

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU

FACULTÉ DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIÈRE
FILIERE : CHIMIE

MÉMOIRE DE MASTER

SPÉCIALITÉ : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THÈME

**Contrôle qualité de la NOVOFORMINE 850 mg[®]: tests
physico-chimiques et microbiologiques**

Présenté par : **SLIMANI LEATICIA** et **HADJEM HAYET**

Le 11 / 10 / 2021 devant le Jury composé de :

<i>NOM et PRENOM</i>	<i>GRADE</i>	<i>AFFILIATION</i>	<i>QUALITÉ</i>
Mr BENCHOUAK MOUNIR	MAA	(UMMTO)	PRESIDENT
Mr RAHAL FOUJIL	MCA	(UMMTO)	EXAMINATEUR
Mr MECHOUAT MOURAD	MCA	(UMMTO)	ENCADREUR
Dr MAMMOU MARZOUK	MCA	(UMMTO)	Co- ENCADREUR
Mme HAMMAD SARAH	DOCTORAT EN CHIMIE PHARMACEUTIQUE	(LMT0)	Co- ENCADREUR



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour

A ma très chère mère Taous

Tu m'as comblée avec ta tendresse et ton affection tout au long de mon parcours. Tu n'as jamais cessée de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Que dieu te préserve et t'accorde santé, longue vie et bonheur.

À la mémoire de mon père RabeH

J'aurais tant aimé que vous soyez à mes côtés ce jour. Que ce travail soit un hommage que je rends à votre mémoire. Que Dieu vous accorde sa clémence et sa miséricorde et que ce travail soit une prière pour ton âme.

A mes très chers frères Makhlouf et Marzouk

Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Je vous exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.

A mes meilleures amies Célia et Lynda

Pour votre amour, confiance, générosité, et votre présence à mes côtés.

A mon ami Hocine

Merci jeune homme de m'avoir apporté ton soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche

A ma très chère binôme Laeticia

Avec qui j'aime toujours travailler

A tous mes proches et ceux qui m'ont aimé et soutenu dans ma vie

Hayet



Dédicaces

Je remercie DIEU, le tout puissant de m'avoir accordé la santé et le courage pour accomplir ce travail.

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parent Houria et Abdeslam

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation. Puisse Dieu, le tout puissant, vos préserver et vos accorder santé, longue vie et bonheur.

A mes frères et sœurs Slimane, Idris, Lydia, Radia, et Anais

Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

A mes deux Anges Alicia et Yanel

A mes tantes

Pour votre amour, confiance, générosité, et votre présence à mes côtés.

A mon oncle Mohammed

A la mémoire de mes grands-parents, mon oncle hassane, et mon cousin Iounes

A mes chères amies sans exception

A ma binôme Hayet et toute sa famille

Laeticia



Remerciements

Avant tout, notre grande gratitude au bon dieu qui nous a accordé la santé, la volonté et le courage afin d'arriver au bout de ce travail.

*Nous tenons à remercier chaleureusement notre promoteur Monsieur **M. Mechouet** d'avoir bien voulu encadrer et suivre avec bienveillance la réalisation de ce travail, toutes nos reconnaissances pour vos précieux conseils, et aides*

*Nous remercions également notre Co-promoteur Docteur **M. Mammou** pour ces conseils, sa gentillesse, sa disponibilité, et surtout son aide précieuse et surtout pour tout le temps que vous avez pu consacrer à ce mémoire, malgré vos responsabilités.*

*Nous tenons également à remercier chaleureusement les membres de jury monsieur **M. Benchoulak** et monsieur **F. Rahal** qui ont accepté de juger notre travail.*

*Nous souhaitons particulièrement à remercier Mme **Hassdane Nassima eps Boudjemaï**, la responsable du laboratoire de contrôle qualité à LMTO de nous avoir accueilli pour la réalisation de ce travail, On la remercie profondément d'avoir été toujours disponible pour répondre à nos questions, sa modestie, et ses conseils.*

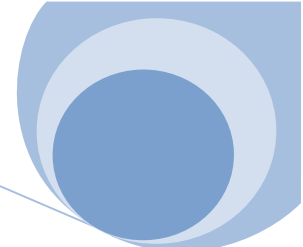
*Un grand remerciement à notre Co-promotrice Mme **Hammad Sarah eps Zouad** pour avoir accepté de diriger ce travail, pour sa confiance, son aide et ses précieux conseils qui ont été d'un grand soutien dans l'élaboration de ce mémoire, et pour le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer.*

Nos remerciements les plus chaleureux vont à toute l'équipe du laboratoire contrôle qualité pour leur gentillesse ainsi que pour leur disponibilité permanente qui nous a profondément touchés et qui nous ont apporté leur soutien moral et intellectuel merci de nous avoir fourni des informations précieuses qui nous ont permis de croître et de faire avancer notre mémoire.

Enfin, on voudrait remercier tous particulièrement nos familles qui ont toujours été là pour nous, et également un grand merci à tous nos amis et camarades de la promotion chimie pharmaceutique.

SIGNES ET ABREVIATIONS

<p>A: Absorbance.</p> <p>ACS: Accelerated stability study</p> <p>ADC: Article de conditionnement.</p> <p>AMM: Autorisation de mise sur le marché.</p> <p>ATR: Attenuated Total Réflectance.</p> <p>BPF: Bonnes pratiques de Fabrication.</p> <p>C: Concentration.</p> <p>°C : degré celsius</p> <p>cfu/g: Unité Formant Colonie par gramme.</p> <p>CP: Comprimé.</p> <p>CR: Change Requête.</p> <p>D: Dissolution.</p> <p>DC: Direct Compressible.</p> <p>DCDA: Dicyandiamid.</p> <p>DGAT: Dénombrement de Germes Aérobie Totaux.</p> <p>DLMT: Dénombrement de Levure de Moisissures Totales.</p> <p>Eur.Ph: Européen Pharmacopeia.</p> <p>Ep: Eau purifiée.</p> <p>F: facteur.</p> <p>IR: Infrarouge.</p> <p>QMS: Quality Management system.</p> <p>RSD: écart type relative.</p> <p>S: écart type.</p> <p>SAB: SABOURAUD.</p> <p>STD: Standard.</p>	<p>Tr : Temps de Rétention.</p> <p>TSA: Tryptic Soy Agar.</p> <p>ISO: International Organization for Standardisation.</p> <p>LMTO: Local Manufacturing Tizi Ouzou.</p> <p>MP: Matière Première.</p> <p>ms/cm: millisiemens par centimètre</p> <p>NIR: Near Infra-Rouge.</p> <p>PA: Principe actif.</p> <p>p-value: valeur de p.</p> <p>PVC : Polychlorure de Vinyle.</p> <p>Q:Quantité</p> <p>HPLC: Chromatographie liquide à haute performance.</p> <p>ICH: International Conference on Harmonization.</p> <p>IPC: contrôle in process</p> <p>UFC/g: Unité Formatrice de Colonies par gramme de produit.</p> <p>USP: United State Pharmacopeia.</p> <p>UV/Visible : Ultraviolet/ Visible.</p> <p>ε: coefficient d'atténuation molaire.</p> <p>λ: La longueur d'onde.</p> <p>TSB: Tryptic Soy Broth.</p> <p>UATR: Universel Attenuated Total Accessory</p>
---	---



Signes et abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction générale.....	1
I Présentation du groupe ALDAPH LMTO	2
I.1 Structure d'ALDAPH LMTO	2
I.1.1 Département qualité	2
I.1.2 Service Contrôle Qualité	2
I.1.3 Service de l'assurance qualité	3
I.1.4 Service technique	3
I.1.4.1 Département de Production	3
I.1.4.2 Département de maintenance.....	3
I.1.5 Logistique.....	4
II Contrôle de la qualité du médicament	5
II.1 Contrôle physico-chimique.....	5
II.2 Contrôle qualité des matières premières.....	6
II.2.1 Présentation de la Metformine (DC)	6
II.2.1.1 Metformine HCl.....	6
II.2.1.2 Metformine DC	7
II.2.2 Eau à usage pharmaceutique	7
II.2.3 Contrôle paraffine	8
II.2.4 L'Opadry white	8
II.3 Contrôles au cours de fabrication IPC.....	9
II.4 Contrôles du produit fini.....	9
II.5 Contrôles microbiologiques.....	10
II.5.1 Contamination microbiologique.....	10
II.5.2 Techniques d'études des bactéries	10
II.6 Gestion des non-conformités ou déviations dans l'industrie pharmaceutique	11
II.7 Méthodes analytiques	11
II.7.1 Chromatographie liquide haute performance HPLC.....	11
II.7.2 Spectrophotomètre UV-Visible.....	12
II.7.3 La spectroscopie infrarouge IR	13
II.7.4 Spectroscopie Raman	13
II.7.5 Conductimétrie et PH-mètrie	14

SOMMAIRE

PARTIE PRATIQUE

III Matériels et méthodes	15
III.1 Matériel pour chaque contrôle physico-chimique	16
III.2 Méthodes physico-chimiques.	17
III.2.1 Le contrôle des matières Premières	17
III.2.1.1 Granulat Metformine HCl	17
III.2.1.2 Contrôle de l'eau purifiée	18
III.2.1.3 Contrôle de l'Opadry white	19
III.2.1.4 Contrôle paraffine Spéciale.....	20
III.2.2 Contrôle qualité du produit fini	20
III.2.2.1 Les contrôles physiques	20
III.2.2.2 Contrôles chimiques.....	21
IV Résultats et discussions	29
IV.1 Le contrôle des matières premières	29
IV.1.1 Granulat Metformine HCl	29
IV.1.2 Contrôle de l'eau purifiée.....	30
IV.1.3 Contrôles de l'Opadry white	31
IV.1.4 Contrôle de la paraffine Spéciale	33
IV.2 Contrôle qualité du produit fini	33
IV.2.1 Contrôle physique	33
IV.2.2 Contrôles chimiques	35
IV.2.2.1 Dosage de la Metformine HCl par spectrophotométrie UV	35
IV.2.2.2 Essai Dissolution.....	37
IV.2.2.3 Contrôle de la Novoformine 850mg par chromatographie HPLC.....	39
IV.2.3 Test de pureté microbienne :	44
Conclusion générale	46

Liste des annexes

Annexe I : définitions

Annexe II : Résultats du système de Suitability

Annexe III : Valeur de P

Résumé

LISTE DES TABLEAUX

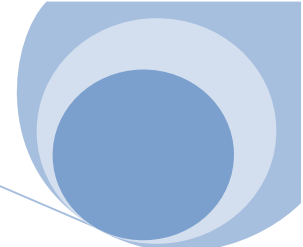
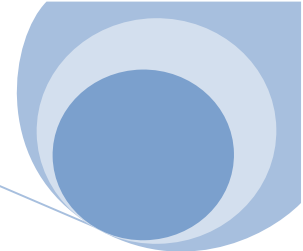


Tableau II-1: propriétés physico-chimiques de la metformine hcl.	6
Tableau III-1: matériel utilisé pour le contrôle qualité.....	16
Tableau III-2: unité de prélèvement de l'eau purifiée.	18
Tableau III-3: norme de la conductivité en fonction de la température.	18
Tableau III-4: critères d'acceptations.	23
Tableau IV-1: conductivité de l'eau dans les unités de prélèvement.....	30
Tableau IV-2: formule de calcul de l'écart type et l'écart type relative.....	33
Tableau IV-3: dureté des 10 comprimés ainsi leur diamètre.	34
Tableau IV-4: résultats de calcul de la moyenne et de std.	34
Tableau IV-5: la masse des 20 comprimés pesés.	34
Tableau IV-6: poids moyen des 20 comprimés pesés.	35
Tableau IV-7: la masse et l'absorbance des solutions standards et des échantillons.....	36
Tableau IV-8: les données brutes de la spectrophotométrie.....	36
Tableau IV-9: teneur en metformine hcl par comprimé.....	36
Tableau IV-10: la masse des 6 comprimés et la masse du standard.....	37
Tableau IV-11: paramètre du standard.	37
Tableau IV-12: valeurs des concentrations des 6cps chaque 5min pendant 35min.	38
Tableau IV-14: résultats des pics d'injection de la solution 1.	41
Tableau IV-15: résultats d'injection de la solution 2.....	42
Tableau IV-16: résultats des pics d'injection de la solution 3.	42
Tableau IV-17: résultats d'identification et dosage des impuretés de la Novoformine.....	444
Tableau I-18: résultats d'enrichissement des bactéries dans leurs milieux.....	45
Tableau I-19: résultats du contrôle microbiologique de la Novoformine 850 mg.....	45

LISTE DES FIGURES

Figure 1: structure de la metformine hcl.	6
Figure 2: schema d'installation de l'hplc.	12
Figure 3: schema du principe du fonctionnement d'un spectrophotometre uv-visible.....	13
Figure 4: appareil de la spectroscopie raman "truscan".	13
Figure 5: appareil de conductimétrie et ph-métrie.	14
Figure 6: spectre de metformine et de sa reference.....	29
Figure 7: graphe de la conductivite en fonction de la temperature.	30
Figure 8: couleur des eaux apres le chauffage.	31
Figure 9: aspect de la suspension de l'opadry white.....	31
Figure 10: spectre d'echantillon d'opadry et de sa reference.....	32
Figure 11: spectre d'echantillon de la paraffine et de sa reference.....	33
Figure 12: profil de dissolution des 6cps en fonction du temps.....	39
Figure 13: chromatogramme d'injection de la metformine hcl.	40
Figure 14: chromatogramme de la solution 1.....	41
Figure 15: chromatogramme de la solution 2.....	42
Figure 16: chromatogramme d'injection de la solution 3.....	43

INTRODUCTION



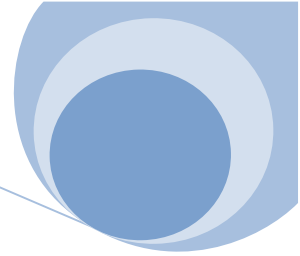
L'industrie pharmaceutique est de nos jours une industrie florissante et importante tant du point de vue de l'innovation que du business pour répondre aux enjeux, toujours grandissante, de la santé publique. Cependant, la production de médicaments nécessite de nombreuses réglementations strictes et contraignantes qui ont pour préoccupations premières d'assurer la qualité, la sûreté et l'efficacité des produits mis sur le marché. C'est pourquoi les industriels n'ont cessé d'améliorer la qualité de leurs produits au fil du temps.

Pour y parvenir, les normes de qualité (pharmacopées) et les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) ont été mises en place. Elles fournissent des descriptions détaillées des caractéristiques physico-chimiques de la matière première jusqu'au produit fini et les techniques analytiques à mettre en œuvre pour un contrôle continu tout au long du processus de production.

Ce mémoire de fin d'études résume le travail réalisé au niveau de la filiale ALDAPH LMTO, en nous intéressant au contrôle qualité de la NOVOFORMINE 850[®] mg.

Nous présentons ce travail en deux grandes parties: La partie bibliographique est divisée en deux chapitres. Le premier est consacré à une brève présentation de la filiale ALDAPH LMTO et les différents départements et services qui existent au sein de cette usine. Au second chapitre, nous résumons les différents contrôles de la NOVOFORMINE 850[®] mg et les méthodes d'analyses physico-chimiques applicables

La partie expérimentale est présentée en deux chapitres. Le Chapitre I présente les différentes méthodes et appareils utilisés, ainsi que des notions générales sur la méthodologie de la recherche expérimentale. Le chapitre II concerne l'interprétation des résultats obtenus. Enfin, nous clôturons notre travail par une conclusion générale.



I Présentation du groupe ALDAPH LMTO

Novo Nordisk Aldaph Production Pharmaceutique (ALDAPH LMTO) est la première usine construite en Afrique par le groupe Novo Nordisk. Elle est établie dans la zone industrielle Aïssat Idir à oued Aïssi, wilaya de Tizi-Ouzou, Algérie. Elle a ouvert ses portes en mai 2006 et depuis, elle produit un antidiabétique du type II, dit "non insulino-dépendant". Actuellement, l'usine produit annuellement plus de 10 millions de boîtes. ¹

I.1 Structure d'ALDAPH LMTO

L'usine est composée de trois principaux départements: département technique (production et maintenance), la logistique et enfin le département qualité, dont nous allons plus parler dans le paragraphe suivant.

