fine, blanche et inodore.

2. Masse moyenne: ≥ 30 g

En utilisant une Balance METTLER Toledo AB 265 S (E: 30/12/09; R: 30/06/10).

Les résultats des masses individuelles sont regroupés dans le tableau suivant:

Essai	Poids brute (g)	Tare (g)	Poids (g)
1	51,4707	20,5972	30,8735
2	51,7037	20,5334	31,1703
3	51,8525	20,8049	31,0475
4	52,5702	20,7215	31,8487
5	50,5491	20,7389	29,8103
6	52,4535	21,0421	31,4114
7	51,8595	20,8930	30,9664
8	51,2553	20,6933	30,5621
9	51,0725	21,1990	29,8735
10	50,7140	20,5817	30,1323
Moyenne	51,5501	20,7805	30,7696
Minimum	50,5491	20,5334	29,8103
Maximum	52,5702	21,1990	31,8487

Tableau 17: Masse individuelle et masse moyenne de Dermofix poudre.

D'après le tableau la valeur de la masse moyenne n'est pas inférieure à 30 g, donc nos résultats sont conformes.

3. Masse individuelle: ≥ 27 g.



La détermination du poids individuel effectué sur les flacons a montré que les échantillons collectés présentaient des variations de poids conformes aux normes généralement admises par la pharmacopée. (Tab.17)

4. Identification du nitrate de sertaconazole par CCM: Conforme

Le Nitrate de Sertaconazole est identifié par chromatographie sur couche mince.

a. Préparation des solutions:

Solution témoin : On pèse 50,1 mg de sertaconazole nitrate lot : C091077 et on les introduit dans une fiole de 25 ml, on dissout dans le solvant et on complète à 25ml avec le même solvant. Bien homogénéiser; déposer 2 μ l.

Solution essai : On pèse 0,5017 g de poudre et on les introduit dans une fiole de 10 ml. On ajoute 5 ml environ de solvant, et on agite pendant 15 min, puis placer dans un bain à ultrasons pendant 5 min. Filtrer. Déposer 2 μ l. Laisser sécher la plaque.

b. Résultats et discussions:

Le témoin et l'essai ont les mêmes caractères chromatographiques.

Le chromatogramme de la solution essai présente une tache correspondant au nitrate de sertaconazole, dont l'intensité et le Rf sont pratiquement identiques à ceux de la tache de la solution témoin.

Ce qui confirme l'existence du Sertaconazole Nitrate dans le produit analysé.

5. Dosage du Sertaconazole Nitrate : 1,9 à 2,2 g/100g

Le dosage se fait par spectrophotomètre UV-Vis pour PSO ainsi que pour PSF.

a. Préparation des solutions:

Solution témoin : On introduit 25 mg de sertaconazole nitrate (ET) lot : C091077 dans une fiole jaugée de 100 ml. On dissout et on complète à 100 ml avec le méthanol. On prélève 10 ml et on les introduit dans une fiole jaugée de 50 ml. Puis on complète au volume avec le méthanol (Solution S).

Solution essai : On pèse exactement 1,250 g de poudre et on les introduit dans une fiole jaugée de 200 ml.

On ajoute 150 ml environ de méthanol, on agite pendant 20 min, puis 5 min dans un bain à ultrasons. Compléter à 200 ml avec le même solvant et filtrer (jeter les 20 premiers ml du filtrat).

On prélève 20 ml du filtrat, et on les place dans une fiole jaugée de 50 ml puis on complète au volume avec du méthanol (Solution P).

On fait la lecture à 302 nm des solutions essai et témoin en utilisant le méthanol comme blanc.

b. Résultats et discussions:

La teneur en % du sertaconazole nitrate :

$$T = \frac{DO_e}{DO_t} \times \frac{P_t}{e} \times 100$$

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau suivant :

	Pe (g)	Pt (g)	DOe	DOt	Teneur
PSO	1,2501	25,3	0,3497	0,3444	2,0550 g/100g
PSF	1,25330	25,63	0,3529	0,3507	2,0578 g/100g

Tableau 18: dosage spectrophotométrique PSO, PSF Dermofix poudre.



III.3. Dermofix Solution à 2 % flacon de 30 ml Lot: 10002 ^[19];

1. Aspect: Satisfaisant

Flacon en polyéthylène faible densité contenant une solution, transparente et incolore, avec une odeur caractéristique d'alcool.

2. Volume individuel: ≥ 27 ml

Déterminé sur 12 flacons:

<u>2</u>	<u>D. 3</u>	<u>E. 4</u>	<u>F. 5</u>	<u>G. 6</u>	<u>H. 7</u>	<u>I. 8</u>	<u>J. 9</u>
<u>0,5</u>	<u>Q. 31</u>	<u>R. 31</u>	<u>S. 30</u>	<u>T. 31</u>	<u>U. 31</u>	<u>V. 31</u>	<u>W. 30,5</u>

Tableau 19: Volume individuel Dermofix solution.

Le volume individuel de chacun des 12 flacons est bien supérieur à 27 ml : Résultat conforme.

3. Volume moyen : ≥ 30 ml.

On fait la moyenne des 12 volumes individuels, $V_{moy} = 30,83$ ml. Résultat dans les normes.

4. pH de la solution à 50% (V/V) : 2,7 à 4,4

On prépare une solution à 50 % en mélangeant 25 ml de la solution à analyser et 25 ml d'eau distillée. On détermine le pH de cette solution aqueuse à température ambiante

$$pH = 3,74$$

Le résultat trouvé appartient à l'intervalle de tolérance du dossier technique.

5. La masse volumique à 20°C: 0,870 à 0,890 g/ml

Déterminée à l'aide d'un densimètre DE 40:

$$\rho = 0,8785 \text{ g/ml}$$

Résultat conforme aux normes exigées.

6. Opalescence : satisfaisant

Solution témoin : Peser 1,0 g de sulfate d'hydrazine et l'introduire dans une fiole jaugée de 100 ml, ajouter 50 ml d'eau et dissoudre sous agitation. Compléter au volume final avec l'eau.

Laisser reposer pendant 4 à 6 h (solution A).

Peser 2,5 g d'hexaméthylènetétramine et les introduire dans une fiole jaugée de 100 ml avec bouchon. Ajouter exactement 25 ml d'eau à l'aide d'une pipette double jauge.

Ajouter ensuite 25 ml de la solution A et mélanger.

Laisser reposer pendant 24 h (Solution M).

La solution M peut être conservée pendant 2 mois.

Transférer 15 ml de la solution M dans une fiole jaugée de 1 L et compléter au volume final avec de l'eau (Solution O).

La solution O doit être utilisée dans les 24 h.

La solution témoin est préparée comme suit : Transférer 5 ml de la solution O dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter au volume final avec de l'eau. Homogénéiser (Solution S).

Solution essai : On utilise deux tubes à essai identiques et on les remplit à une hauteur de 40 mm: l'un avec la solution à analyser et l'autre avec la solution S.

5 min après préparation de la solution témoin, On examine visuellement les deux tubes (dans l'axe du tube).

L'opalescence de l'essai est inférieure à celle du témoin (solution S), ce qui est en concordance avec le dossier technique.

7. Identification du nitrate de sertaconazole par HPLC: positive



Le nitrate de sertaconazole est identifié par son temps de rétention dans l'essai $t_R = 4,88$ min par comparaison avec celui dans le témoin $t_R = 4,92$ min.

8. Dosage du nitrate de sertaconazole par HPLC: 1,9 à 2,1 g/ 100 ml

a. Préparation des solutions :

Solution témoin : On pèse 20,34 mg du nitrate de sertaconazole substance de référence lot : C 091077 de R = 99,68 %, les introduire dans une fiole jaugée de 25 ml, compléter au volume final avec l'acétonitrile. Mélanger.

On transfère 1,0 ml de la solution obtenue dans une fiole de 10 ml et on complète au volume final avec l'acétonitrile, mélanger. On filtre à travers une membrane de 0,45 μ m.

Concentration finale : 2,0 μ g/25 μ l soit 80 μ g/ml.

Solution essai : On mesure 1 ml de la solution à analyser (correspondant à 20 mg de principe actif) et l'introduire dans une fiole jaugée de 25 ml. On ajoute 15 ml d'acétonitrile, et on mélange puis on complète au volume final avec le même solvant.

Transférer 1,0 ml de la solution obtenue dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter au volume final avec l'acétonitrile.

Filtrer à travers une membrane de 0,45 μ m ou équivalent.

b. Résultats et discussions:

Test de suitability : Le test de suitability consiste en l'injection d'une solution contenant le nitrate de sertaconazole et les produits de dégradations de celui-ci « solution de résolution » et ce afin de déterminer la résolution entre les différents pics obtenus.

Effectuer également 6 injections de la solution de résolution afin de déterminer le coefficient de variation.

Les chromatogrammes obtenus sont représentés comme suit:

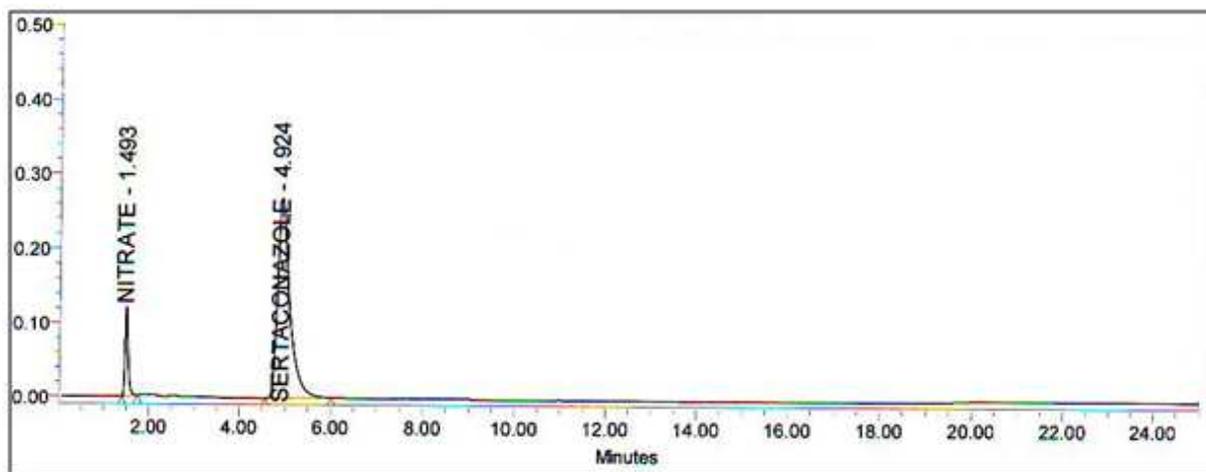


Figure 15: Chromatogramme témoin Dermofix solution.

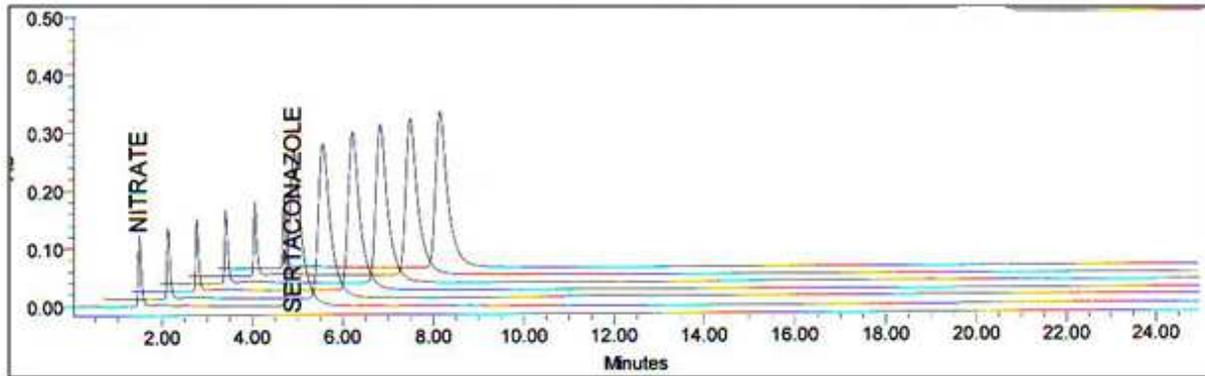


Figure 16: Chromatogramme superposé Dermofix solution.

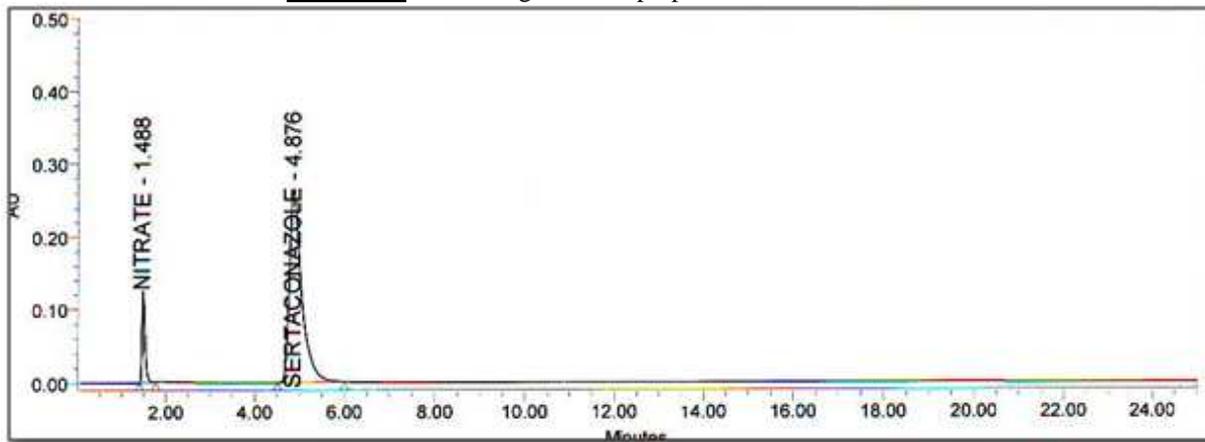


Figure 17: Chromatogramme essai Dermofix solution.