I.1.1 Département qualité

Il a pour objectif de surveiller la qualité du médicament produit, et d'assurer que les exigences des bonnes pratiques de fabrication (BPF) sont bien respectées.

I.1.2 Service Contrôle Qualité

Le service s'occupe des contrôles à partir de la matière première, jusqu'au produit fini. Pour réaliser sa mission, trois laboratoires sont mis à contribution, qui est :

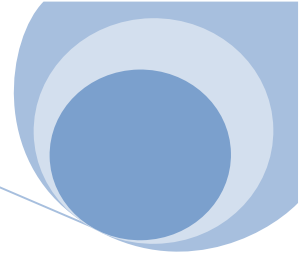
- **Laboratoire du contrôle des matières premières et articles de conditionnement**

Vérifier la conformité des matières premières achetées par rapport aux normes convenues avec le fournisseur.

- **Laboratoire de physico-chimie** a pour objet la caractérisation, et à la mesure de la pureté, et s'assurer de la conformité du médicament.

- **Laboratoire du contrôle microbiologique** permet d'isoler et d'identifier un micro-Organisme spécifique, ou quantifier une flore particulière dans un échantillon.

¹ Intra web: ALDAPH LMTO.



I.1.3 Service de l'assurance qualité

➤ **Qualité Management système (QMS)**

Il met en place les procédures écrites et des documents de suivi, permettant la réalisation du contrôle qualité en conformité avec les exigences pharmaceutiques et d'assurer sa traçabilité.

➤ **Revue et libération Matières Premières et Article de Conditionnement et produit fini**

Ils détaillent l'ensemble des matières premières, équipements et systèmes informatisés utilisés et précisent toutes les instructions de fabrication, de conditionnement, d'échantillonnage et de contrôle de fabrication. Les technologies analytiques des procédés doivent être également décrites. Une fois ces tâches sont respectées, au regard des critères d'acceptation. Le pharmacien libère le produit fini.

I.1.4 Service technique

Composé de :

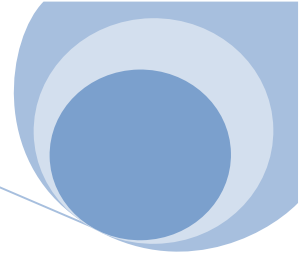
I.1.4.1 Département de Production

Appelé également zone blanche, qui n'est pas classée mais contrôlée, dont l'humidité est suivie et régulée au-dessous de 60%, le taux de renouvellement d'air est de 80 % à 100% selon les locaux. La température est suivie et régulée entre 16°C et 29°C avec comme intervalle de performance 18°C à 24°C.

I.1.4.2 Département de maintenance

Ce département s'occupe de la maintenance de tous les équipements des différents

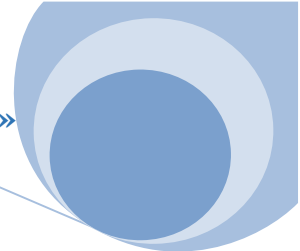
Départements de l'usine.¹



I.1.5 Logistique

Ce département est composé d'une salle de grande surface et il est chargé de stocker les matières premières (granulat, excipient, article de conditionnement), et d'autres produits intermédiaires (vrac ou fini), ainsi que les produits en quarantaine jusqu'à l'expédition des produits finis au point de vente final. Les zones de stockage doivent être conçues et adaptées en vue d'assurer de bonnes conditions de stockage. En particulier, elles doivent être propres et sèches et maintenues dans des limites acceptables de température. Les conditions spéciales de stockage éventuellement requises (par exemple température, humidité) doivent être respectées, mesurées et contrôlées.²

² Guide-BPF, Aout 2017.



Chapitre II : Contrôle qualité de la « NOVOFORMINE 850mg »

La qualité de médicament dépend des matières premières, de la fabrication, du conditionnement et de la validation des procédures analytiques et de fabrication, qui reprend en détail chacune de ces étapes depuis l'origine des matières premières, leurs spécificités et leurs contrôles, jusqu'au conditionnement final, ainsi que des études de stabilité qui permettent de déterminer la durée de vie du produit.

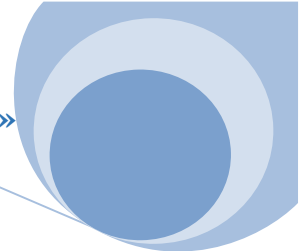
II Contrôle de la qualité du médicament

Le contrôle de la qualité selon les BPF *«Le contrôle de la qualité fait partie des bonnes pratiques de fabrication; il concerne l'échantillonnage, les spécifications et le contrôle, ainsi que les procédures d'organisation, de documentation et de libération qui garantissent que les analyses nécessaires et appropriées sont réellement effectuées et que les matières premières, les articles de conditionnement et les produits ne sont pas libérés pour l'utilisation, pour la vente ou l'approvisionnement, sans que leur qualité n'ait été jugée satisfaisante ».*²

II.1 Contrôle physico-chimique

A partir de la matière première jusqu'au produit fini, le médicament subi des analyses physico-chimiques par plusieurs méthodes analytiques qualitatives et quantitatives, pour vérifier l'absence de résidus toxiques et de risque infectieux, leur bonne conservation, et leur emballage. Les informations sont portées sur la notice.**Erreur ! Signet non défini.** Les produits ne sont pas libérés pour l'utilisation, la vente ou l'approvisionnement sans que leur qualité ait été jugée satisfaisante.³

³Le Hir A,Chaumeil J-C, Brossard D, Charriueau C , Crauste-Manciet S , Pharmacie galénique, bonne pratique de fabrication des médicaments, 9ème Edition, Masson, Paris,2009, pp : 10-11



II.2 Contrôle qualité des matières premières

La réception de la matière première fait l'objet d'une procédure écrite et chaque livraison doit être enregistrée, en indiquant le numéro du bon de livraison et ainsi l'étiquette du fournisseur. De plus, le laboratoire s'assure que des contrôles appropriés de la conformité de la matière première ont été effectués avec présentation du certificat d'analyse daté et validé correspondant au lot fourni. Ensuite, le laboratoire effectue également des contrôles adaptés avant de réaliser la fabrication du médicament, et ce pour vérifier son identité, sa pureté et sa teneur.⁴

II.2.1 Présentation de la Metformine (DC)

II.2.1.1 Metformine HCl

La Metformine HCl est la molécule de Chlorhydrate de 1,1-diméthylbiguanide d'une teneur de 98.5%, qui fait partie de la classe des biguanides utilisés comme médicament pour la maîtrise de l'hyperglycémie chez les patients adultes atteints de diabète de type 2 (non insulino-dépendant, apparaissant à l'âge adulte). Cette molécule réduit l'hyperglycémie en diminuant la production de glucose par le foie et en améliorant la sensibilité des tissus à l'insuline.⁵

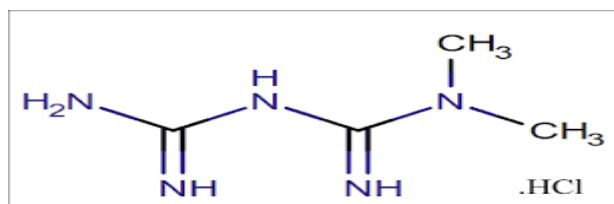


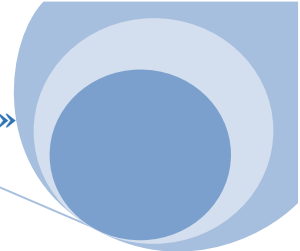
Figure 1: Structure de la Metformine HCl.⁵

Tableau II-1: Propriétés physico-chimiques de la Metformine HCl.⁵

Chlorhydrate 1,1-biguanide	Formule brute : $C_4H_{11}N_5HCl$
Masse molaire (g/mole)	165.62
Aspect	Cristaux blancs ou sensiblement blancs
Point de fusion (°C)	222-226
Solubilité	Facilement soluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol à 96%, pratiquement insoluble dans l'acétone et dans le chlorure de méthylène.

⁴ Document interne à LMTO. Méthode de contrôle du granulat Metformine.

⁵ Pharmacopée européenne, monographie de la Metformine chlorhydrate, édition 10.2020.



II.2.1.2 Metformine DC

C'est la matière première nécessaire à la production des comprimés NOVOFORMINE à 500, 850 et 1000 mg au niveau du site LMTO. Elle est sous forme de granules blanchâtres à jaunâtres avec absence de grumeaux durs, et possédant un écoulement libre. Le granulat est composé du principe actif (Metformine HCl) et les excipients (Povidone, Macrogol 6000 et Macrogol 400, Sorbitol E420, Stéarate de magnésium, hypromellose, Dioxyde de titane E171 et Paraffine spéciale) listés dans la notice du médicament.⁶

➤ Les impuretés de la metformine

Les impuretés de chlorhydrate de Metformine sont des produits de sa dégradation. Dicyandiamid est l'impureté majoritaire décelable, dite spécifiée, dont la teneur doit être évaluée et sa valeur ne doit pas dépasser le seuil d'acceptation.⁷

● Les contrôles

C'est l'identification de la Metformine par l'examen d'un caractère organoleptique (Aspect) et par la détermination de sa teneur en humidité (perte à la dessiccation). L'identification peut se faire également par les méthodes physico-chimiques à savoir ; la chromatographie haute performance HPLC, la spectrophotométrie d'absorption (infrarouge, UV, Raman et proche IR) et un test de pureté microbienne, qui est également effectué pour s'assurer que la matière n'est pas contaminée.⁸

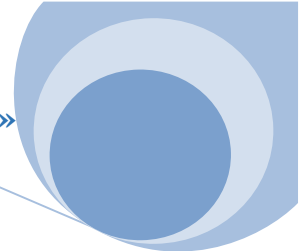
II.2.2 Eau à usage pharmaceutique

L'eau est une matière première, utilisée lors de la production et contrôle du produit fini et le nettoyage de la verrerie dans l'industrie pharmaceutique. On y distingue une eau purifiée qui est une eau destinée à la préparation de médicaments autres que ceux qui doivent être stériles et exempts de pyrogène, et une autre pour chromatographie. Cette eau doit présenter une qualité biologique élevée, dont les normes qualitatives et les procédés d'obtention et les méthodes de contrôle qualité sont bien définies par la pharmacopée européenne, qui sont :

⁶ Document interne LMTO : Méthode de fabrication de la Novoformine.500mg ,850mg, 1000mg.

⁷ Documents interne à LMTO : Monographie de la Metformine HCl.

⁸ Document interne à LMTO. Méthodes de contrôle du granulat Metformine DC.



- Aspect visuelle
- Mesure de la conductivité
- Mesure de substances oxydables
- Test de nitrates

Un contrôle microbiologique est également effectué pour vérifier l'absence de micro-organismes.⁹

II.2.3 Contrôle paraffine

La paraffine est un liquide incolore, inodore, insipide et non miscible à l'eau, utilisée pour donner un aspect lisse aux comprimés.¹⁰

Le contrôle complet n'est pas effectué, en raison de la conformité du produit par agrément avec le fournisseur. Cependant, un contrôle réduit est effectué, et se résume à l'identification par spectroscopie.¹¹

II.2.4 L'Opadry white

C'est un revêtement à base de (polyvinyle-alcool), qui offre un haut niveau de rétention d'humidité, une stabilité améliorée de la couleur du produit final, et permet également de masquer le goût amer.¹²

● Contrôles

Ils consistent à l'identification de la matière par la méthode spectroscopique en utilisant le proche IR (NIR) ou Raman, et par analyse d'une ou plusieurs caractéristiques d'un échantillon et comparer les résultats obtenus à des spécifications préétablies pour vérifier la conformité de la matière première par rapport à des exigences de la pharmacopée. Les contrôles effectués sont les suivants

- Aspect
- Taux de l'humidité
- Aspect de la suspension
- Formation du film
- Test de pureté microbienne.¹³

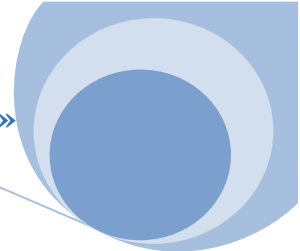
⁹ Document interne à LMTO. Méthode de contrôle de l'eau.

¹⁰ Document interne à LMTO: Monographie de la paraffine spéciale.

¹¹ Document interne à LMTO : Méthode de contrôle de la paraffine spéciale

¹² Document interne à LMTO: Monographie de l'Opadry

¹³ Document interne à LMTO. Méthode de Contrôle de l'Opadry white.



II.3 Contrôles au cours de fabrication IPC

Durant toutes les étapes qui mènent au conditionnement, le médicament suit un processus extrêmement réglementé où le contrôle qualité et le respect des bonnes pratiques de fabrication sont essentiels.

La production de la Novoformine passe par trois processus :

La compression : C'est le procédé qui permet la mise en forme des granules en comprimés solides.

Le pelliculage : C'est l'opération qui permet d'ajouter une couche supplémentaire aux comprimés nus en utilisant des agents de pelliculage.

Le conditionnement : un conditionnement primaire (mise des comprimés pelliculés sous blisters), assure la protection individuelle de chaque comprimé et un conditionnement secondaire (la mise en étuis les blisters et les notices) pour la protection du médicament tout au long de sa durée de vie.¹⁴

Ces tests suivants sont régulièrement réalisés sur les comprimés nus par contrôle de :

- Caractères organoleptiques (aspect)
- Uniformité de masse,
- Dureté,
- Temps de désagrégation,
- Taux de friabilité.¹⁵

L'objectif est de s'assurer qu'au cours de la fabrication, la répartition du mélange initial en unités de prise a été suffisamment précisée.³

II.4 Contrôles du produit fini

Le contrôle qualité sert à vérifier l'identité de la Metformine HCl et sa teneur dans le produit fini. Le produit fini est évalué sur son homogénéité, sa pureté, sa dureté et sa sûreté afin de garantir au patient que le contenu de l'emballage correspond en tout point à ce qui est déclaré sur l'étiquette, et qu'il est ainsi conforme à l'AMM.¹⁶

¹⁴ Document interne à LMTO : Méthode de fabrication de la Novoformine 500mg, 850mg, 1000mg.

¹⁵ Document interne à LMTO : Contrôle de la qualité des comprimés nus 500mg, 850mg, 1000mg.

¹⁶ J.Bouchard. Les bonnes pratiques de fabrication dans l'industrie pharmaceutique. Canada.2009. P 199.

Ce contrôle comprend les tests physiques et aussi chimiques, notamment, de dosage, d'identification, dissolution, un test microbiologique et la stabilité du produit fini une fois mis sur le marché.¹⁷

II.5 Contrôles microbiologiques

Les contrôles microbiologiques doivent permettre de garantir une bonne qualité hygiénique et marchande du produit fabriqué, et minimisent les pertes dues aux mauvaises conditions de fabrication.¹⁸

Les essais microbiologiques ont été conçus pour le dénombrement des bactéries mésophiles, des moisissures et des levures capables de croître en aérobiose. Ces essais sont en premier lieu, destinés à déterminer si un produit faisant l'objet d'une monographie de la pharmacopée, satisfait aux exigences microbiologiques spécifiées dans cette monographie. Le choix de la méthode est déterminé par des facteurs, tels que la nature du produit et le nombre de microorganismes présumés.¹⁹

II.5.1 Contamination microbiologique

Elle regroupe des micro-organismes vivants tels que, les levures, les moisissures, les bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, ou *Salmonella enterica*) et les virus. Ces organismes ont besoin, pour se développer et se multiplier, de conditions d'humidité et de chaleur. Nous devons donc veiller à maîtriser ces différents paramètres afin de minimiser le risque de développement des micro-organismes.²⁰

II.5.2 Techniques d'études des bactéries

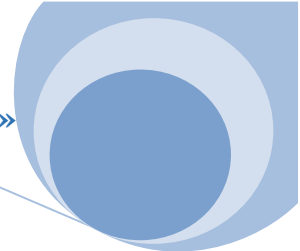
Il est possible d'observer les bactéries soit, lorsqu'elles sont regroupées en colonies sur boîtes visibles à l'œil, qu'il s'agit alors d'une observation macroscopique (aspect de la colonie), soit à l'état de la cellule, qui s'agit d'une observation microscopique (état frais et mobilité et coloration).²⁰

¹⁷ Denine. R. Cours de pharmacie galénique. Alger. P-110.2013

¹⁸ Scriban R. 1999, Biotechnologie Tec & Doc. 5ème Edition, Paris, pp: 927

¹⁹ Pharmacopée Européenne 6.0. 2008, tome 1, chapitre 2.6.12, Essais de dénombrement microbien, pp : 179-182.

²⁰ Ernst T, Rietschel P. Bacterial endotoxin.1994, molecular relationship of structure to activity and function. The FASEB Journal. Vol.8



II.6 Gestion des non-conformités ou déviations dans l'industrie pharmaceutique

Lors de la découverte d'un événement indésirable, la première étape est de définir s'il s'agit d'une déviation par rapport à une procédure, à une spécification ou à un standard approuvé dans un quelconque système de gestion de la qualité (QMS : quality Management System), dans le cadre de processus sujets aux exigences réglementaires au sein des soins de santé, dont les exigences GXP (bonnes pratiques de fabrication, bonnes pratiques aux laboratoires et bonnes pratiques documentaires).

Si une déviation est observée, elle doit être arrêtée et corrigée immédiatement, si possible. Si non, une délimitation de l'incident et une investigation profonde doivent être réalisées pour évaluer et statuer sur l'impact négatif sur la qualité du produit (c'est-à-dire : impact sur la conformité ou la non-conformité du produit).

Ensuite, la cause racine au problème doit être déterminée afin de définir des plans d'actions correctifs adéquats pouvant éliminer/corriger l'incident à la source. Aussi, des plans d'actions préventifs doivent être définis afin d'anticiper d'éventuels récurrences aux incidents similaires.²¹

II.7 Méthodes analytiques

Les méthodes analytiques se rapportent à l'étude du comportement chimique et physique des composés bruts ou préalablement dissous en solution. Il s'agit de matériels décrits par la Pharmacopée européenne et l'USP pour les contrôles qui sont qualifiés et les protocoles validés, comme l'exige la Pharmacopée.

II.7.1 Chromatographie liquide haute performance HPLC

Son principe consiste à l'identification et dosage d'un composé responsable d'un pic sur le chromatogramme.

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant, puis introduit, dans le système. Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se

²¹ Document interne à LMTO : Quality management system

répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne et grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme.²²



Figure 2: Schéma d'installation de l'HPLC.

II.7.2 Spectrophotomètre UV-Visible

La spectrophotométrie UV-visible est une méthode physique non destructive, basée sur les transitions électroniques donnant lieu à une signature spectrale. Elle permet de réaliser des dosages grâce à la loi de Beer-Lambert ($A = \epsilon l C$). Cette méthode est basée sur l'utilisation d'un spectrophotomètre qui détermine l'absorption d'une solution pour une longueur d'onde donnée ou pour une plage de longueurs d'ondes judicieusement choisie.²³

²²Rouessac.F, Rouessac.A, Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales modernes : HPLC, 6eme édition, 2007., p 36- 47,

²³Rouessac.F, Rouessac.A, Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales modernes : spectrophotométrie UV-Visible, 6eme édition, 2007 p 141- 143.

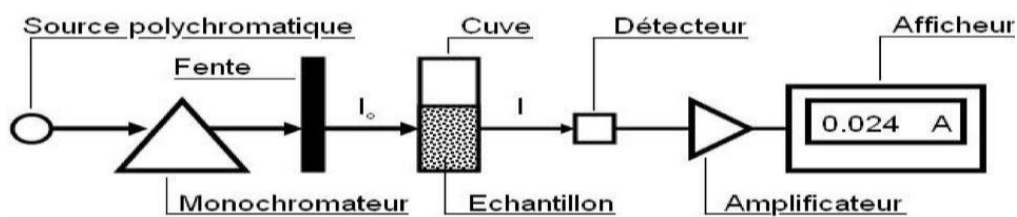


Figure 3: Schéma du principe du fonctionnement d'un spectrophotomètre UV-Visible.

II.7.3 La spectroscopie infrarouge IR

La spectroscopie infrarouge IR est basée sur l'interaction de la lumière IR avec le nuage électronique des liaisons chimiques, ce qui induit des transitions entre les niveaux d'énergie vibrationnelle.²⁴

II.7.4 Spectroscopie Raman

La spectroscopie Raman est une technique d'analyse spectroscopique moléculaire vibrationnelle qui consiste à irradier un échantillon par un laser, à rassembler le rayonnement diffusé, à rejeter la radiation Rayleigh diffusée, à différencier les photons Raman par leur longueur d'onde, et à détecter le spectre Raman qui en résulte.²⁵



Figure 4: Appareil de la spectroscopie Raman "TruScan".

²⁴ BENBAYER.C, cours : Caractérisation des polymères : Principe de la spectroscopie infrarouge p18, Oran 2017/2018.

²⁵ United States pharmacopeia (USP), 2013.

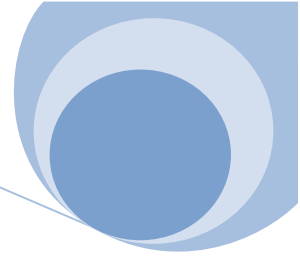
II.7.5 Conductimétrie et pH-métrie

- La Conductimétrie est une technique d'analyse quantitative, permettant d'accéder aux concentrations des ions en solution. Elle est basée sur la connaissance de la conductivité de la solution, grandeur liée à la conductance, mesurée avec un appareil appelé conductimètre.
- Le pH-métrie est une technique potentiométrique d'analyse qui permet d'évaluer la quantité de protons présente en solution. Elle nécessite l'utilisation d'une électrode indicatrice spécifique sensible aux protons appelée électrode de verre, associée à une électrode de référence.²⁶



Figure 5: Appareil de conductimétrie et pH-métrie.

²⁶ Bernard, Tec A ; Clede.S ; Emond.M ; Moninsoyer.H. Quérard.J, techniques expérimentales en chimie, paris 2012, p 59-60



But du stage

Le but de ce stage dont la durée été de deux mois c'était d'acquérir des connaissances sur le contrôle qualité du médicament dans une industrie pharmaceutique. Pour la consolidation de notre côté théorique, nous avons décidé de suivre, lors de notre stage a NovoNordisk ALDAPH LMTO, le contrôle qualité d'un lot de routine des comprimés d'un biguanide Normoglycémiant « Novoformine » 850 mg, étape par étape, dès la réception des matières premières jusqu'à la fabrication du produit fini et les différents contrôles qualité effectués.

Sécurité au laboratoire

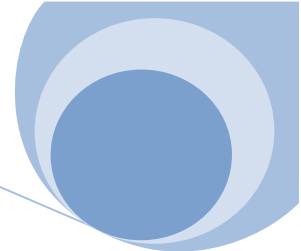
Travailler dans un laboratoire de chimie expose à des risques dus aussi bien aux produits chimiques potentiellement toxiques qu'au matériel spécifique qu'un expérimentateur doit connaître pour les utiliser sans danger.

Il faut ainsi avoir conscience des risques encourus et tout faire pour protéger les autres et soi-même, tout en gardant en tête que le danger peut venir d'autrui.

III Matériel et méthodes

La totalité des contrôles analytiques que nous avons effectué au cours de ce travail ont eu lieu au niveau du laboratoire de Contrôle de Qualité (LCQ). Le matériel utilisés dans notre étude pour les différents contrôles à partir des matières premières jusqu'au produit fini, seront présentés dans la partie suivante.

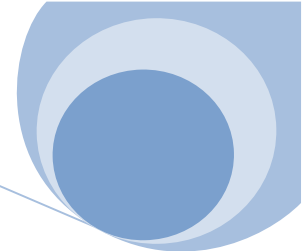
Tous les équipements utilisés tout au long de ce travail ont été préalablement étalonnés et calibrés suivant les instructions d'appareillage de chaque équipement.



III.1 Matériel pour chaque contrôle physico-chimique

Tableau III-1: Matériel utilisé pour le contrôle qualité.

Matériel en commun		
Verreries	Equipements	Réactifs
Spatule, Coupelle. Becher 25ml, 50ml, 100ml, 250ml Flacon de 100ml Pipette 10ml Fiole 100 ml	Dessiccateur halogéné Conductimètre pH-mètre Hotte aspirante Plaque chauffante Micropipette. Balance analytique	Permanganate de potassium 0.02M Acide sulfurique
Matériel spécifique		
Pour matières premières		
Eprouvette graduée 100ml, Flacon de 5ml	Truscan accessoire (Nose cone). Spectrophotomètre IR Accessoire ATR.	L'eau purifiée
Pour produit fini		
Filtre 0.45µm Fiole ambré 20ml, 50,100 et 200 ml Fiole stransparente 200ml. Flacons HPLC de 1.5ml Pipettes en plastique Spatules vibrantes	Micropipette. Microbalance Dissolu-test Spectrophotomètre UV-Visible Micropipette 1000µl Ultrason (Agitation), Dégazeur Seringue 5ml Filtre à seringue 0.45µm	Cp Novoformine 850mg Metformine HCl pure 99.8%. Hydroxyde de sodium Phosphate de potassium (KH ₂ PO ₄) Acide phosphorique (H ₃ PO ₄) Dicyandiamid (C ₂ H ₄ N ₄). Mélamine (C ₃ H ₆ N ₆). Phosphate d'Ammonium (NH ₄ H ₂ PO ₄)



III.2 Méthodes physico-chimiques.

III.2.1 Le contrôle des matières Premières

Dans notre étude, les contrôles effectués sur les matières premières sont réduits car le LCQ reçoit un certificat du fournisseur qui renseigne qu'un contrôle complet a été effectué pour chaque matière reçue.

III.2.1.1 Granulat Metformine HCl

- **Aspect**

L'aspect du principe actif a été vérifié à l'œil nu, par comparaison à un fond blanc.

Critères d'acceptations

Granulat blanchâtre à jaunâtre, absence de grumeaux durs avec écoulement libre de la poudre.

- **Perte à la dessiccation**

Ce test consiste à déterminer la proportion de l'eau dans l'échantillon. Il s'agit de mettre de $2g \pm 0.5$ du granulat dans une coupelle, puis mettre celle-ci dans un dessiccateur halogéné à une température de $105 \pm 2^\circ$ pendant 2min.

La loi qui permet de calculer le taux de l'humidité est donné par la relation suivante :

$$\text{Perte à la dessiccation} = \frac{PEI - PEF}{PEI} * 100$$

PEI : prise d'essai initial.

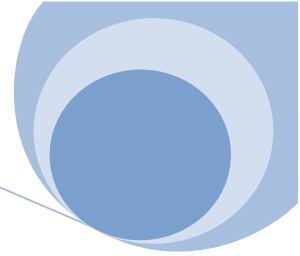
PEF : prise d'essai final.

Limite : la perte à la dessiccation doit être inférieure. à 1.5%.

- **Identification par spectroscopie Raman**

En premier lieu, une vérification de l'appareil est effectuée par un étalon polystyrène. Une fois effectuée, on passe à l'identification du granulat avec l'accessoire Nose cone. Pour cela, on choisit dans l'équipement la méthode Metformine granulat, et on scan directement à travers les deux sacs en plastiques contenant la metformine.

Critères d'acceptation : Le résultat du scan doit être : **Pass, P ≥ 0.05**



III.2.1.2 Contrôle de l'eau purifiée

Quatre tests ont été entrepris pour vérifier que l'eau purifiée est exempt de nitrate, de substance oxydable et de métaux lourds, d'une part, et sa conductivité d'autre part. Dans notre travail nous avons pu assister à deux méthodes de contrôles qui sont les suivantes :

- **Méthode de Conductivité :**

La mesure de la conductivité électrique permet d'évaluer rapidement mais très approximativement la minéralisation globale de l'eau. Des températures élevées agissent sur la conductivité électrique par action sur la mobilité des sels.

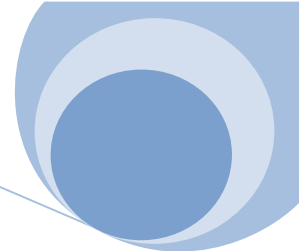
Nous prélevons de chaque station d'épuration une quantité d'eau purifiée dans des flacons (Voir tableau III-2). Pour déterminer la quantité de sels inorganiques existants dans ces eaux et leur aptitude à conduire le courant électrique, on mesure la conductivité à l'aide d'un conductimètre et on enregistre simultanément la température.

Tableau III-2: Unité de prélèvement de l'eau purifiée.

L'eau purifiée	Unité de prélèvement
Ep2	Eau douce prétraitement
Ep3	Sortie de station de traitement d'eau
Ep4	Production (pelliculage)
Ep5	Laverie au niveau de la production
Ep6	Production (Pelliculage)
Ep7	Laboratoire contrôle qualité

Tableau III-3: Norme de la conductivité en fonction de la température.

T (°C)	conductivité (ms/cm)	T (°C)	conductivité (ms/cm)
0	2,4	50	7,1
10	3,6	60	8,1
20	4,3	70	9,1
25	5,1	75	9,7
30	5,4	80	9,7
40	6,5	90	9,7
		100	10.2



- **Substances oxydables**

Les substances oxydables constituent l'essentiel de la partie biodégradable de la pollution organique rejetée. Pour les éliminer, les bactéries présentes dans le milieu utilisent l'oxygène dissous dans l'eau. Des déversements importants de matière organique peuvent entraîner des déficits notables en oxygène dissous, perturbant ainsi l'équilibre biologique d'un cours d'eau.

Déterminer les substances oxydables contenant dans l'eau purifiée.

Mode opératoire

Dans un bêcher, nous prélevons 100 ml de l'EP, à qui on ajoute 10 ml d'acide sulfurique dilué à l'aide d'une pipette, ensuite avec une micropipette, on prélève 0.1 ml de permanganate de potassium 0.02 M, puis chauffer à ébullition pendant 5 min.

Norme : la solution reste légèrement rose.

III.2.1.3 Contrôle de l'Opadry white

Le contrôle s'effectue en se référant obligatoirement aux exigences de la pharmacopée dont le but est d'identifier et d'observer l'aspect de la suspension la poudre d'Opadry.

➤ **Aspect**

Contrôle visuel de l'aspect de la poudre de l'Opadry, qui doit être blanche.

- **Aspect de la suspension**

On dissout 1 g \pm 0.5 de l'Opadry dans 100 ml de l'eau purifiée, puis Chauffer la solution puis refroidir tout en observant son comportement.

- **Formation du film**

Placer 5 ml de la solution S dans une coupelle et sécher à 105°C, et laisser refroidir.

Norme : La solution doit être blanche et homogène.

Norme

Lors du chauffage : Formation d'un précipité blanc.

Lors du refroidissement et agitation : Dissolution du précipité.



- **Identification par spectroscopie Raman**

Mode opératoire

L'identification de la substance Opadry a été réalisée par la spectroscopie Raman. La même technique a été faite pour identifier le principe actif (Granulat metformine)

Norme : le résultat du scan doit être : Pass (p-value ≥ 0.05).

III.2.1.4 Contrôle paraffine Spéciale

Le contrôle s'effectue en se référant obligatoirement à la spécification de la pharmacopée.

- **Aspect**

Contrôle visuel de la paraffine, a été vérifié à l'œil nu, comparant à un standard de référence.

Norme : masse incolore ou blanche ou presque blanche

- **Identification par spectrophotométrie Infrarouge**

L'identification de la paraffine a été effectuée par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge et c'est dans le but d'assurer que la matière première testée correspond au principe actif spécifié par le fabricant. Pour ce faire, un échantillon (de chaque fut) a été mis en pastilles puis placée dans le support de l'IR, permettant d'obtenir les différents spectres. La pureté de la paraffine a été comparée avec un Standard de Contrôle et de Référence (SCR). La lecture a été effectuée sur spectrophotomètre infrarouge lié à un logiciel.