Teneur en nitrate de sertaconazole exprimée en g/ 100ml :

$$T = \frac{S_e}{S_t} \times \frac{P_t}{P_e} \times R_t \times 100$$

Avec : $R_t = 99,68\%$

$$T = 2,0069 \text{ g/100ml}$$

Théoriquement on doit trouver une valeur entre 1,9 et 2,1 g/100 g de Sertaconazole Nitrate, ce qui est confirmé par l'expérience dont on a trouvé une valeur de 2,006g/100 de Sertaconazole.

III.4.Gyno Dermofix 300 mg boîte à un ovule^[20]:

1. Aspect : Satisfaisant

Ovule de forme ovoïde de couleur blanche homogène, à aspect cireux.

2. Masse moyenne : 2,85 à 3,15 g

On opère selon le protocole décrit dans la pharmacopée Européenne. La masse moyenne est déterminée sur 20 unités, on trouve:

$$\overline{MM} = 2.9998 \text{ g}$$

Cette valeur est bien dans les normes.

3. Uniformité de masse: $\pm 5\%$; $\pm 10\%$

La pesée est déterminée sur 20 unités prélevées au hasard.

La masse individuelle de 2 au plus des 20 unités peut s'écarter de la masse moyenne d'un pourcentage plus élevé que 5% mais la masse d'aucune unité ne peut s'écarter de plus du double de ce pourcentage 10% ; conforme.



4. Temps de désagrégation maximal: 10 à 30 min

Déterminée sur 3 ovules dans de l'eau distillée à 37 °C, $t = 18 \text{ min}$ à l'aide d'un appareil de désagrégation pharma Test type PTS (E : 09/04/10 ; R : 09/10/10)

5. Identification de Nitrate de Sertaconazole par HPLC:

Le nitrate de sertaconazole est identifié par la méthode HPLC lors du dosage.
La solution essai montre un pic correspondant au sertaconazole avec un temps de rétention correspondant au temps de rétention du sertaconazole substance de référence. (Voir chromatogramme essai et témoin).

6. Dosage du nitrate de Sertaconazole par HPLC: 285 mg à 315 mg/ ovule

Le dosage a été réalisé par HPLC/UV :

a. Préparation des solutions :

Solution étalon interne(E.I): Transférer une prise de $P(E.I) = 90,18 \text{ mg}$ du nitrate d'Econazole lot : 2.2 dans une fiole de 50 ml, dissoudre et compléter au volume avec l'acétonitrile.

Intérêt : On fait l'extraction du PA à partir des suppo-cires.

On ajoute la même quantité d'E.I dans les témoins que dans les essais car si jamais il y a une perte on va garder les mêmes concentrations et ça va servir pour la correction.

Solution témoins mères : On pèse exactement 60 mg, 70 mg et 90 mg de nitrate de sertaconazole substance de référence dans des fioles jaugées de 50 ml.

Pour chaque prise d'essai, dissoudre avec une petite quantité d'acétonitrile et compléter au volume final avec le même solvant.

Pt(1) = 60,23 mg

Pt(2) = 70,18 mg

Pt(3) = 90,18 mg

Solutions témoins : A partir des solutions mères, préparer des solutions correspondants à 80, 100 et 120 % de la concentration théorique du nitrate de sertaconazole.

Transférer 5 ml de chaque solution obtenue dans une fiole jaugée de 100 ml, ajouter 5 ml d'étalon interne (EI) et compléter au volume final avec l'acétonitrile. Mélanger.

Solution essai : On effectue 6 prises d'essai :

Pe	1	2	3	4	5	6
Poids (mg)	2986,2	2990,8	2988,4	3000,7	3005,2	3008,4

Tableau 20: Les prises essais de la solution essai du dosage.

On pèse exactement 1 ovule et on l'introduit dans une fiole de 200 ml, On ajoute 50 ml de méthanol et on chauffe entre 55-60°C jusqu'à ce que la masse soit fondue.

On laisse refroidir et on complète au volume avec le même solvant. On mélange.

Centrifuger environ 30 ml de la solution à 3000 rpm et filtrer le surnageant à travers un filtre whatman n°40 ou équivalent.

Transférer 5 ml du surnageant dans une fiole de 100 ml, ajouter 5 ml de l'étalon interne et compléter au volume finale avec l'acétonitrile et mélanger.

b. Résultats et discussions

Test de Suitabilité : On injecte 3 fois les solutions témoins 80, 100 et 120 %.

La résolution entre les deux pics (Econazole et Sertaconazole) doit être supérieure à 2.

Les résultats obtenus avec les témoins (80, 100 et 120 %) ne doivent pas montrer de différence supérieure à 2 % par rapport à la valeur théorique.

(Voir chromatogramme suivants)

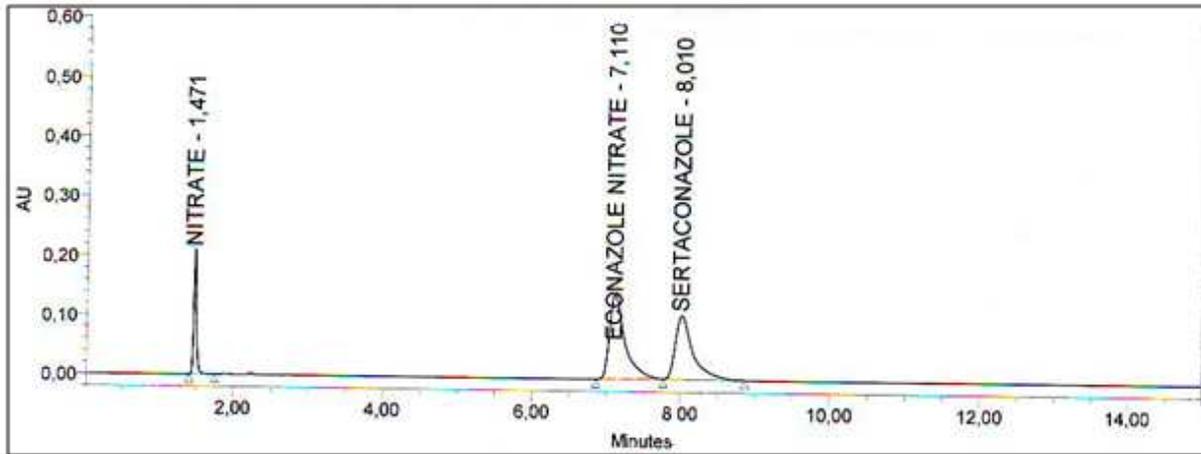


Figure 18: Chromatogramme témoin Gyno-Dermofix.