III.2.2 Contrôle qualité du produit fini

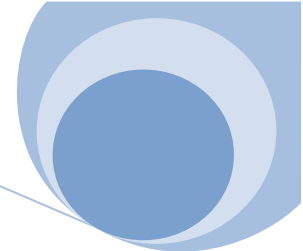
Le produit fini subit des contrôles physicochimiques et microbiologiques.

III.2.2.1 Les contrôles physiques

- **Aspect et Dureté**

Identifier l'aspect et la couleur du comprimé, sur un fond blanc par rapport à une référence. Mesurer la dureté et le diamètre des 10 comprimés de la Novoformine à l'aide d'un duromètre.

Critères d'acceptation : le Cp pelliculé blanchâtre a jaunâtre, corps convexe, diamètre de 13 mm, avec une cassure au milieu d'une face.



- **Uniformité de masse :**

L'essai d'uniformité de masse des comprimés de Novoformine 850mg permet d'assurer qu'au cours de la fabrication, la répartition du mélange initial de poudre, en unités de prises (chaque Cp), est suffisamment précise et uniforme pour garantir une même masse et donc une même teneur en principe actif pour l'ensemble des comprimés du même lot. Pour ce faire, 20 comprimés ont été pesés séparément, ensuite la masse moyenne a été calculée puis comparée à la norme de la pharmacopée européenne.

Normes : La valeur théorique de la masse moyenne doit être **938±5mg** ; Ne pas avoir plus de 2cp qui dévient plus de 5% et aucun d'eux ne doit dévier de 10% de la masse moyenne.

- **Perte à la dessiccation :**

Ce test consiste à déterminer la proportion de l'eau dans la Novoformine qui est susceptible d'être éliminée par la chaleur. Pour se faire, nous broyons 20 comprimés, ensuite on introduit $2g \pm 0.5$ de la poudre dans le dessiccateur halogène à une température de 105°C.

La relation pour calcul de taux de l'humidité : $\frac{PEI-PEF}{PEI} * 100$

Critères d'acceptation : inférieure $\leq 2.0\%$.

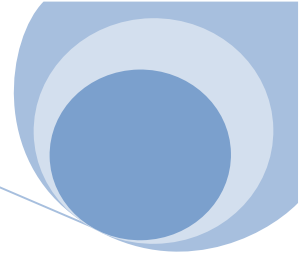
III.2.2.2 Contrôles chimiques

- **Dosage de la Metformine HCl par spectrophotométrie UV**

Le test du dosage permet de s'assurer que la quantité moyenne du principe actif déterminée dans la Novoformine se trouve dans les limites de concentrations [807.5 – 892.5] mg/cps qui sont exigées par la pharmacopée européenne, et ce, pour obtenir l'effet thérapeutique voulue. Pour ce faire, on procède à la préparation des solutions nécessaires.

- **Solution échantillon :**

Peser 110mg de poudre de Novoformine dans une fiole de 100 ml ; puis ajouter 70 ml d'eau purifiée. Agiter pendant 15 min, ajusté à 100 ml avec l'eau purifiée, puis filtrer la solution à travers un filtre PVDF (0.45 µm). Et au final, diluer 1ml de la solution du filtrat dans 100 ml d'eau (pour chaque lot).



➤ **Solution standard:**

Peser 100 mg de la Metformine HCl (étalon) pure à 99.8% dans une fiole de 100 ml.

Dissoudre les 100 mg pesés dans l'eau purifiée. Puis dans une autre fiole, dilué 1 ml de la solution préparée dans de l'eau.

Essai de Dissolution:

Ce test est effectué afin de déterminer la concentration du principe actif libéré à des moments précis, dans un milieu de dissolution qui mime le milieu aqueux de l'organisme. Pour ce faire, deux solutions ont été préparées comme suit :

Conditions opératoires :

Le protocole opératoire décrit selon la pharmacopée :

Volume par bol : 1000 ml

Milieu de dissolution : pH = 6.8

Température du bol : $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$

Temps total de dissolution : 35 min

Intervalles des prélèvements : Chaque 5 min.

Vitesse de rotation des pales : 100 tours/ min

Longueur d'onde : 256 nm.

Cuve spectrophotomètre : 5 mm.

Logiciel : Lambda 35.

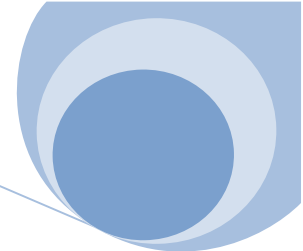
Cellule : 10 cm pour la 850 mg.

Préparation des solutions

● **Préparation tampon 6.8**

On pèse 68g de KH_2PO_4 et une quantité de 9.4g de NaOH, à qui on ajoute une quantité d'eau purifiée et on met dans l'ultrason la solution de NaOH, et la solution KH_2PO_4 dans un agitateur magnétique. Ensuite dans un Erlenmeyer, on verse les deux solutions préparées et on les met sous agitation et chauffage. A la fin, on ajuste avec des gouttes d'acide phosphorique.

Mesurer à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ le pH de la solution, qui doit être égal à 6.8.



- **Préparation de la solution standard**

Peser 850 mg \pm 5 de la Metformine HCl (étalon) dans un 1 L de tampon.

- **Préparation de la solution échantillon**

On prélève 6 comprimés de « Novoformine 850 mg » et on pèse chaque comprimé au préalable. Chaque comprimé est ensuite placé dans un bol contenant le milieu physiologique préparé sous agitation constante et une température de 37°C. On fait un prélèvement de 10 ml de la solution après 5, 10, 15, 20, 25, 30 et 35 min du contact. Après, on effectue la lecture de l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre UV/VIS à 256 nm pour chaque prélèvement.

Tableau III-4: Critères d'acceptations.

Niveau	Nombre d'unité examinée	Quantités de substance active dissoute Q (%)	Critères d'acceptation à 30min
S1	6	80	Aucune unité n'est inférieure à Q+5 pour cent « 85 % »
S2	6	80	La moyenne des 12 unités (s1+s2) est égale ou sup a Q et aucune unité n'est inf à q-15 % (65%).
S3	12	80	La moyenne des 24 unités (S1+S2+S3) est égale ou supérieur à Q, au maximum 2 unités peuvent être inf a Q-15% (65%) et aucune unité n'est inf a Q-25 (55%).

III.2.2.3 Contrôle de la Novoformine 850mg par chromatographie HPLC

La méthode principale utilisée dans ce travail est une méthode interne à LMTO destinée au contrôle du produit fini. Elle est décrite dans la Pharmacopée Européenne.

Cependant, la recherche des impuretés a été réalisée par la Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) couplée avec la spectrophotométrie UV/visible. Toutes les impuretés contenues dans le médicament ont été recherchées et identifiées quantitativement, dans le but d'assurer que les teneurs en substances apparentées se situent dans les normes de concentrations acceptées par la Pharmacopée Européenne.

La préparation des solutions pour l'identification de la Metformine HCl et les substances apparentées est divisée en deux parties :



Première partie

Préparation des solutions pour l'identification et le dosage du PA.

➤ **Phase mobile (Tampon pH=3)**

Dans un bécher de 200 ml, peser 34 g de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, ajouter jusqu'à 150 ml de l'eau purifié, et placer le bécher sous agitation à l'aide d'un barreau magnétique jusqu'à sa dissolution totale. Mélanger la solution préparée précédemment dans 2 litres d'eau purifiée, et passer à la lecture du pH en ajustant le pH de la solution préparée à un $\text{pH } 3.00 \pm 0.02$ avec l'acide phosphorique. Enfin, filtrer la solution en utilisant un système de filtration avec un filtre GHP 0.45 μm .

➤ **Solution (étalon) de metformine HCl**

Dans une fiole de 100 ml, on fait dissoudre 500 mg de metformine HCl, ajouter la solution tampon $\text{pH} = 3.0$, placer sous ultrason pendant 15 min et laisser la solution refroidir.

Nous diluons 1 ml de la solution mère dans une fiole de 50 ml puis on complète avec la solution tampon $\text{pH} = 3$. Une deuxième dilution est effectuée, avec 1 ml de la solution préparée précédemment dans une fiole de 20 ml de solution tampon $\text{pH} = 3$.

Deuxième partie

Préparation des solutions pour l'identification et le dosage des substances apparentées.

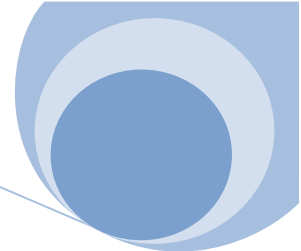
➤ **Solution 2 de la Dicyandiamid:**

Dans une fiole de 100 ml, dissoudre 20 mg de DCD dans de l'eau purifié, puis mettre sous ultrason pendant 15 min et laisser la solution refroidir. Puis diluer 1ml de cette solution dans une fiole de 200 ml de la solution tampon $\text{pH} = 3$.

➤ **Solution 4 mélamine (étalon) et Metformine (échantillon) :**

Dans une fiole de 100 ml, mélanger 10 mg de mélamine et 5 ml de la solution 1 dans de l'eau purifié. Mettre sous un barreau magnétique dans la fiole puis mettre sous agitation, et laisser refroidir.

Ensuite diluer 1 ml de la solution préparée dans une fiole de 50ml et ajuster avec solution tampon $\text{pH} = 3$.



➤ **Solution à Analyser (Novoformine 850 mg) :**

Dissoudre 545 mg de la Novoformine 850 mg dans une fiole de 100 ml de solution tampon pH = 3, puis effectuer une première dilution de 1 ml de la solution dans une fiole de 50 ml de solution tampon pH = 3, ensuite prélever 1ml de cette dernière dans une fiole de 20 ml et ajuster avec la solution tampon pH = 3.

Avant de commencer à utiliser l'équipement, des conditions doivent être respectées.

- Longueur d'onde : 218 nm.
- Débit : 1 ml/min
- Température du four de la colonne : 30°C.
- Volume d'injection : 20 µl.
- Colonne : Nucleosil 10sa 250/ 4.00 mm.

Méthodologie du contrôle

Avant de procéder au contrôle, une évaluation de la conformité de l'équipement de l'HPLC est effectuée, ce qui permet d'apporter un jugement sur le bon fonctionnement et la conformité du système et renseigne sur l'aptitude du système à effectuer l'analyse suivant des critères préétablis et donner des résultats répétables.

Les paramètres généralement utilisés pour évaluer les performances de la colonne sont :

- l'efficacité apparente
- le facteur de rétention (coefficient de distribution massique)
- la résolution
- la rétention relative
- le facteur de symétrie.

Séquence d'analyse pour évaluer le système Suitability

- **Blanc** (Phase mobile ou solution tampon) pour vérifier que la phase mobile ne présente aucun pic.
- **Solution 2** STD de la Dicyandiamid pour vérifier si la solution standard a été bien préparée par mesurant la surface du pic qui doit être 2.7 min.
- **Solution 4** (mélamine et metformine sol 1) pour vérifier la résolution de la colonne qui doit être supérieur à 10.

- **Solution 2** STD de la Dicyandiamid X 5 injections pour s'assurer de la répétabilité des résultats donnés par l'équipement.

Séquençage d'injection dans l'HPLC pour contrôle d'un lot de Novoformine 850mg.

La séquence d'analyse c'est une séquence dans laquelle on va programmer l'ordre des injections des échantillons préparés dans le système HPLC avec un volume de 20µl.

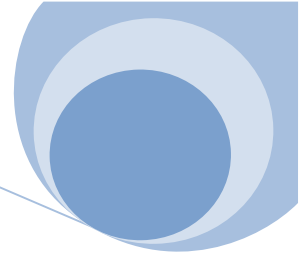
- **Solution 3** (échantillon 3 Novoformine 850mg **diluer**).
- **Solution STD** (Metformine HCl).
- **Solution 1** (échantillon 1 Novoformine 850mg **concentrer**).
- **Eau pour chromatographie.**
- **Eau pour chromatographie**
- **Phase mobile pH=3.**
- **Phase mobile pH=3.**
- **Solution 2** (Solution STD Dicyandiamid).
- **Solution 3** (échantillon 3 Novoformine 850mg).
- **Phase mobile pH=3.**
- **Phase mobile pH=3.**

III.2.2.4 Test de pureté microbienne

Le contrôle microbiologique des substances testées est effectué selon les méthodes mentionnées dans la Pharmacopée Européenne. Ces méthodes consistent à la détermination des germes aérobies totaux (bactéries, moisissures et levures), et la recherche d'Escherichia coli. Le contrôle microbiologique du produit fini nécessite le matériel et les milieux suivants :

Matériel et milieux de culture

- Pipettes graduées 20 ml et 1 ml stérilisés au préalable.
- Boîtes de pétri 90 mm de diamètre.
- Eau péptonnée tamponnée au NaCl pH = 7.
- Milieu gélosé TSA, milieu gélosé SABOURAUD.
- Etuve réglée à 30-35°C et une autre à 20-25°C. 42 à 44°C
- Bain marie réglée à 95°C.



Températures des milieux :

- **TSA et TSB** à 30-35°C.
- **SAB** à 20-25°C.

Le contrôle microbiologique nécessite également la préparation des échantillons suivants :

- **Solution échantillon :**

Peser 10 g ± 0.5 de la Novoformine, dans 190ml de solution d'eau péptonnée tamponnée au chlorure de sodium dont le pH= 7.0, stérile contenant 4% du tween 80. Homogénéiser pour obtenir une bonne homogénéisation.

- **Solution témoin négatif :**

Pour la solution témoins mélangé de l'eau pitonnée tamponnée avec du chlorure de sodium et 4% de tween 80.

- **Mode opératoire :**

Le test de pureté microbienne de la Novoformine (produit fini) est réalisé selon la Pharmacopée Européenne.

Critère d'acceptation

- **Dénombrement de Germes Aérobie Totaux (DGAT) :** $\leq 10^3$ UFC/g (nombre maximal acceptable = 2000).
- **Dénombrement de Levure de Moisissures Totales (DLMT) :** $\leq 10^2$ UFC/g (nombre maximal acceptable 200).
- **Escherichia coli :** Absence dans 1g.

La loi qui permet de calculer le nombre de colonies par gramme :

$$nbre^{ufc}/g = \frac{nbre\ ufc\ de\ la\ boite\ 1 + nbre\ ufc\ de\ la\ boite\ 2}{dilution}$$

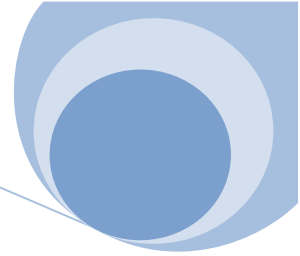
- **Type de germes**

Germe Aérobie Totaux

Ensemencer 1ml de l'échantillon dans 02 boites de pétri, 1 ml dans une autre boites qui servira de témoin négatif.

Ensemencement en profondeur ; 1ml de la solution puis en rajoutant au milieu de gélose.

Incuber a 30-35°C pendant 5j.



Levure et Moisissures Totales :

Ce test est réalisé comme le précédent.

Recherche de micro-organismes spécifiés :

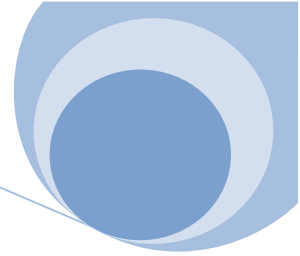
Escherichia coli :

A partir de l'homogénéisât, prélever deux volumes de 20 ml. Le premier sera ensemencé dans 100 ml de TSB, et un autre dans 100 ml d'une solution témoin négatifs. Les deux milieux seront incubés à 30-35 °c pendant 18 à 24 h.

Par la suite, les récipients sont agités a partir desquels on prélève 1 ml de chaque solution, lesquelles sont ensemencées, séparément, dans 100 ml du milieu bouillon mac conckey et incubé à 43 °C pendant 24 à 48 h.

Enfin, sur surface de la gélose mac cockney, on ensemence 0.1 ml du bouillon précédent.

Le tout est incubé à 30 35°C pendant 3 jours.



IV Résultats et discussions

IV.1 Le contrôle des matières premières

IV.1.1 Granulat Metformine HCl

Aspect :

Nous avons observé une poudre de couleur blanchâtre, avec absence de flocons durs. Indiquant sa conformité avec les exigences requises.

Perte à la dessiccation

Nous avons obtenu les résultats suivants :

PEI= 2.00g

PEF= 1.984g

$$\text{La perte à la dessiccation (\%)} = \frac{2.00 - 1.984}{1.984} = 0.70\%$$

Ce résultat indique que le taux d'humidité du granulat metformine est de 0.7% qui est largement en dessous du seuil toléré, dont la valeur est de 2%. Par conséquent le produit est conforme.

Identification par spectroscopie Raman

Après le bon fonctionnement de l'équipement, y compris l'accessoire, nous avons procédé à l'analyse de notre échantillon.

Après avoir effectué le scan, l'appareil affiche sur l'écran un message « PASS » avec une valeur de $P = 0.5976$ (voir annexe III), indiquant que le produit analysé est conforme. Ce résultat a été également observé en superposant le spectre du granulat metformine avec le spectre de référence. En effet, toutes les bandes spectrales observées sont superposables dont les fréquences sont proches.

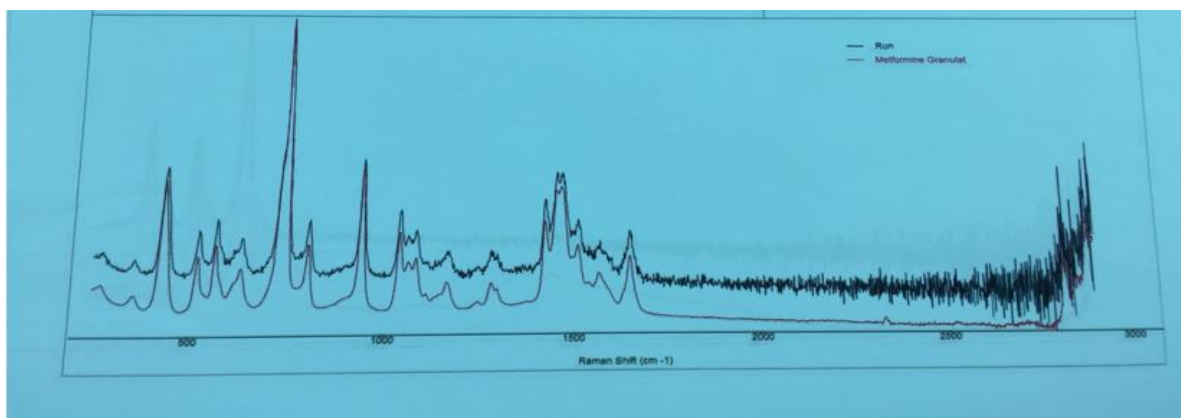
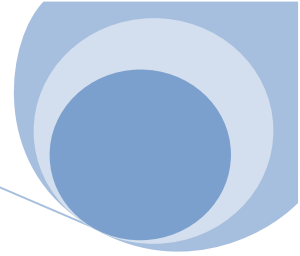


Figure 6: Spectre de Metformine et de sa référence avec spectroscopie Raman.



IV.1.2 Contrôle de l'eau purifiée

Aspect l'eau à analyser doit être liquide, limpide et incolore.

1. Contrôle de conductivité

Tableau IV-1: Conductivité de l'eau dans les unités de prélèvement

solution	Standard (EP)	Ep	ep4	ep5	ep6	ep7
conductivité ms/cm	0.147	2,02	2,45	1,906	1,964	1,967
température (°C)	25,3	21,5	21,6	22,03	21,07	21,05

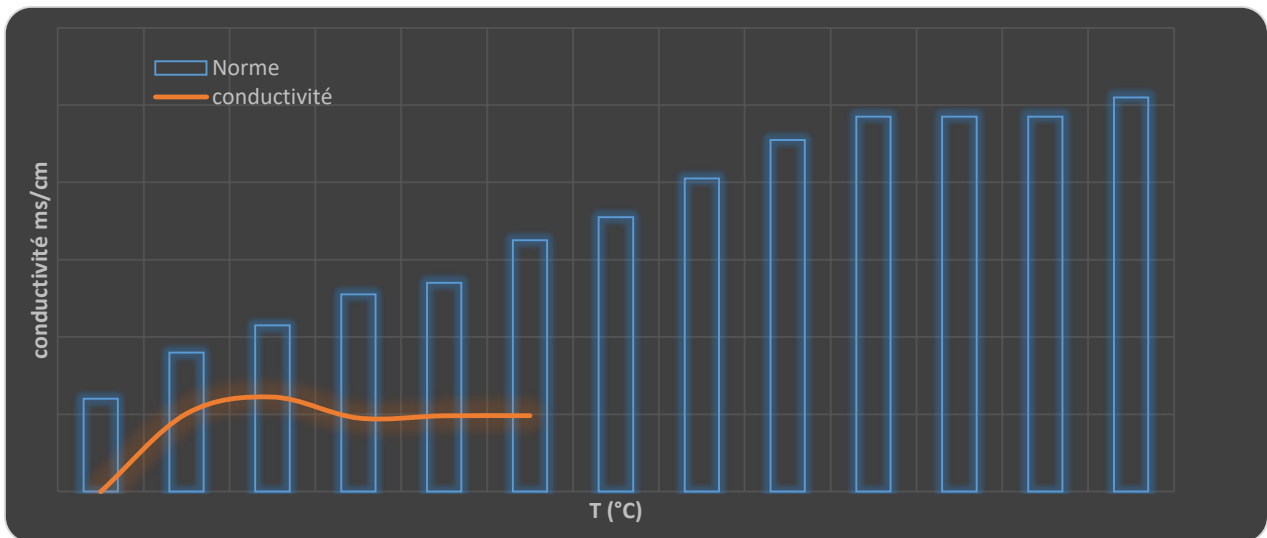
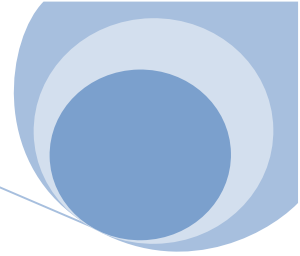


Figure 7: Graphe de la conductivité en fonction de la température.

D'après la figure 7, et tableau IV-1, nous constatons que les valeurs de la conductivité électrique de tous nos échantillons d'eau sont comprises entre 2.02 ms/cm et 1.967 ms/cm. elles sont donc inférieures à la valeur maximale recommandée.

Ce qui indique une faible quantité des ions inorganiques présents dans ces eaux indiquant que les eaux prélevées ont des propriétés électriques qui sont conformes aux normes, en effet, une faible quantité des ions inorganiques présents dans ces eaux.



Substances oxydables

La couleur rose légère observable dans la figure 8 suivante, signifie que le test des substances oxydables est conforme selon la Pharmacopée Européenne. La couleur est obtenue pendant toute la période des prélèvements, cela signifie le bon travail de la station de purification qui assure l'absence quasi-totale des substances oxydables. En principe, le MnO_4^- , oxyde les substances oxydables et donne le Mn^{2+} incolore à la fin de la réaction, mais la présence de la couleur rose explique la non transformation de MnO_4^- en Mn^{2+} , par conséquent, l'absence des substances oxydables.

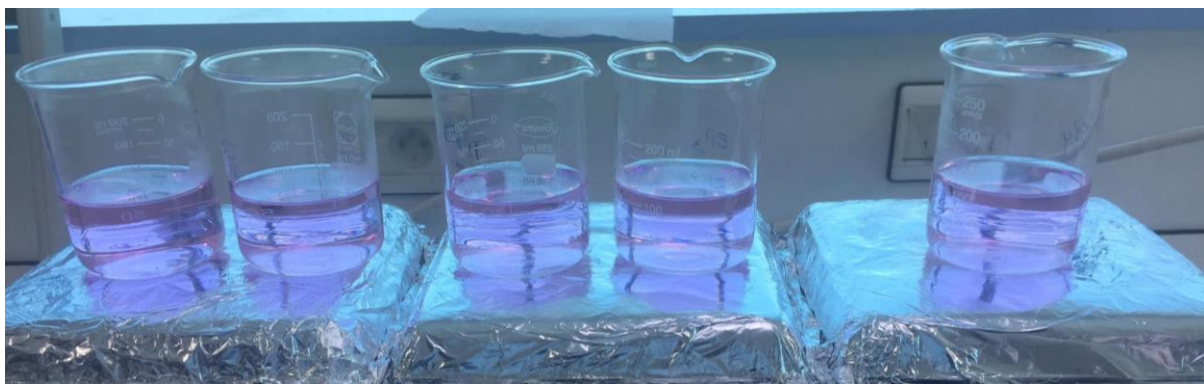


Figure 8: Couleur des eaux après le chauffage.

IV.1.3 Contrôles de l'Opadry white

Aspect

L'étude du caractère basée sur l'observation à l'œil nu montre que l'opadry présente une poudre homogène blanche, donc le lot est conforme.

Aspect de la solution et formation du film

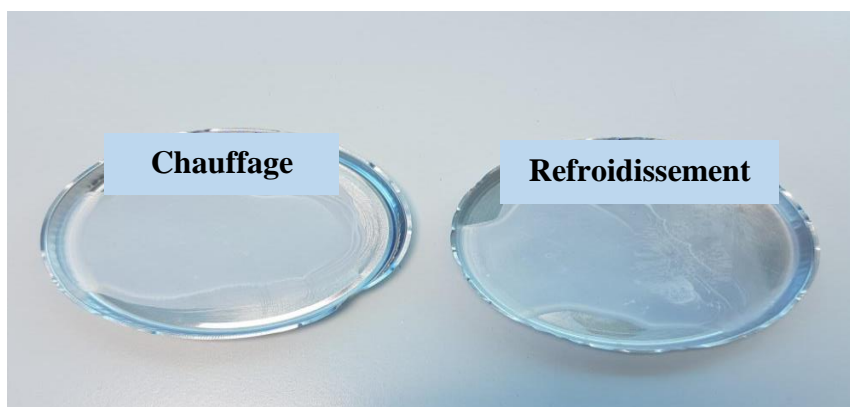


Figure 9: Aspect de la suspension de l'Opadry white.

On observe une solution blanche et homogène.

Lors du chauffage, nous observons un précipité blanc qui se forme et se dissout après agitation et refroidissement, donc le lot est considéré conforme.

Identification par spectroscopie Raman

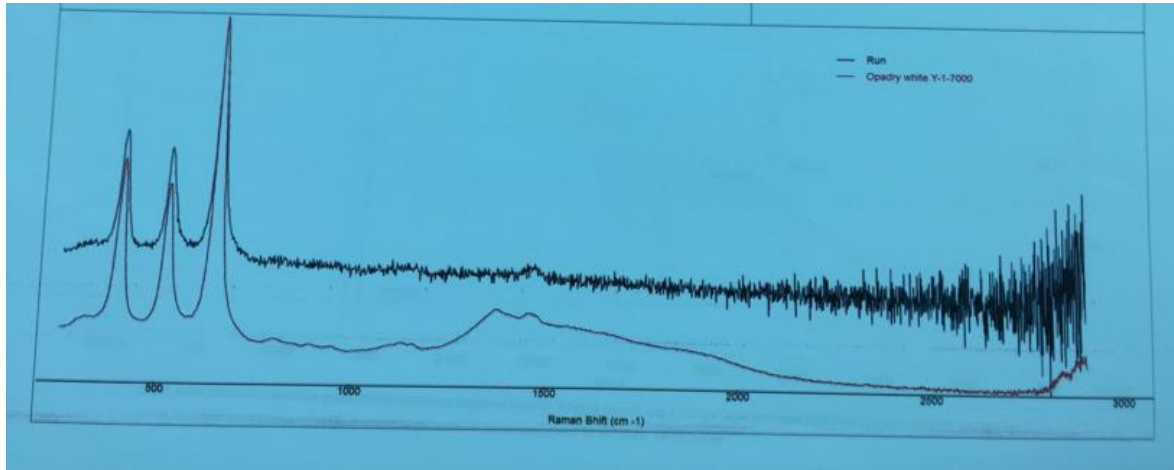
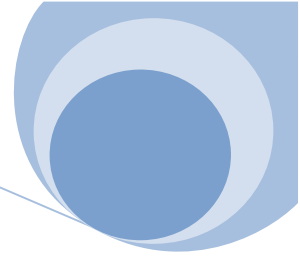


Figure 10: Spectre d'échantillon d'Opadry et de sa référence avec spectroscopie Raman

Le résultat du scan affiche un « Pass » sur l'écran de l'équipement et une valeur de $P = 0.5583$ (voir l'annexe III). Le spectre est donné par la suite par le logiciel.

La valeur de P est inférieure à celle de la norme. Le résultat du scan doit être Pass ($p\text{-value} \geq 0.05$). Le spectre obtenu dans la figure 10 présente une adéquation du profil de l'échantillon Opadry à celui de référence. Les résultats obtenus confirment la conformité du l'excipient testé.



IV.1.4 Contrôle de la paraffine Spéciale

Aspect

La poudre est de couleur blanchâtre, correspond aux normes.

Identification par spectrophotométrie Infrarouge

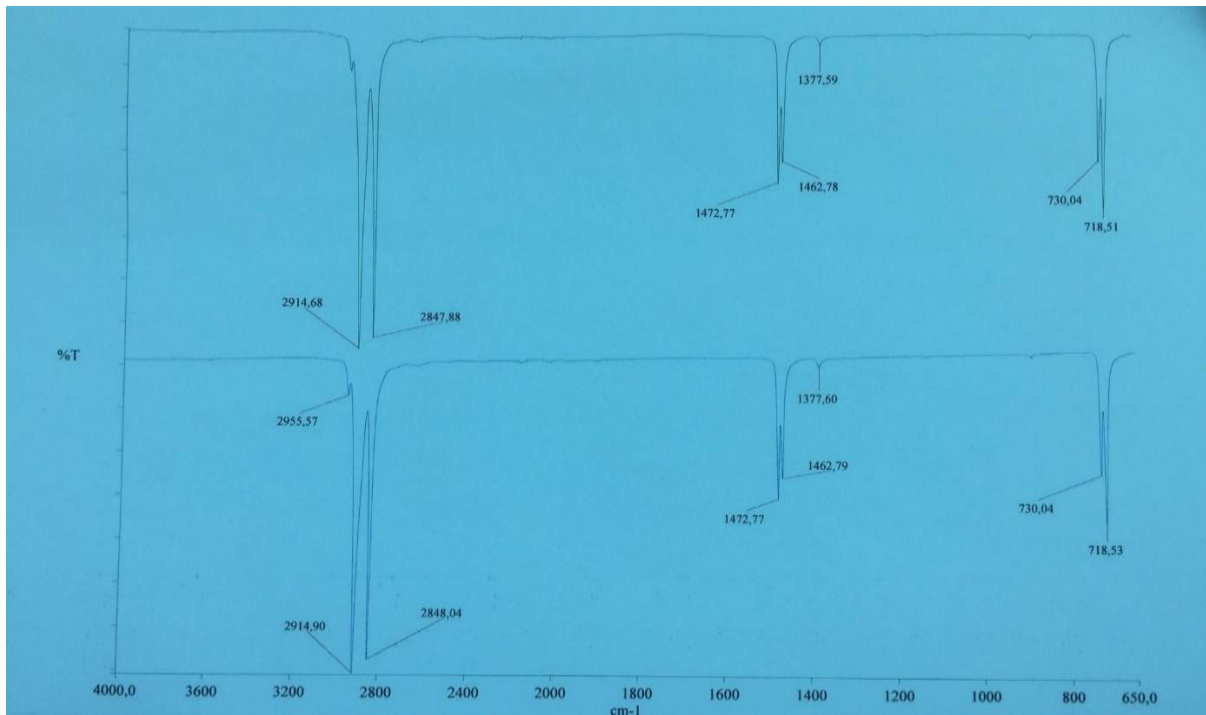


Figure 11: Spectre d'échantillon de la paraffine et de sa référence. Avec spectroscopie IR.

Les spectres de la paraffine identifiés par infrarouge pour les différents lots (de chaque fut) (figure 11) ont été comparés avec le spectre du Standard de Contrôle et de Référence SCR.

Les résultats obtenus montrent que le spectre de l'échantillon de la paraffine est superposable au spectre du standard et les bandes d'absorptions pratiquement proches donc, c'est les mêmes molécules qui se manifestent. Cela prouve que la paraffine est pure et conforme aux normes.

IV.2 Contrôle qualité du produit fini

IV.2.1 Contrôle physique

Aspect et Dureté

Les résultats de la dureté et du diamètre obtenus par un duromètre pour les 10 comprimés utilisés sont récoltés dans les tableaux IV-3 et IV-4.

Tableau IV-2: formule de calcul de l'écart type et l'écart type relative.

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

S : écart type de l'échantillon	RSD : écart type relative.
$s = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$	$RSD = \frac{s}{\bar{x}}$

Tableau IV-3: dureté des 10 comprimés ainsi leur diamètre.

comprimé	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Dureté	182	29	227	200	209	214	215	183	195	205
Diamètre	13.11	13.16	13.15	13.14	13.12	13.15	13.14	13.13	13.11	13.15

Tableau IV-4: Résultats de calcul de la moyenne et de STD.

Les 10 cps	Min	Max	Max-Min	Moyenne	Std déviation
Dureté (N)	182	229	47	205.9	16.3
Diamètre (mm)	13.11	13.16	0.05	13.14	0.018

D'après les résultats obtenus dans le tableau IV-3 e IV-4, nous constatons que le comprimé de Novoformine® 850mg est conforme à la norme de la monographie de la Ph, EUR.

Uniformité de masse :

La masse de 20 comprimés pesés séparément est présentée dans le tableau (IV-5)

Tableau IV-5: La masse des 20 comprimés pesés.

Cps	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Masse cps (mg)	933.86	936.91	931.08	948.53	928.14	938.42	939.14	942.00	939.01	939.73
Cps	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Masse (mg)	939.36	940.74	931.96	937.53	933.44	933.40	925.50	942.73	930.92	941.03

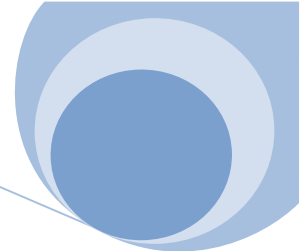


Tableau IV-6: Poids moyen des 20 comprimés pesés.

Poids moyen (mg)	936.667
Poids moyen \pm 5 %	[889.834-983.500]
Poids moyen \pm 10 %	[843.00-1020.334]

Les comprimés de Novoformine 850mg ont presque une même masse donc les résultats sont dans les normes. En effet, aucun comprimé ayant un poids qui s'écarte de 5% ni de 10%, donc le comprimé est conforme.

Perte a la dessiccation

Après avoir déterminé la différence de poids avant chauffage et après chauffage, le calcul du pourcentage de matière minérale incluse dans l'échantillon a été calculé selon la formule précédemment décrite dans le chapitre « matériel et méthodes »:

$$PEI = 2g$$

$$PEF = 1.98g$$

$$\text{Perte a la dessiccation} = (2-1.98)/2 \times 100 = 1\%$$

Selon les spécifications décrites dans la Pharmacopée Européenne, le résultat obtenu pour Novoformine® 850mg le produit est conforme.

IV.2.2 Contrôles chimiques

IV.2.2.1 Dosage de la Metformine HCl par spectrophotométrie UV

Dans ce tableau IV-7, les masses et absorbances des deux solutions, standard et échantillon.

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau IV-7: La masse et l'absorbance des solutions standards et des échantillons.

Solution	Masse (mg)	Absorbance
L'eau purifiée	/	/
Standard	100.63	0.809
Standard	100.63	0.809
Standard	100.63	0.809
Echantillon 1	110.11	0.806
Echantillon2	110.74	0.804
Standard	100.63	0.809
Standard	100.63	0.809

Tableau IV-8: les données brutes de la spectrophotométrie.

Teneur STD	Poids moyen (mg)	Facteur de dilution	Abs moyen	Ecart type	RSD %
99.8%	936.667	1%	0.809	0.000	0.06

La loi qui permet de calculer la teneur des cps :

$$T_{\frac{mg}{cp}} = \frac{A_{\text{échant}} \times W_{\text{std}} \times p_m \times T}{A_{\text{std}} \times W_{\text{std}} \times 100}$$

$A_{\text{échant}}$: absorbance de la solution échantillon.

A_{std} : absorbance de la solution étalon.

W_{std} : prise d'essai de l'étalon en g

$W_{\text{éch}}$: prise d'essai de l'échantillon en g

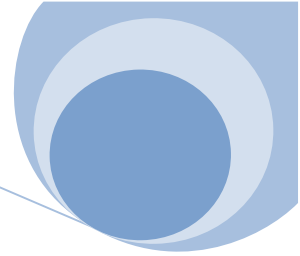
P: poids moyen des cps en mg

T : titre d'étalon.

Tableau IV-9: Teneur en Metformine HCl par comprimé.

T échant 1	T échant 2	T moyenne	Ecart type	RDS
851.14 mg	844.20 mg	847.7 mg	4.909	0.58%

Les résultats obtenus (tableau IV-9 et 10) du test de dosage de la Novoformine ont montré que le principe actif contenu dans le comprimé présente une masse moyenne de 847.7mg. Cette valeur est comprise dans l'intervalle de spécifications.



IV.2.2.2 Essai Dissolution

Les calculs ont été faits en utilisant le fichier Excel.

Dans le tableau ci-dessous, la masse metformine HCl STD et des 6 comprimés.

Tableau IV-10: La masse des 6 comprimés et la masse du standard.

Cps	Standar d	Echant 1	Echant 2	Echant 3	Echant 4	Echant 5	Echant 6
m (mg)	851.0	944.50	936.22	939.88	938.47	933.17	938.74

Après avoir étalonné l'équipement de dissolution selon les conditions opératoires, une valeur automatiquement donnée par le logiciel sotax, nommée **E₁₁**, dont la valeur est comprise entre 28-29. Ceci indique que la calibration a bien été réalisée et cette valeur donne une vue générale sur le bon fonctionnement de l'équipement.

Pendant notre stage, nous avons développé une formule de calcul qui permet de retrouver cette valeur.

Après introduction des paramètres du standard (tableau IV-11), le logiciel affiche automatiquement la valeur du **E₁₁** ce qui nous a permis d'élaborer notre formule.

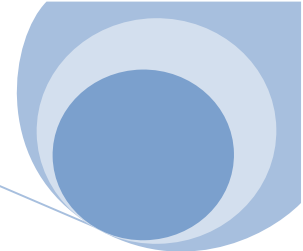
Tableau IV-11: Paramètre du standard.

Paramètre	Concentration du std (mg/l)	Longueur (mm)	Facteur dilution	Pureté	Somme des Abs
Valeur	851.0	10	1	99.8%	2.53453

Détermination de la formule E₁₁

Pour déterminer l'E₁₁, nous avons fait varier les paramètres du standard et les résultats obtenus sont les suivants :

- La moyenne des absorbances (abs) est proportionnelle au **E₁₁**.
- La longueur (l) de la cellule est proportionnelle au **E₁₁**.
- Le facteur de dilution (F) est proportionnel au **E₁₁**
- Concentration (C) est inversement proportionnelle au **E₁₁**
- Pureté (P) est inversement proportionnelle au l'**E₁₁**.



Nous pouvons déduire que la formule du E_{11} s'écrit comme suit:

$$E_{11} = \frac{\text{abs} \times l \times F}{C \times \text{purete}}$$

Valeur moyenne E_{11} : 29.033076.

Les résultats de dissolution

Dans le tableau IV-12 ci-dessous, les résultats de concentrations des 6 cps pendant 35min.

Tableau IV-12: Valeurs des concentrations des 6cps chaque 5min pendant 35min.

Temps	Cp1	Cp2	Cp3	Cp4	Cp5	Cp6	Blanc
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
5	368.04	274.62	280.19	241.380	294.43	277.37	0.00
10	667.15	550..30	540.35	507.49	598.79	557.57	0.00
15	815.48	743.04	715.58	695.54	787.18	744.36	0.00
20	842.39	837.04	814.18	815.51	844.46	833.03	0.00
25	843.73	847.17	842.16	847.11	845.98	842.46	0.00
30	844.18	847.68	843.47	848.20	847.11	846.69	0.00
35	843.20	846.53	840.82	845.32	843.98	843.57	0.00

Nous utilisons la formule de calcul du taux de dissolution. Les résultats de calcule sont données dans le tableau (IV-12) :

$$D_{\%} = \frac{T_{\text{mg de metformine}}}{T_D} \times 100$$

$D_{\%}$: Pourcentage de dissolution a 30minutes.

$T_{\text{mg de metformine}}$: Titre du produit analysé.

T_D : Temps de dissolution a 85%.

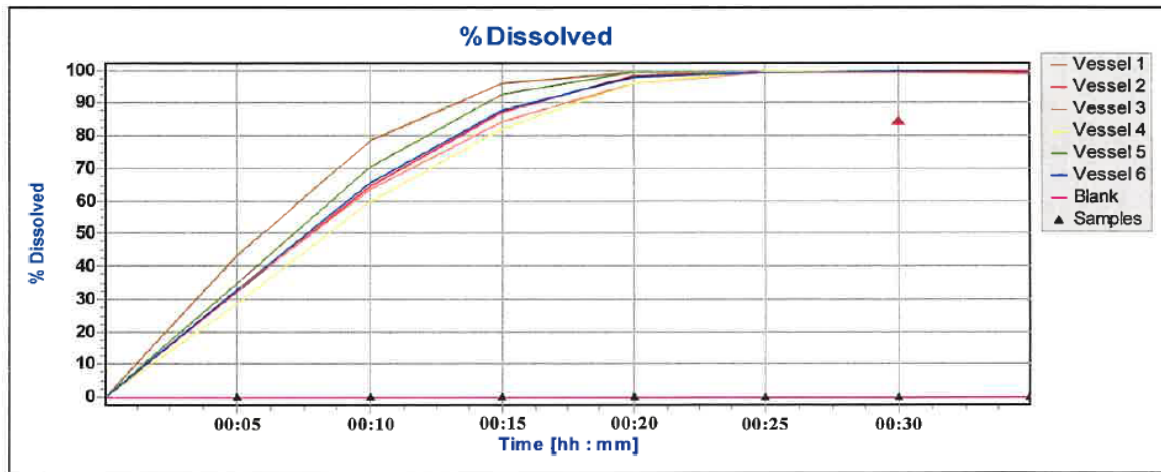


Figure 12: Profil de dissolution des 6cps en fonction du temps.

Nous observons que le taux de dissolution moyen des comprimés est compris entre (95.94 et 81.83 %).

En 15 min, le pourcentage de dissolution est supérieur à 80 %, et au bout de 30 minutes, tous les comprimés ont un pourcentage supérieur à 85%. En se référant au Tableau IV-12, ces comprimés peuvent être classés en produit à dissolution très rapide, ce qui est conforme aux normes en vigueur. En effet, le comprimé se dissout rapidement pour libérer le PA.

IV.2.2.3 Contrôle de la Novoformine 850mg par chromatographie HPLC.

Résultats du système de Suitability

Les chromatogrammes obtenus après système de Suitability (voir l'annexe II).

Interprétation des résultats du system de Suitability.

Les chromatogrammes obtenus montrent l'absence d'interférences dans la solution standard Dicyandiamid, et de la phase mobile.

Le pic de la solution 4 (mélamine+Sol1) vérifie la résolution lors des tests de contrôle et elle est supérieure à 10. La résolution de la colonne est optimale, ce qui nous donnera une durée de vie raisonnable, tout en ayant le temps de rétention le plus court possible. On qualifie que la colonne utilisé à une très bonne performance.

Le standard Dicyandiamid est bien séparé, son temps de rétention apparait à 2.8min.

Le coefficient de variation (RSD) de la répétabilité est inférieur à la valeur limite d'acceptation qui est de 2,0 %, le RSD des 5 injections = 0.6%, les résultats des 5 injections de la solution 2 Dicyandiamid montrent que l'équipement donne toujours des valeurs approchées à la même solution, s'assurer de la répétabilité des résultats donnée par l'équipement.

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats obtenus répondent aux critères d'acceptation et le système est apte à effectuer les analyses. On conclut que la méthode est répétable, les résultats sont conformes, donc le système est apte à faire l'analyse.

Les résultats obtenus répondent aux critères d'acceptation, le système est apte à effectuer les analyses. On conclut que la méthode est répétable, les résultats sont conformes, test accepté.

Identification de la composition de la « Novoformine 850mg ».

- **identification et dosage des impuretés.**

La solution 3 (échantillon Novoformine 850mg) précédemment préparée a été injectée dans l'HPLC et le chromatogramme obtenu est rapporté dans la figure 13 ci-dessous.

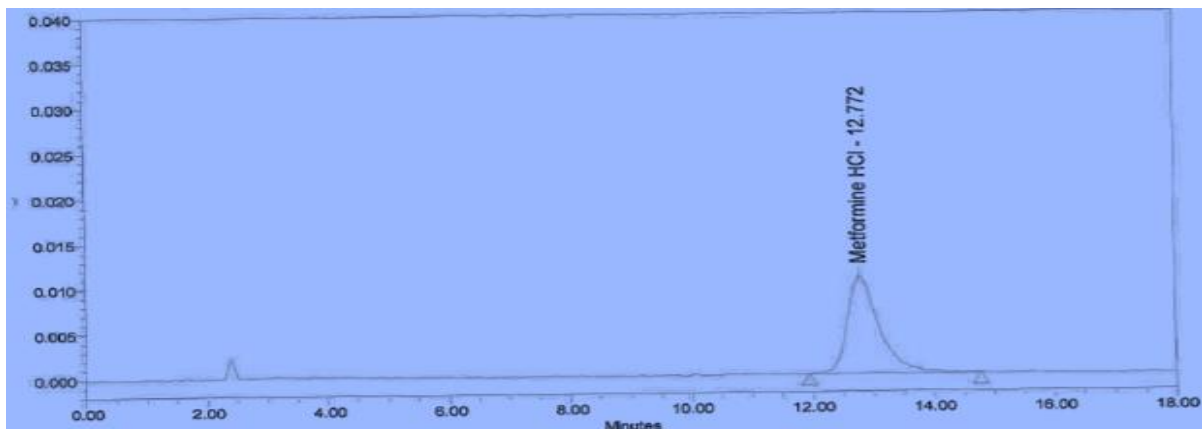
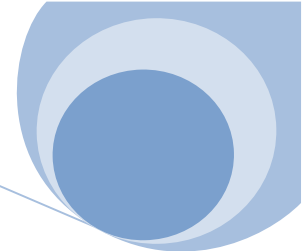


Figure 13: Chromatogramme d'injection de la Metformine HCl.

L'exploitation du chromatogramme nous permet de donner des paramètres qui sont regroupés dans le tableau (IV-13) suivants :

Tableau IV-13: Résultats d'injection de la Metformine HCl.

Nom	Tr (min)	Surface	% Surface	Facteur de symétrie	Plateau théorique
Metformine HCL	12.772	398812	100	1.46	3355.737



Rapport d'injection de la solution 1 (échantillon Novoformine 850 mg) :

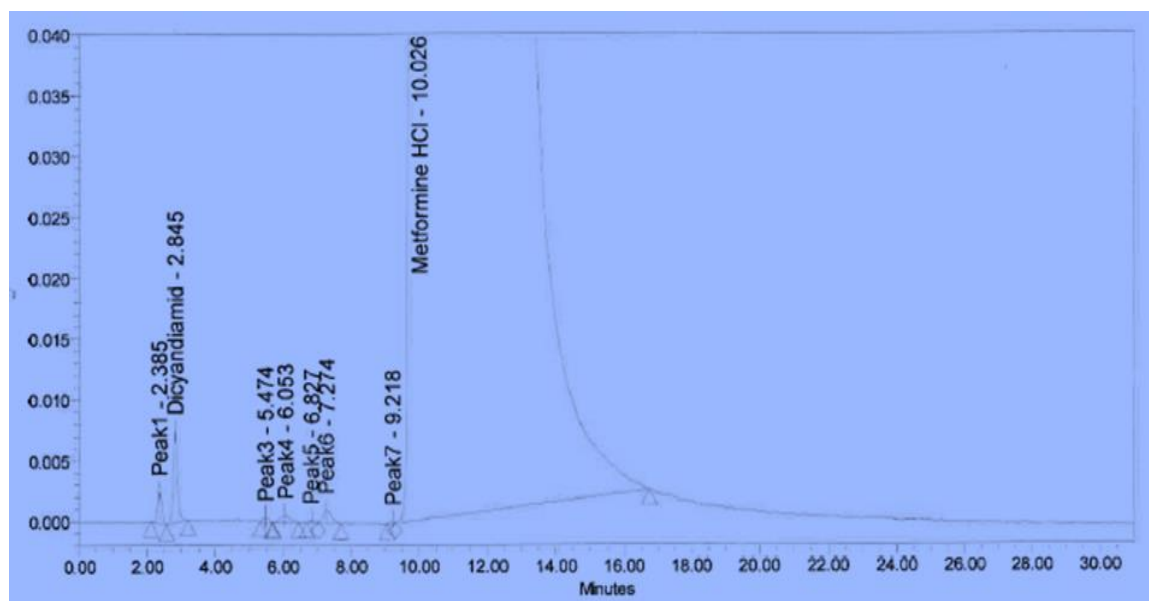
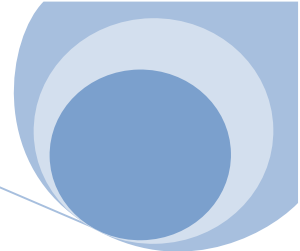


Figure 14: Chromatogramme de la solution 1.

L'exploitation du chromatogramme nous permet de donner des paramètres qui sont regroupés dans le tableau (IV-14) suivants :

Tableau IV-13 : Résultats des pics d'injection de la solution 1.

Name	T _R (min)	Surface	% Surface	Nombre plateaux	Facteur de symétrie
Impuretés 1	2.385	21529	0.01	2055.920	1.178111
Dicyandiamid	2.845	65859	0.02	2744.524	1.007429
Impuretés 3	5.475	3867	0.0	4147.080	1.125521
Impuretés 4	6.053	12019	0.0	1881.351	/
Impuretés 5	6.827	2469	0.0	5602.832	/
Impuretés 6	7.274	19301	0.01	4364.451	/
Impuretés 7	9.218	1696	0.0	/	/
Metformine HCl	10.026	277906829	99.95	1826.266	5.067408



Rapport d'injection de la solution 2 (Solution DCD) :

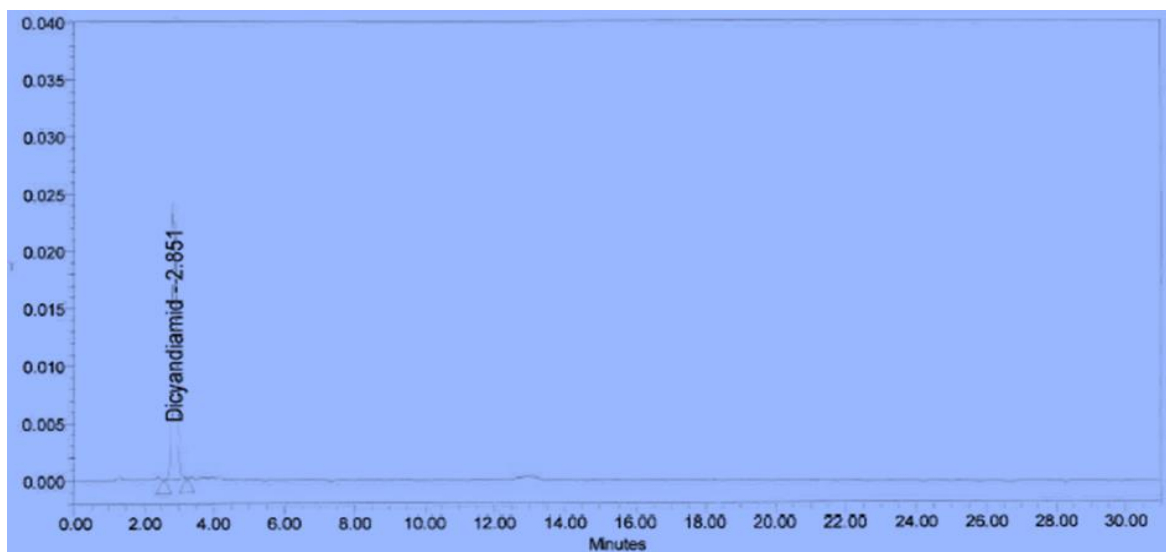


Figure 15: Chromatogramme de la solution 2.

Rapport d'injection de la solution 3 (Echantillon Novoformine 850 mg).

L'exploitation du chromatogramme nous permet de donner des paramètres qui sont regroupés dans le tableau (IV-15) suivants

Tableau IV-14 : Résultats d'injection de la solution 2.

Nom	Temps de rétention	Surface	% surface	Nombre de Plateaux	Facteur de Symétrie
Dicyandiamid	2.851	190499	100	2865.547	1.143764

Tableau IV-15: Résultats des pics d'injection de la solution 3.

Nom	Temps de rétention	Surface	% surface	Nombre de Plateaux	Facteur de Symétrie
Metformine HCl	12.752	393253	100	3355.737	1.450645

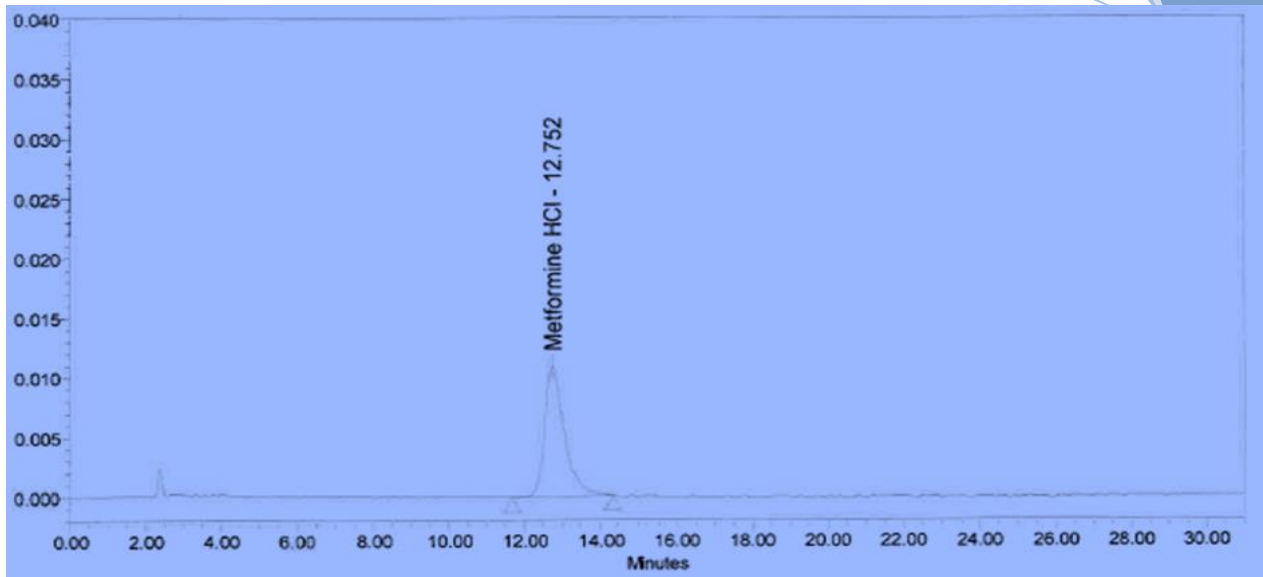


Figure 16: Chromatogramme d'injection de la solution 3.

Interprétation des résultats d'identification et dosage des impuretés :

Calcul de pourcentage d'impureté de Metformine 850 mg : **Formule de calcul de la Dicyandiamid:**

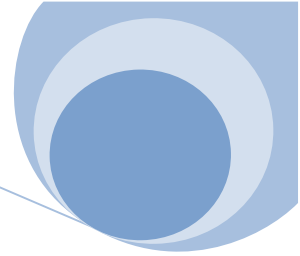
$$\% \text{ Dicyandiamid} = 0.02 \times C_{\text{Echantillon}} \times C_{\text{Standard}}$$

$$C_{\text{Echantillon}} = \frac{\text{Prise d'essai échantillon réelle}}{\text{Prise d'essai échantillon théorique}}$$

$$C_{\text{Echantillon}} = \frac{\text{Prise d'essai échantillon réelle}}{\text{Prise d'essai échantillon théorique}} \times \frac{T_{\text{std}}}{100}$$

Tel que:

- S DCDA: Dicyandiamid.
- S DCDA solution 1 : Surface de la DCDA dans la solution 1.
- S DCDA Solution 2 : Surface de la DCDA dans la solution 2.



- $C_{\text{Echantillon}}$: Correction échantillon.

La prise d'essai échantillon théorique pour la Novoformine 850 mg = 545 mg.

C_{Standard} : Correction Standard.

La prise d'essai standard théorique = 20 mg.

T_{STD} : Titre de standard de la DCDA.

Tableau IV-16: Résultats d'identification et dosage des impuretés de la NOVOFORMINE 850mg.

Paramètres	Critères d'acceptations	Résultats
Dicyandiamid	$\leq 0.02\%$	0.007% Résultat = 0.01 %
Autres impuretés	$\leq 0.1\%$	Impureté 1=0.005% Impureté 2=0.001% Impureté 3= 0.003% Impureté 4=0.001% Impureté 5=0.005%
Impuretés totales Ne pas tenir comptes des impuretés dont le % de surface est inférieur à 0.05%	$\leq 0.6\%$	0.0 %

Identification de la Metformine HCl par rapport à la substance de référence.

Le test est positif et le temps de rétention de la Metformine HCl $t_{\text{échantillon}} = 12.772$ est comparable au temps de rétention de Metformine HCl $t_{\text{étalon}} = 12.765$.

Les résultats sont conformes, test accepté. **Conforme.**

Le calcul du pourcentage des impuretés de Metformine se fait avec une feuille Excel verrouillée (on ne peut pas changer de paramètre ou modifier un résultat). Selon la formule déjà citée, le taux de Dicyandiamide = **0.007%**, inférieur à **0.02%**.

Résultat conforme, on peut conclure que Le pourcentage d'impuretés est conforme aux exigences des normes

IV.2.3 Test de pureté microbienne :

Après la période d'incubation, la lecture des résultats de dénombrement des germes aérobies viables totaux sont représentées dans les tableaux (IV-18 et 19) ci-dessous :

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau IV-18: Résultats d'enrichissement des bactéries dans leurs milieux.

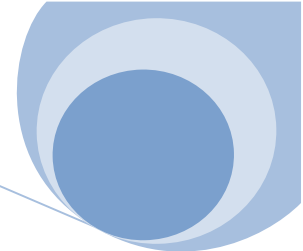
Résultat de l'enrichissement sur TSB	
Solution témoin négatif	Négatif
Echantillon	Trouble
Témoin négatif du bouillon TSB	Négatif
Résultat de la subculture sur bouillon Mac Conckey	
Solution témoin négatif	Négatif
Echantillon	Trouble
Témoin négatif du bouillon Mac Conckey	Négatif
Résultat de la subculture sur la gélose mac Conckey	
Solution témoin négatif	Négatif
Echantillon	Trouble
Témoin négatif sur la gélose mac Conckey	Négatif

Tableau IV-19: Résultats du contrôle microbiologique de la NOVOFORMINE 850 mg.

Paramètre	Norme	Résultats
Germe Aérobie Totaux	Sup 10^3 UFC/g	00
Levure et Moisissures Totales	Sup 10^2 UFC/g	00
Escherichia coli :	Absence dans 1g	Absence

Le tableau IV-18, nous renseigne sur les résultats d'enrichissement des bactéries dans leurs milieux. On observe que pour les solutions témoins, les résultats sont négatifs, donc absence de bactéries dans ces milieux. Pour l'échantillon, on observe un résultat trouble pour le produit fini qui ne veut pas dire qu'il y a une contamination. Le trouble est généré par la poudre du produit fini dans la suspension. Nous complétons notre résultat par le tableau IV-19, en calculant le nombre de bactéries par la loi citée précédemment dans le chapitre 3. Les résultats démontrent l'absence totale de germes aérobies totaux des levures et moisissures, ainsi pour les germes spécifiques d'Escherichia. Coli. Selon la Pharmacopée Européenne, le produit fini (Novoformine 850mg) satisfait à l'essai.

CONCLUSION

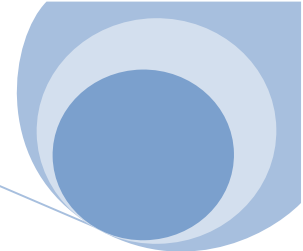


Dans cette étude, un contrôle physico-chimique et microbiologique d'un médicament générique qui est la Novoformine 850 mg partant de sa matière première et ses excipients et allant jusqu'au produit fini a été effectué dont le but d'établir la conformité de toutes ces matières avec les normes de la Pharmacopée Européenne.

L'analyse de ce médicament se décompose en une succession d'étapes que l'on doit parfaitement maîtriser pour assurer la qualité du résultat final. Cette maîtrise passe par une vigilance permanente et la mise en place de points de contrôle pertinents notamment en matière de métrologie.

Afin de pouvoir commercialiser le médicament, ce dernier doit répondre à des normes bien précises, donc différentes analyses de contrôle physico-chimiques et microbiologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de contrôle et au niveau de la production (In process) de l'unité LMTO. Les résultats obtenus, à partir des différentes analyses de plusieurs paramètres physico-chimiques et microbiologiques, effectuées sur le médicament, permettant de conclure que toutes les substances testées sont conformes par rapport aux normes exigées par la Pharmacopée Européenne dixième édition.

Toutefois, nous n'avons nullement l'intention de prétendre que les études effectuées lors de ce travail sont complètes par rapport aux différents contrôles effectués. Néanmoins, nous affirmons que ce travail nous a permis d'acquérir une expérience et de consolider nos connaissances dans le domaine pharmaceutique.



Résumé

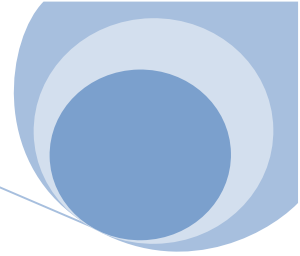
L'objectif de ce travail est l'étude du contrôle physico-chimique et microbiologique de la NOVOFORMINE 850 mg produite par l'unité de production ALDPH LMTO, et ce dans le but d'établir la conformité de toutes les substances testées (matière première, excipients et produit fini) avec la norme Pharmacopée Européenne 10^{ème} édition. Différentes analyses de contrôle physico-chimiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de contrôle et au niveau de la production (In process) de l'unité LCQ à savoir : HPLC, IR conductivité et spectroscopie Raman ...etc. Les résultats obtenus, permettant de conclure que toutes les substances testées sont conformes. Par ailleurs, l'analyse microbiologique a été utilisée sur le principe actif, le produit fini, l'eau purifiée et les deux excipients (Oppadry white, Paraffine spéciale). Les résultats obtenus montrent que le nombre de bactéries viables totales, levures et moisissures sont inférieurs aux normes prescrites par la Pharmacopée Européenne 10^{ème} édition. Le médicament générique NOVOFORMINE 850mg est considéré de bonne qualité pharmaceutique.

Mots clés : Novoformine 850 mg, contrôle microbiologique. HPLC, IR, conductivité, spectroscopie Raman.

Abstract

The objective of this work is the study of physico-chemical and microbiological control of NOVOFORMINE 850mg produced by ALDPH LMTO production unit in the case of establishing the conformity of all tested substances (raw material, excipients and finished product) with the European Pharmacopoeia standard 10th edition. Various physico-chemical control analyses are carried out in the control laboratory and at the production level (in process) of the LCQ unit Viz. HPLC, IR conductivity, etc. The results obtained conclude that all tested substances are compliant. In addition, the results showed also that the number of total viable bacteria, yeasts and moulds are below the standards prescribed by European Pharmacopoeia 10th edition. The generic drug NOVOFORMINE 850mg is considered as good pharmaceutical quality.

Keywords: NOVOFORMIN 850 mg, microbiological control, HPLC, IR, conductivity, spectroscopy Raman.



I Annexe

Autorisation de mise sur le marché (AMM)

Document officiel émis par l'autorité compétente de réglementation pharmaceutique, destiné à autoriser la commercialisation ou la distribution gratuite d'un produit après évaluation de son innocuité, de son efficacité et de sa qualité. Sur ce document doivent figurer entre autres : le nom du produit, la forme galénique, la formule (avec les excipients) donnant les quantités par dose unitaire (en se servant des dénominations communes internationales ou des noms génériques dans le pays lorsqu'ils existent), la durée de vie, les conditions de stockage et les caractéristiques du conditionnement. Cette autorisation comporte également des informations agréées destinées aux professionnels de la santé et au public, la catégorie de vente, le nom et l'adresse du détenteur de l'autorisation et la durée de validité de celle-ci.

Les Bonnes Pratiques de Fabrication des médicaments

Les bonnes pratiques de fabrication des médicaments constituent un des éléments de la gestion de la qualité qui garantit que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon cohérente, selon les normes de qualité adaptées à leur usage et requises par l'autorisation de mise sur le marché, l'autorisation d'essai clinique ou les spécifications du produit. Les bonnes pratiques de fabrication s'appliquent à la fois à la production et au contrôle de la qualité.

International Conference of Harmonization (ICH)

L'ICH est un comité créé à l'initiative de la communauté économique européenne et fonctionnant sous forme de conférences en vue d'harmoniser les exigences en matière d'AMM entre les Etats-Unis, le Japon et l'Union Européenne. Le rôle de l'ICH est de travailler à l'harmonisation des principes de qualité, sécurité et efficacité des médicaments.

La Pharmacopée européenne (Ph. EUR.)

C'est un recueil de normes communes, à l'échelle européenne, destinées au contrôle de la qualité des médicaments à usage humain ou vétérinaire et des substances qui entrent dans leur composition. Son objectif est d'assurer à tous les patients, sur l'ensemble du continent européen, l'accès à des médicaments de même niveau de qualité. Les textes de la Pharmacopée Européenne (les « monographies ») définissent des exigences de qualité, générales ou spécifiques, auxquelles doivent satisfaire les substances pharmaceutiques qui composent les médicaments, ainsi que les formes pharmaceutiques finales. La Pharmacopée Européenne décrit également des méthodes d'analyse de référence. Elle est élaborée conjointement par les

ANNEXE

pays signataires de la convention relative à l'élaboration d'une Pharmacopée Européenne, dans lesquels elle est d'application obligatoire. Par extension, on Revue bibliographique 5, appelle également Pharmacopée Européenne l'institution qui, dans le cadre de la Direction européenne de la qualité du médicament et soins de santé du Conseil de l'Europe, assure l'élaboration et la publication des normes de la pharmacopée européenne. Cette institution a pour objectif et mission la protection de la santé publique. Il est important de noter que le référentiel du contrôle de la qualité des médicaments du laboratoire LDM est la pharmacopée européenne 10^{ème} édition.

II Annexe

Résultats du système de suitability

Rapport d'injection de la solution blanc : Le chromatogramme de l'injection du blanc

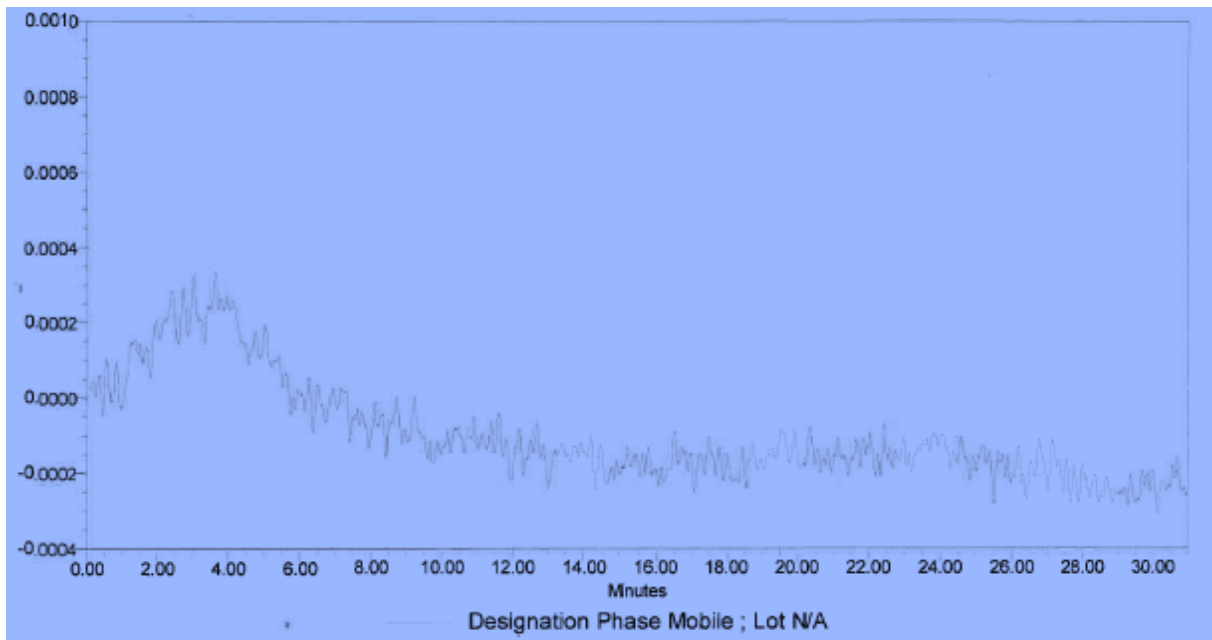


Figure 1: chromatogramme d'injection du blanc

Rapport d'injection de la solution 2 : Chromatogramme d'injection de la solution 2 donne une valeur du $T_R = 2.84$.

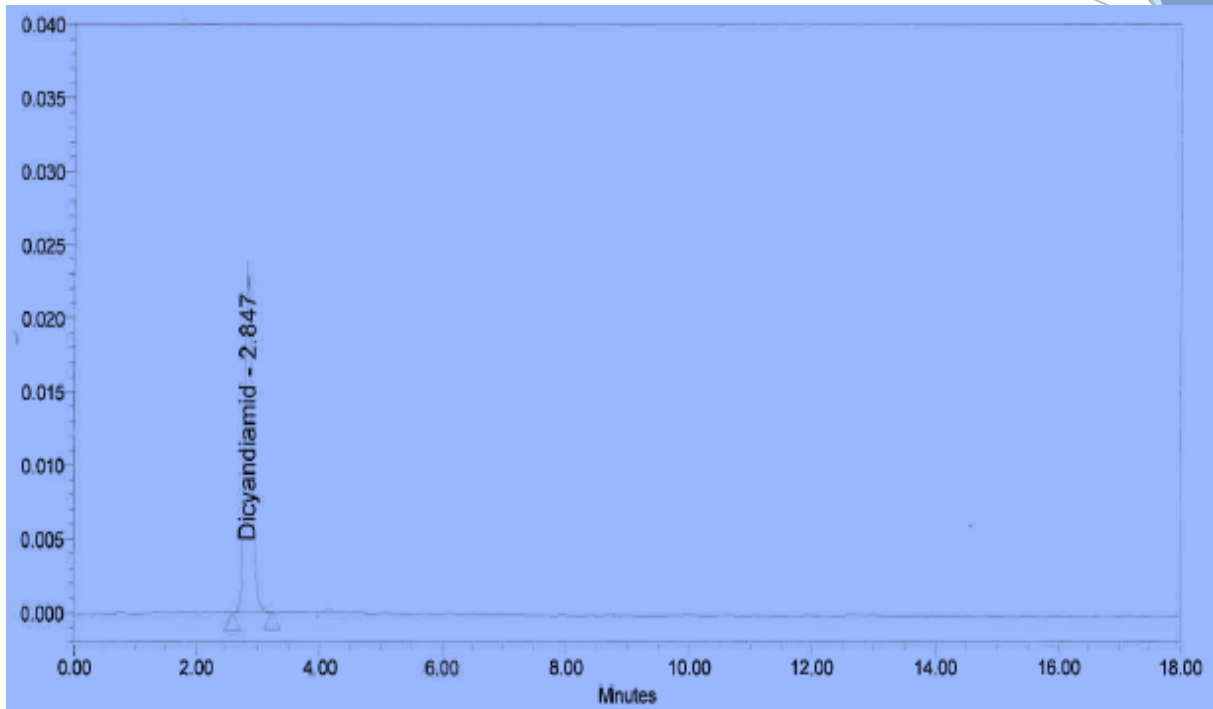


Figure 2: chromatogramme du standard Dicyandiamid

Rapport d'injection de la solution 4 : Chromatogramme d'injection de la solution 4 donne une valeur du T_R de la mélanine= 5.15 et un T_R de metformine de 12.770.

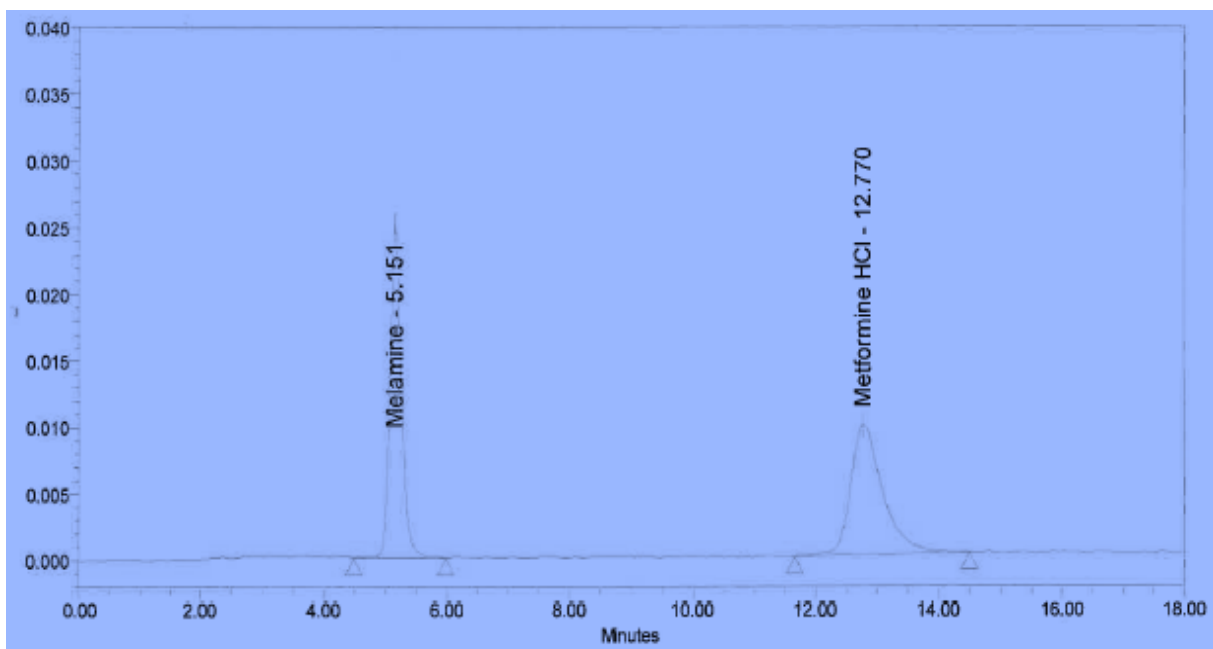


Figure 3:chromatogramme solution 4

Rapport d'injection de la solution 2 *5 : Chromatogramme d'injection de la solution 2 donne une valeur du $T_R = 2.845$ (pour les 5 injections).

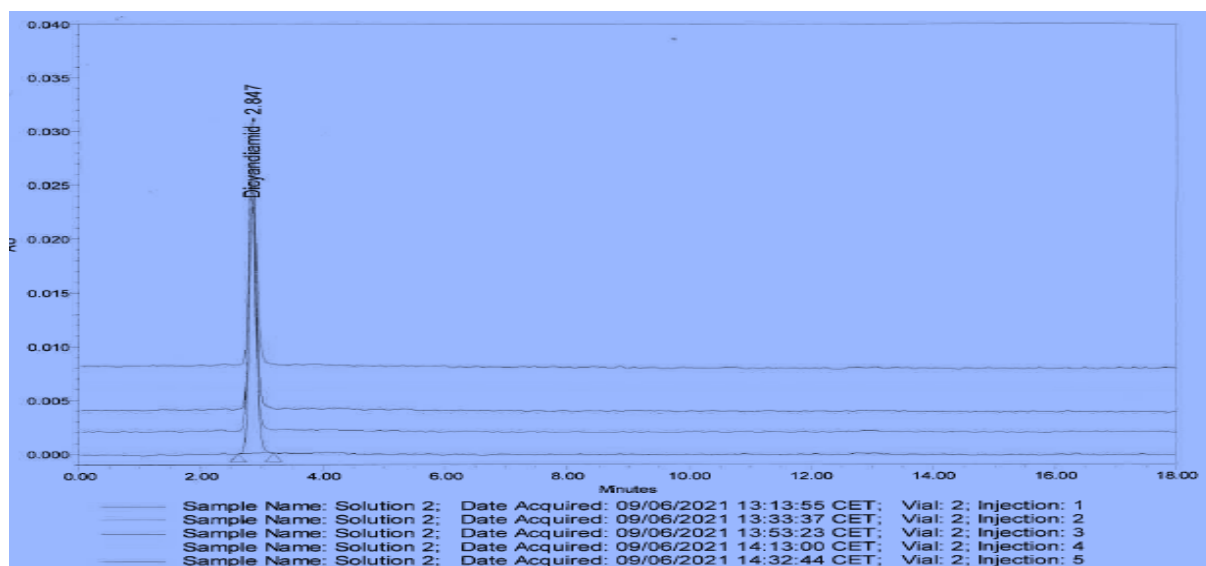


Figure 4 : chromatogramme de la solution 2 (5inj).

Tableau 1: résultats du system Suitability

Paramètres	Critères d'acceptation	Résultats
RS Mélamine et Metformine HCl	$RS \geq 10$	RS= 13
RSD 5 injections solution 2	$RSD \leq 2.0\%$	RSD=0.6%
Temps d'acquisition	2 x le Tr metformine HCl	Conforme

III Annexe

Valeur de P

Elle est souvent utilisée dans les tests d'hypothèses, tests qui vous permettent de rejeter, ou non. Une hypothèse nulle, elle représente la probabilité de faire une erreur de type **1**, ou de rejeter l'hypothèse nulle si elle est vraie.

Plus la valeur de **P** est petite, plus la probabilité de faire une erreur en rejetant l'hypothèse nulle est faible. Une valeur limite de 0.05 est souvent utilisée. Autrement dit, vous pouvez rejeter l'hypothèse nulle si la valeur de p est inférieure a 0.05.

$P \geq 0.05$ est la probabilité que l'hypothèse nulle soit vraie. Un résultat de test statistiquement significatif $P \leq 0.05$ signifie que l'hypothèse de test est fausse ou doit être rejetée. Une valeur de p supérieure à 0.05 signifie qu'aucun effet n'a été observé.