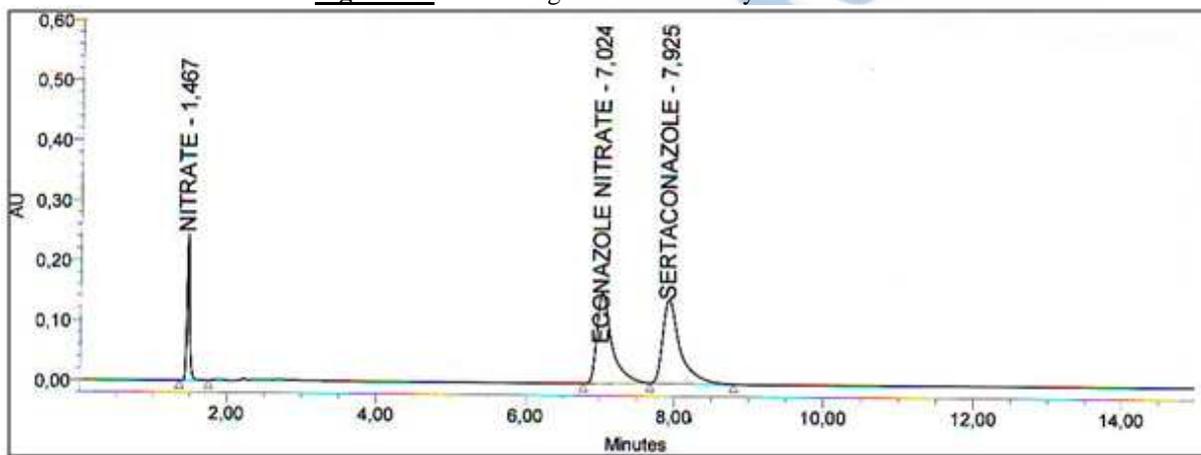


Figure 19: chromatogramme essai de Gyno-Dermofix.

Courbe d'étalonnage :

A partir des données des spectres témoins à 80%, 100% et 120%, on trace la courbe d'étalonnage représenté ci-dessous et on se basant sur l'équation de la droite de régression, on fait sortir la valeur de la concentration des différents essais qui rentre dans la formule de calcul pour le titre en Sertaconazole nitrate.

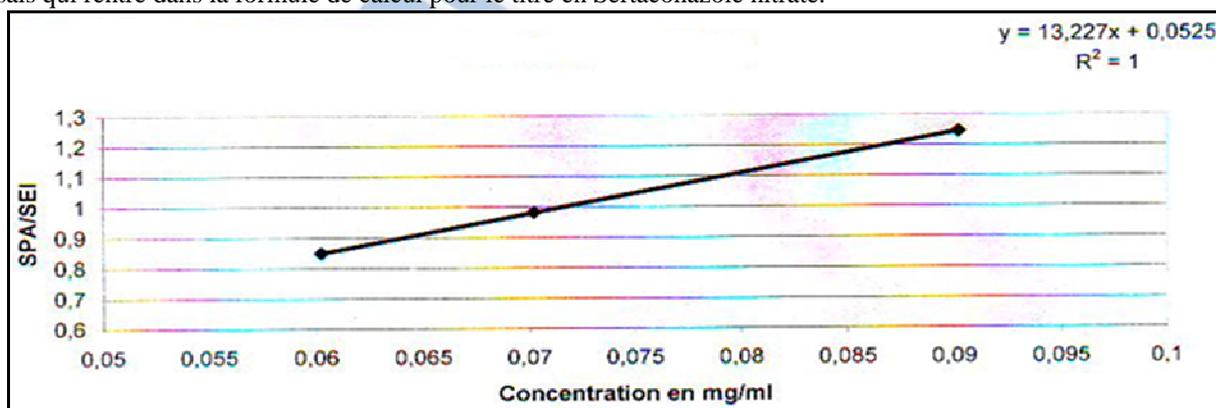


Figure 20: Courbe d'étalonnage.

La quantité de sertaconazole nitrate par ovule est donnée par la formule suivante:

$$T = C \times \frac{4000}{P_e} \times MM$$

MM : La masse moyenne de l'ovule.



Pe : La prise essai de l'échantillon à contrôler.

C : la concentration déduite de la courbe dans l'essai 4000 : facteur de dilution.

Essai N°	1	2	3	4	5	6	Normes
Teneur (mg/ovule)	307,80	301,71	295,12	293,51	293,87	292,76	285 -315

Tableau 21: Teneur des 6 essais Gyno-Dermofix.

On calcule la moyenne pour les 6 prises d'essais, on trouve :

$$T_{moy} = 297,46 \text{ mg/ovule}$$

Les teneurs expérimentales trouvées lors du dosage du Sertaconazole Nitrate sont en parfaite concordance avec les normes du dossier technique, donc nos résultats obtenus sont conformes.

7. Etanchéité: Conforme

On plonge quelques tançons dans une cloche sous vide remplie par une solution aqueuse diluée de bleu de méthylène. On applique une pression de 450 mbar pendant 2 min.

Aucun tançons ne doit se colorer. Les alvéoles sont étanches.

III.5. Dermofix crème ^[21]:

A. Contrôle du Produit Semi Œuvré : (PSO)

1. Aspect:

Crème semi-solide et fluide, de couleur blanche, inodore ou avec une odeur faible de graisse.

2. pH: 2,50 à 3,50

Le pH est déterminé sur une dilution de 1 dans 10 ml d'eau distillée.

$$\text{pH} = 3,24$$

Résultat conforme.

3. Taille des particules $\leq 80 \mu\text{m}$: $\geq 95\%$

La détermination se fait au microscope optique à la lumière polarisée ; agrandissement 40 et mesurée sur au moins 600 particules. On prépare une dilution de 1 g dans 2 ml d'eau.

On constate que 100% des particules ont une la taille $\leq 80 \mu\text{m}$: Résultat conforme.

4. Dosage du Sertaconazole Nitrate: 1,90 à 2,10 g/100g

On opère par spectrophotométrie UV.

a. Préparation des solutions :

Solution essai : On pèse exactement 1,2520 g de crème et on l'introduit dans une fiole jaugée de 100 ml. On y ajoute 70 ml de méthanol et on agite pendant 10 min dans un bain à ultrasons. On complète à 100 ml avec le même solvant et on mélange.

On procède à une filtration dont on rejette les 20 premiers ml du filtrat.

On prélève 10 ml de ce dernier et on les introduit dans une fiole jaugée de 50 ml, on complète au volume avec le méthanol.

Solution témoin : On pèse 25,1 mg de Sertaconazole Nitrate (ET) lot : C091077 et les introduire dans une fiole jaugée de 100 ml, on dissout et on complète au volume avec du méthanol.

On prélève 10 ml et on les introduit dans une fiole jaugée de 50 ml et on complète au volume avec du méthanol.

On fait une lecture spectrophotométrie à 302 nm des deux solutions en utilisant le méthanol comme un blanc.



b. Résultats et discussion :

La teneur du Sertaconazole Nitrate en g/100 g de crème est donnée par la formule suivante :

$$T = \frac{A_e}{A_t} \times \frac{P_e}{F_e} \times R_t$$

Les résultats des absorbance par spectroscopie UV-vis sont repris dans le tableau 19 :

	Essai	Témoin	Teneur en (g/100g)	Normes
Absorbance	0,3652	0,3570	2,0455	1,90 à 2,10

Tableau 22: Absorbance du Sertaconazole Nitrate Dermofix crème.

B. Contrôle du Produit Semi Fini : (PSF)

1. Aspect :

Tube en aluminium contenant une crème semi-solide et fluide, de couleur blanche, inodore ou avec une odeur faible de graisse.

2. Masse individuelle :

La masse individuelle de chaque tube doit être comprise entre 28,50 et 31,50 g.

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Normes
Masse (g)	30,47295	30,39384	30,45807	30,49469	30,26056	30,51585	30,32978	30,36457	30,29699	30,45818	28,5-31,5 g

Tableau 23: Masse individuelle Dermofix crème.

Les valeurs trouvées comparées aux spécifications du dossier technique sont conformes.

3. Masse moyenne:

La masse moyenne des 10 tubes ne devra jamais être inférieure à 30 g.

$$MM = 30,4045 \text{ g}$$

4. pH : 2,50 à 3,50 :

Déterminée sur une dilution de 1 ml dans 10 ml dans de l'eau distillée.

$$pH = 3,24$$

Résultat dans les normes.

5. Taille des particules $\leq 80 \mu\text{m}$: $\geq 95\%$

Faire une dilution de 1 : 2 dans de l'eau distillée.

La détermination se fait au microscope optique à la lumière polarisée.

Mesurer au moins 600 particules.

On constate que 100% des particules ont une la taille $\leq 80 \mu\text{m}$; Résultat conforme.

6. Identification du Sertaconazole Nitrate par spectrophotométrie :

On procède à une comparaison des spectres d'absorption entre 400 et 220 nm par rapport à un témoin.

a. Préparation des solutions :

Solution essai : On prend exactement 1,2503 g de crème et on les introduit dans une fiole jaugée de 100 ml. On ajoute 70 ml de méthanol et on agite pendant 10 min dans un bain à ultrasons, on complète au volume avec le méthanol et on filtre.

On prélève 5 ml du filtrat et on l'introduit dans une fiole jaugée de 100 ml et on complète au volume avec le méthanol.

Solution témoin : On pèse 25,1 mg de Sertaconazole Nitrate standard et on les introduit dans une fiole jaugée de 100 ml.

On procède de la même façon que celle pour la solution essai.

Tracer les spectres UV entre 400 et 220 nm des solutions témoin et essai.

b. Résultats et discussions :

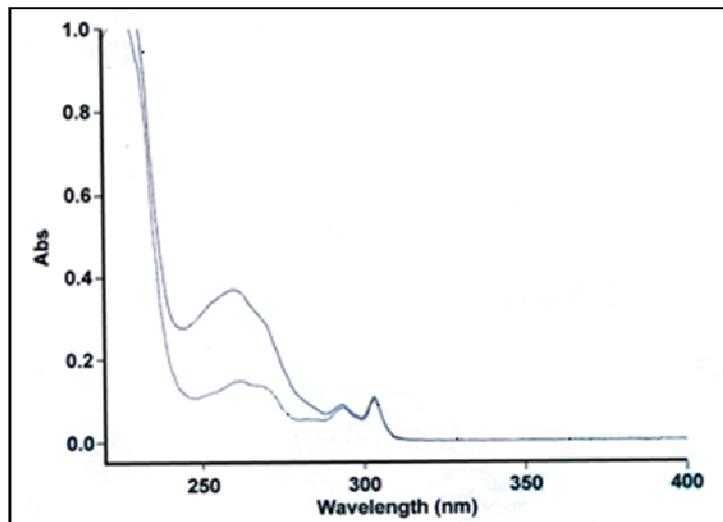


Figure 21: Spectre de l'essai et du témoin.

Les spectres de l'essai et du témoin présentent 2 max d'absorption à 293 nm et à 302 nm.

Longueur d'onde (nm)	Abs Essai lot : 10002	Abs Témoin
A 303,0	0,107	0,101
A 293,0	0,089	0,081

Tableau 24: absorbance Dermofix crème à 303 et 293 nm.

7. Dosage du Sertaconazole Nitrate: 1,90 à 2,10 g/100g

On opère par spectrophotométrie UV.

a. Préparation des solutions :

On suit la méthode décrite au paragraphe dosage du produit intermédiaire.

b. Résultats et discussion :

La teneur du Sertaconazole Nitrate en g/100 g de crème est donnée par la formule suivante :

$$T = \frac{A_e}{A_t} \times \frac{P_t}{P_e} \times R_t$$



Avec : $P_e = 1,2503g$; $R_t = 99,74\%$

	Essai	Témoin	Teneur en (g/100g)	Normes
Absorbance	0,3685	0,3570	2,0668	1,90 à 2,10

Tableau 25: Titre du Sertaconazole Nitrate Dermofix crème.

8. Dosage des conservateurs : Acide sorbique et parahydroxybenzoate de méthyle :

On opère par HPLC, selon les conditions chromatographiques décrites dans la pharmacopée Européenne:

a. Préparation des solutions:

Préparation du tampon pH 5 : On dissout 3,4034 g de KH_2PO_4 (D.O: 03/02/10; D.L.U.O: 03/02/13) lot: 73150/2 1 H_2O , ajuster le pH à $5 \pm 0,05$ avec une solution aqueuse de KOH 1M.

Solution essai : On pèse exactement 0,5024 g de crème et on les introduit dans une fiole jaugée de 50 ml.

On ajoute 40 ml de méthanol et on agite 20 min avec un agitateur mécanique et 5 min dans un bain à ultrasons. On complète au volume avec le même solvant.

Mener à centrifugation 10 min à 4000 rpm et récupérer le surnageant.

Solution témoin : Peser exactement 50,68 mg d'acide sorbique lot: 47845 et 50,69 mg de parahydroxybenzoate de méthyle lot: 1376384 étalon, les introduire dans une fiole jaugée de 100 ml, dissoudre et compléter avec le méthanol. Prélever 1 ml, l'introduire dans une fiole jaugée de 50 ml et compléter au volume avec le même solvant.

b. Résultats et discussions :

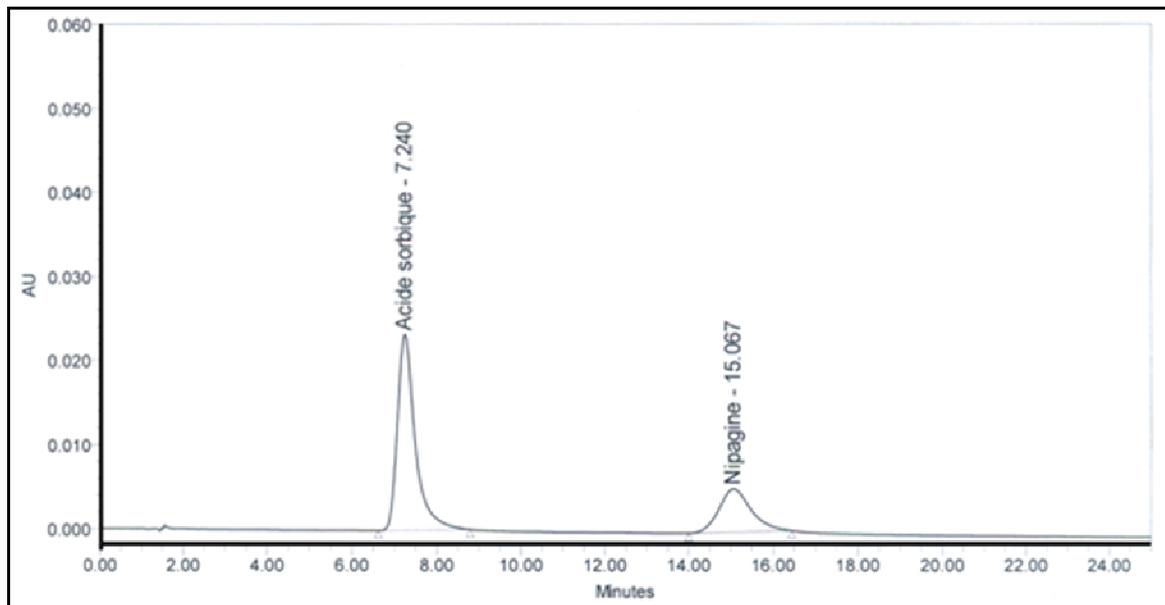


Figure 22: Chromatogramme essai Dermofix crème.

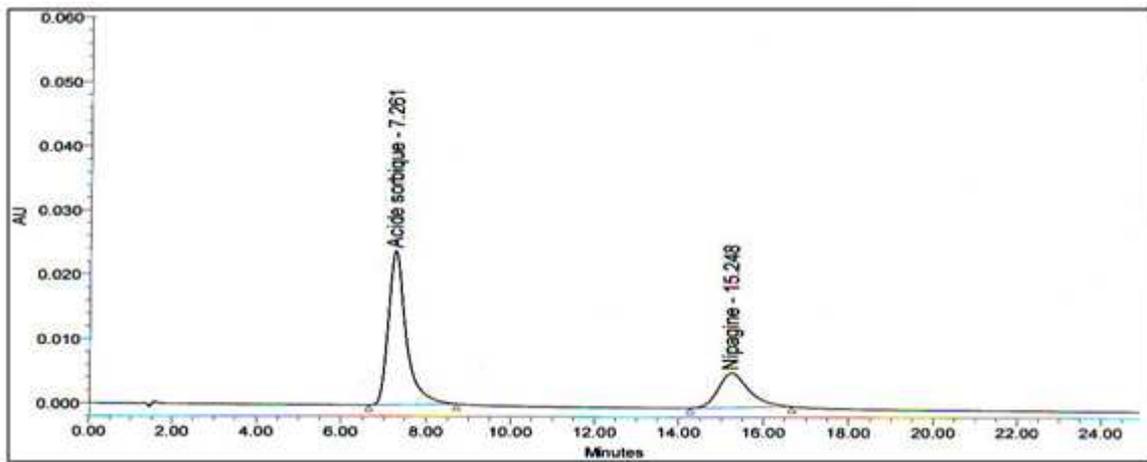


Figure 23: Chromatogramme témoin Dermofix crème.

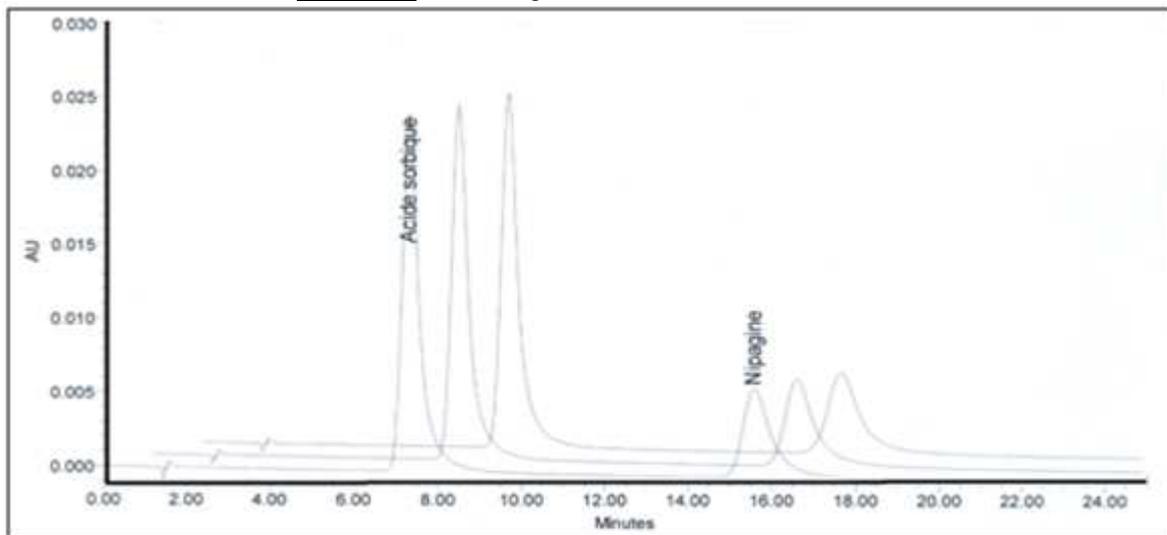


Figure 24: Chromatogramme superposé Dermofix crème.

La quantité de chacun des deux conservateurs en g pour 100 g de crème est donnée par la formule suivante :

$$T = \frac{S_e}{S_t} \times \frac{P_t}{P_e}$$

	Teneur	Normes
Acide sorbique	$T = 98.6574 \%$	90 à 110 %
Parahydroxybenzoate de méthyle (<i>nipagine</i>)	$T = 103.4762 \%$	

Tableau 26: Teneur des conservateurs Dermofix crème.





Partie expérimentale

Fluconazole

L'identification du Fluconazole par spectrophotomètre UV-Vis a été réalisée en utilisant un Spectrophotometre UV-Visible Varian Cary 50 conc (E: 18/01/10, R: 18/07/10) dans les conditions opératoires suivantes:

- Cuve de quartz de 1 cm,
- Spectrophotometre UV à balayage,
- Intervalle de balayage entre 220,1 et 340 nm.

En utilisant un Karl Fischer Titrator DL 31 METTLER Toledo (E: 01/03/10, R: 01/04/10) on détermine la teneur en eau sur une pesée entre 0,1 et 0,2 g de la matière

Le dosage du Fluconazole a été réalisé par potentiométrie dont la solution titrante est l'acide perchlorique 0,1 M lot : NC 0363(ouvert le : 09/03/10 ; péremp : 24/03/10).

Les cendres sulfériques sont déterminé en utilisant un four Nobertherm controler B-170.

Au cours du contrôle des différents paramètres de Fluconazole, on a travaillé avec une balance METTLER Toledo AB 104 S (E: 17/11/09, R: 17/05/10)

Le dosage de l'impureté I est réalisé dans les conditions chromatographiques suivantes et avec les appareils décrit ci-dessous:

Colonne : Nucleosid C 18 12,5 cm x 4 mm ID, 5 μ ou équivalent.

Débit : 1 ml/min.

Détection : 261 nm.

Température de la colonne : 25 °C.

Appareils utilisés:

- Waters N° 2 qualifiée le : 10/09/09 ;
- Balance METTLER Toledo AB 265 S (E: 31/12/09; R: 30/06/10);
- pH metre Seven Multi (E : 18/02/10 ; R : 18/03/10).

Test de suitability: Intérêt : pour écarter tous problème dû au système.

- ♣ La résolution entre le pic de l'impureté I et celui du Fluconazole n'est pas inférieur à 3.
- ♣ Injecter 6 fois la solution témoin.
- ♣ Le RSD est < 5 %.



Dans le cas des impuretés II, III, IV, et V on travail avec les conditions chromatographiques :

Colonne : Nova-pack C 18 15 cm x 3,9 mm ID, 4 μ ou équivalent.
Débit : 1 ml/min.
Détection : 261 nm.
Température de la colonne : 25 °C.

Phase mobile lot: 10149: Méthanol lot: K40120207-921/Acétonitrile lot: 1450630 835 en mode gradient.

Temps (min)	CH ₃ CN	tampon	CH ₃ OH
0	5%	80%	15%
20	55%	30%	15%
23	55%	30%	15%
25	5%	80%	15%

Les solutions préparées seront injectées dans le système chromatographique selon les conditions prescrites dans le dossier technique. Les Appareils utilisés sont les suivants:

- Chaîne HPLC Waters N°1 qualifiée le : 10/09/09;
- Balance METTER Toledo AB 265 S (E : 31/12/09; R : 30/06/10);
- Balance METTER Toledo AB 104 S (E : 17/11/09; R : 17/05/10);
- pH metre Seven Multi (E : 18/02/10; R : 18/03/10).

Test de suitability :

- ◆ La résolution entre le pic correspondant à l'impureté V et le pic Fluconazole est au minimum 4.
- ◆ Injecter 20 μ l de la solution blanc.
- ◆ Injecter 6 fois 20 μ l de la solution témoin, vérifié que le standard de déviation RSD est < 5 % càd : chaîne validée).

Mynazol

La masse moyenne et l'uniformité de masse ont été prise en utilisant une Balance METTLER Toledo AB 104 S (E: 17/11/09; R: 17/05/10).

A l'aide d'un appareil Karl Fischer Titrator DL 31 METTLER Toledo (E : 01/03/10 ; R : 01/04/10), on détermine la teneur en eau sur une pesée entre 0,1 et 0,2 g de la poudre.

La désagrégation de la gélule dispersible du Fluconazole est mesurée à l'aide d'un appareil de désagrégation ERWEKA ZT 322 (E : 28/01/10 ; R : 28/07/10).

Le test de dissolution est réalisé à l'aide d'un appareil de dissolution: Dissolutest ERWEKA DT 800 à palette tournante à une vitesse de 100 tours/min. (E: 01/02/10 ; R : 01/08/10). Les appareils utilisés lors de ce test sont:

- Balance METTLER Toledo XP 205 (E: 06/01/10 ; R : 06/07/10) ;
- Spectrophotometre UV-Vis Cary 50 conc (E : 18/01/10 ; R : 18/07/10).

Sertaconazole Nitrate

L'identification B a été réalisée on utilisant les appareils suivants :

- Balance METTLER Toledo AB 265 S (E: 31/12/09; R: 30/06/10);
- Spectrophotometre UV-Vis Cary 50 Conc (E: 18/01/10; R: 18/07/10).

La CCM est réalisée dans les conditions chromatographiques suivantes :

Plaque : plaque au gel de silice G pour CCM R

Phase mobile : ammoniacque concentrée, toluène, dioxane R (1 : 40 : 60 V/V/V)

Dépôt : 5 μ l

Développement : sur un parcours de 15 cm



Séchage : dans un courant d'air pendant 15 min

Détection : exposer aux vapeurs d'iode pendant 30min

La Teneur en eau METTLER Toledo DL 31Karl Fischer Titrator (E: 01/03/10; R: 01/04/10).

Pour le dosage par rapport à la substance anhydre, on a utilisé un potentiomètre 716 DMS titrino (E : 09/03/10 ; R : 09/09/10), On procède a un dosage de la matière active on utilisant une électrode de verre DG-113SC.

Pour les Cendre sulfuriques, on a utilisé les appareils suivants :

- Balance METTLER Toledo AB 104S (E:17/11/09; R: 17/05/10);
- Four Nobertherm controllers B-170.

Les substances apparentées sont réalisés dans les conditions suivantes on utilisant les appareils ci-dessous :

- Chaine HPLC Waters N° 5 qualifiée le : 15/09/2009 ;
- Balance METTER Toledo AB 265 S (E: 31/12/09; R: 30/06/10);
- Balance METTER Toledo AB 104 S (E: 17/11/09; R: 17/05/10).
- Système chromatographique de colonne de dimensions : $L = 0,25$ m, $\Phi = 40$ mm, de phase stationnaire composé de gel de silice nitrilé de diamètre intérieur de $10 \mu\text{m}$.
- Dans une température ambiante, on doit injecter un volume de $20 \mu\text{l}$ avec un débit de $1,6$ ml/min. Le détecteur utilisé est un spectrophomètre à 220nm .

Dermofix gel

Le poid a été pris sur une Balance METTLER Toledo AB 104 S (E: 17/11/09; R: 17/05/10).

La viscosité est déterminée à l'aide d'un viscosimètre RV type BROOKFIELD DV-II+ Pro (E : 17/12/09 ; R : 17/06/10)

La densité est déterminée à 20°C , à l'aide d'un densimètre DE 40 (E: 13/04/10 ; R:13/07/10).

La determination du pH se fait par lecture directe à l'aide d'un pH Metre Seven Multi (E: 20/04/10; R: 20/05/10).

Le Dosage HPLC est réalisé dans les conditions suivantes :

❖ **Conditions chromatographique :**

Colonne	: Spherisorb CN 10μ (250 mm x 4,6 mm) ;
Phase mobile	: Acétonitrile – Solution de NaH_2PO_4 0,01M (55 : 45 v/v) ;
Débit	: 1,2 ml/ min ;
Température de la colonne	: 35°C ;
Longueur d'onde	: 260 nm ;
Volume d'injection	: 5μ ;
Temps d'analyse	: 12 min.

Préparation de la phase mobile : lot 10264

55% Acétonitrile lot: 9141 S (D.O: 19/04/10; D.L.U.O: 19/07/10)

45% NaH_2PO_4 , $2\text{H}_2\text{O}$ 0,01 M: 1,5601 g de NaH_2PO_4 lot : 1278481 (D.O : 03/02/10 ; D.L.U.O : 03/02/13) dans 1 L d' H_2O .

Les appareils utilisés:

- Chaine : HPLC waters N°1 qualifiée le 10/09/09 ;
- Balance METTLER Toledo XP 205 (E: 06/01/10; R: 06/07/10).



Dermofix poudre :

On réalise une CCM selon les Conditions chromatographiques suivantes:

Support	: plaque de Silicagel F254 ;
Phase mobile	: Chloroforme- méthanol (95:5) ;
Détection	: UV 254 nm ;
Volume	: 2 µl ;
R_f	: environ 0,5 ;
Solvant	: Chloroforme- méthanol (50:50).

Le dosage est réalisé en utilisant les appareils suivants :

- Balance METTLER Toledo XP 205 (E: 06/01/10; R: 06/07/10);
- Balance METTLER Toledo AB 265 S (E: 30/12/09; R : 30/06/10);
- Spectrophotometre UV-Vis cary con 50 (E : 18/01/10 ; R : 18/07/10).

Dermofix solution :

Le pH est déterminé à l'aide d'un pH metre Seven Multi (E: 18/03/10; R: 18/04/10) ;

La densité est déterminée sur un densimètre DE 40 (E: 13/01/10; R: 13/04/10) :

Le dosage par HPLC est réalisé dans les Conditions chromatographiques suivantes :

Colonne	: Spherisorb CN 10µ (300 x 4,6 mm)
Température de la colonne	: 35 °C
Débit	: 1,6 ml/min
Longueur d'onde	: 220 nm
Volume d'injection	: 25µl
Temps du cycle	: 25 min
Phase mobile	: NaH ₂ PO ₄ , 2H ₂ O 0,01 M lot : 1278481 : 63V Acétonitrile lot: 9141 S : 37V (D.O: 18/03/10; D.L.U.O: 18/06/13)

Les appareils utilisés lors du dosage sont:

- Chaîne HPLC Waters N°1 qualifié le : 10 septembre 2009 ;
- Balance METTLER Toledo XP 205 S (E: 06/01/10; R: 06/07/10).

Gyno Dermofix:

L'étanchéité est déterminé à l'aide d'un appareil d'étanchéité ERWEKA type VDT (E: 25/01/10; R : 25/07/10).

Les Conditions chromatographiques du dosage par HPLC sont les suivantes:

Colonne	: Sphérisorb cyano 250µ 4,6 mm, 5µ.
Température de la colonne	: Température ambiante.
Débit	: 1,6 ml/min.
Volume d'injection	: 10 µl.
Phase mobile lot: 10288	: Acétonitrile lot: I512730 : 60 V (D.O: 07/04/10, D.L.U.O: 07/07/10) Tampon: NaH ₂ PO ₄ , 2H ₂ O 0,01M lot: 12320 : 40 V

En utilisant les appareils suivants:

- Chaîne HPLC Waters N°2, qualifié le : 10/09/09 ; requalifié le : 10/03/11 ;
- Balance METTLER Toledo XP 205S (E: 06/01/10; R : 06/07/10);



Dermofix crème

Le dosage par spectrophotomètre UV-Vis est réalisé à l'aide de:

- Balance XP 205 METTLER Toledo (E : 06/01/10 ; R: 06/07/10) ;
- Spectrophotometre UV-Vis Varian (E: 18/01/10; R: 18/07/10).

Le pH est déterminé à l'aide d'un pH mètre Seven Multi METTLER Toledo (E : 20/04/10 ; R : 20/05/10).

Le dosage des conservateurs est réalisé dans les conditions suivantes:

Colonne	: Spherisorb ODS -2 10 µm (30× 0,4 cm)
Température de la colonne	: 35°C.
Débit	: 1,8ml/min.
Volume d'injection	: 10 µl.
Détection	: 260nm.
Durée de l'injection	: 25 min.
Phase mobile lot: 10309	: Tampon phosphate pH 5 : 80V Méthanol lot: I518807 : 20V

Les appareils utilisés sont:

- Chaîne HPLC Waters N°4 qualifié en septembre 2009 ;
- Balance XP 205 METTLER Toledo (E : 06/01/10 ; R : 06/07/10) ;
- PH metre Seven Multi (E: 20/04/10; R: 20/05/10);
- Spectrophotometre UV-Vis Varian Cary 50 conc (E: 18/01/10; R: 18/07/10).

Conclusion

Notre travail consistait à effectuer le contrôle des médicaments qui repose sur des analyses qualitatives et quantitatives :

L'analyse qualitative est réalisée généralement après extraction du ou des principes actifs des formes médicamenteuses à l'aide des solvants appropriés. Les réactifs d'identification sont indiqués pour chaque type de principe actif. Pour arriver à réaliser cette analyse, on recourt souvent aux méthodes chimiques et aux techniques de chromatographie.

Pour ce qui est de l'analyse quantitative, les procédés de dosage sont indiqués pour chaque monographie en fonction de la nature des principes actifs. Diverses méthodes ont été mises au point



pour arriver à réaliser cela, dont on peut citer certaines : la potentiométrie, la spectrophotométrie UV/visible, les techniques chromatographiques et bien d'autres.

En plus des essais qualitatifs et quantitatifs, on trouve les essais d'uniformité de masse, de délitement, de dissolution, et les tests de la recherche du profil impuretés.

Lors du contrôle de la qualité des médicaments, il est question de réaliser tous les contrôles qui vont juger que notre résultat est fiable et conforme à sa monographie consignée dans la pharmacopée de référence et qui le rendrait propre à la consommation.

Les spécialités pharmaceutiques contrôlées au cours de mon stage de fin d'étude, font partie des médicaments génériques dont les principes actifs sont le Fluconazole et le Sertaconazole Nitrate.

Comme nous avons pu le vérifier au terme de nos travaux, les résultats de l'expertise documentaire des dossiers pharmaceutiques, biologiques et analytiques s'avèrent tous conforme, hormis le dosage des impuretés de la matière première du Fluconazole qui était non satisfaisante. Cette substance nécessite donc un nouveau test pour s'assurer de la conformité du produit. En effet, en cas de non-conformité approuvé par plus d'un technicien, PROMOPHARM a recours à rédiger une fiche d'anomalie selon un dossier de gestion des résultats hors normes (Out Of Specification) afin de mettre en évidence une erreur de laboratoire, ou une éventuelle modification par rapport à l'édition précédente.

Par le biais de ce sujet de fin d'études, mon stage m'a permis d'améliorer mes connaissances théoriques et pratiques acquises durant le cursus universitaire, de développer mes capacités d'initiative, d'autonomie et d'adaptation au milieu professionnel. Par ailleurs, ce stage m'a permis aussi de développer mes compétences pratiques et mon savoir-faire par la maîtrise de plusieurs techniques analytiques de base, utilisées dans le secteur pharmaceutique. Enfin, j'ai pu parfaire ma connaissance des exigences du contrôle qualité qui ne conçoit pas comme un ensemble figé de méthodes expérimentales, mais plutôt comme un concept dynamique appelé constamment à évoluer.



Mots clés: