République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministre de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

---

Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

MEMOIRE
Présenté pour l'obtention du diplôme de :

MASTER

Spécialité : Chimie
Option : Chimie Pharmaceutique

Présenté par

M^{elle} BOUDJEMAI Sabrina

ETUDE DE L'EFFET DE L'ACIDE SORBIQUE SUR LES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUE DU SIROP A BASE DE CYPROHEPTADINE 0,04%

Soutenu publiquement le 02 / 10 / 2016 devant le jury composé de :

M^{me} KICHOU	Nora	M.C.B à l'UMMTO	présidente
M^{r} BENCHOULAK	Monir	M.A.A à l'UMMTO	Examinateur
M^{me} ABERBACHE	Nafissa	Pharmacienne galéniste	Promotrice
M^{me} IGUEBLALENE	Sarah	Pharmacienne galéniste	Co-promotrice

Promotion 2015/2016

REMERCIEMENTS

***J**e remercie **Le Grand Dieu** pour son aide.*

***J**e remercie Madame ABERBACHE Nafissa pour tous ces conseils, sa gentillesse, sa disponibilité, et surtout son aide précieuse.*

Je tiens à remercier Monsieur BOUDA, Directeur du Centre de Recherche et de Développement (CRD) du groupe pharmaceutique SAIDAL, de m'avoir accueilli pour la réalisation de ce travail

***J**e remercie Madame IGUEBLALENE Sarah, pour sa disponibilité et pour son aide.*

Je tiens aussi à remercier…

…Madame MEKAOUI Nassima, directrice du laboratoire chimie analytique, pour m'avoir permis de travailler sur leurs matériels

…l'ensemble du personnel du CRD

…le professeur AHMED ZAID de l'institut National Polytechnique Alger, pour m'avoir permis de travailler sur leurs matériels et de m'accueillir dans son laboratoire

***J**e tiens également à remercier les membres de jury qui ont accepté de juger mon travail.*

***E**nfin, je tiens à remercier mes parents, mes frères et toute ma famille ainsi que mes amis(es) les plus chères de m'avoir soutenu durant toutes ces années.*

DEDICACES

A la mémoire de mes grands parents.

A ma famille.

A mes amis.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

GLOSSAIRE

INTRODUCTION GENERALE 1

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES SIROPS

I.1. LA FORME SIROP 3

I.2. AVANTAGES ET INCONVENIENTS DES SIROPS 3

I.3. FORMULATION DES SIROPS 5

I.3.1. Préparation 6

I.4. STABILITE ET L'INSTABILITE DES MEDICAMENTS 7

I.4.1. DEFINITION 7

I.4.2. OBJECTIFS DES ETUDES DE STABILITE 8

I.4.3. INSTABILITE 8

I.5. CONTROLE QUALITE ET DOSAGE PAR HPLC 9

I.5.1. CONTROLE QUALITE 9

I.5.2. DOSAGE PAR HPLC 9

I.6. FORMULE QUALITATIVE 11

I.6.1. PRINCIPE ACTIF 11

I.6.2. EXCIPIENT 12

CHAPITRE II : ACIDE SORBIQUE DANS LES FORMULATIONS LIQUIDES

II.1. ACIDE SORBIQUE 15

II.2. APPLICATION DANS LA FORMULATION PHARMACEUTIQUE..... 15
II.3. PROPERIETES TYPIQUES 16
II.4. STABILITE ET CONDITIONS DE STOCKAGE 18
II.5. INCOMPATIBILITES 18
II.6. PROCEDES DE FABRICATION..... 19
II.7. PRECAUTIONS DE MANIPULATION 19

CHAPITRE III : PLAN D'EXPERIENCE

III.1. INTRODUCTION..... 20
III.2.: DEFINITION 20
III.3. METODOLOGIE DES PLANS D'EXPERIENCES..... 20
III .3.1. LA RECHERCHE DES FACTEURS INFLUENCENTS 20
III .3.2. LA MODELISATION 21
III .3.3. L'OPTIMISATION 21
III.4. DIFFERENTS TYPES DE PLANS D'EXPERIENCES 21
III.5. DOMAINE D'APPLICATION..... 21
III.6. INTERETS DES PLANS D'EXPERIENCES..... 22
III.7. MODELISATIN ET OPTIMISATION DE PEX 23

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE IV : MATERIEL ET METHODES

IV.1. MATERIEL 25
IV.2. MATIERES PREMIERES ET REACTIFS..... 26
IV.3. METHODE 26
IV.3.1. FORMULE QUALITATIVE DU SIROP A BASE DE CYPROHEPTADINE A 0,04%..... 27
IV.3.2. ESSAIS DE FORMULATION..... 27
IV.3.3. MODE PREPARATION DES ESSAIS DE FORMULATION 28
IV.4. CARACTERISATION DES ESSAIS 29
IV.4.1. CARACTERISATION DES ESSAIS A T_O..... 30
IV.4.2. CARACTERISATION DES ESSAIS A T_1..... 32
IV.4.3. CARACTERISATION DES ESSAIS A T_2..... 33

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS

V.1. RESULTATS OBTENUS LORS DE LA CARACTERISATION DES ESSAIS A T_0 34
V.1.1. RESULTATS A T_0 DE L'ASPECT DES ESSAIS DE FORMULATION DU SIROP DE CYPROHEPTADINE 34
V.1.2. RESULTATS A T_0 DE TURBIDITE DES ESSAIS DE FORMULATION DU SIROP DE CYPROHEPTADINE 35
V.1.3. RESULTATS A T_0 DE DENSITE DES ESSAIS DE FORMULATION DU SIROP DE CYPROHEPTADINE 36
V.1.4. RESULTATS A T_0 DU PH DES ESSAIS DE FORMULATION DU SIROP DE CYPROHEPTADINE 37
V.1.5. RESULTATS A T_0 DOSAGE DE L'AC SORBIQUE DANS LES ESSAIS DE FORMULATION DU SIROP 39
V.2. EXPLOITATION STATISTIQUE DES REPONSES PAR LE MODDE 6.0 40
V.3. ÉTUDE DES INTERACTIONS FACTEURS-REPONSES 42
V.4. RESULTATS DE STABILITE PHYSICO-CHIMIQUES DES ESSAIS A T_1 ET T_2 43
V.4.1. RESULTATS DE STABILITE DE LA TURBIDITE DES ESSAIS A T_0 , T1 ET T_2 43
V.4.2. RESULTATS DE PH A T_1 DES ESSAIS DE FORMULATION DU SIROP DE CYPROHEPTADINE 45

CONCLUSION GENERALE 47

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 49

RESUME 51

LISTE DES ABREVIATIONS

CRD : Centre de Recherche et de Développement

PA : Principe Actif

Ph. Eur : Pharmacopée européenne

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

Ac : Acide

Det : Déterminant

Pex : Plan d'expérience

CAS : Chemical Abstracts Service

CMI : Concentrations Minimales Inhibitrices

OMS : Organisation mondiale de la Santé

M.W: Molecular Weight (poids moléculaire)

OTC : Over the Counter

FDA : «FOOD AND DRUG ADMINISTRATION » Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux

ICH: «The International Conference on Harmonisation» commune international sur l'harmonisation

LISTE DES FIGURES

Figure01 : Mode de préparation du sirop 29
Figure 02: Turbidité des essais à T_o 36
Figure 03: pH des différents essais à T_0 38
Figure 04: Résultats de dosage de l'acide sorbique dans les essais sélectionnés 39
Figure 05: Représentation des coefficients d'ajustement du modèle. 41
Figure 06: Valeurs des coefficients d'effets et des interactions des facteurs 42
Figure 07: Résultats de turbidité des différents essais en fonction du temps (T_0,T_1 T_2).44
Figure 08: Résultats du pH des essais à T0, T_1 et T_2 46

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'acide sorbique 16

Tableau 02: Solubilité de l'acide sorbique 17

Tableau 03: Caractéristiques physicochimiques de l'acide sorbique lot N°0000476291 18

Tableau 04: Matrice d'expérience des essais réalisés pour la préparation de sirop de cyproheptadine 28

Tableau 05: Résultats relatifs à l'aspect à T_0 des essais de formulation du sirop de cyproheptadine à 0,04% 34

Tableau 06: Résultats de turbidité des différents essais à T_0 35

Tableau 07: Résultats de densité des différents essais à T_0 37

Tableau 08: Résultats pH des différents essais à T_0 38

Tableau 09: Résultats de dosage de l'acide sorbique des essais sélectionnés 39

Tableau 10: Résultats de turbidité des essais en fonction du temps T_0, T_1 et T_2 44

Tableau 11: Résultats de variation de pH des différents essais en T_0, T_1 et T_2 45

GLOSSAIRE

L'autorisation de mise sur le marché (AMM) : est l'accord donné à un titulaire des droits d'exploitation d'un médicament fabriqué industriellement pour qu'il puisse le commercialiser

Un médicament : est un produit destiné à traiter une affection médicale grâce aux principes actifs qu'il contient. Un médicament peut être administré par voie orale, par injection, par voie rectale, par voie cutanée.

ICH : est une structure internationale qui rassemble les autorités de réglementation et les représentants de l'industrie pharmaceutique d'Europe, du Japon et des États-Unis pour discuter des aspects scientifiques et techniques de l'enregistrement des médicaments

Les antihistaminiques: sont des médicaments généralement administrés dans le cadre de traitement allergiques. Il en existe cependant deux types qu'il ne faut pas confondre. Mais qu'est-ce que c'est exactement ? Et surtout comment ça marche ? Petit tour d'horizon sur ces médicaments

Effet sédatif : Sédation : apaisement de la douleur exercé par un traitement sédatif
Un sédatif : est un médicament qui calme l'anxiété et la tension nerveuse, apaise les douleurs et aide à dormir en cas d'insomnie. Le sujet ressent un apaisement. Sa respiration, ses réflexes ralentissent. L'anxiété et la nervosité sont diminuées. Il existe de nombreux sédatifs, les plus courants étant les tranquillisants, les antidépresseurs, les anxiolytiques, et les somnifères. Certains peuvent créer une dépendance physique et/ou psychologique. À forte dose, ils peuvent provoquer un coma et la mort

L'hypotension orthostatique : est définie par une chute de la pression artérielle systolique d'au moins 20 mm de mercure lors du passage de la position allongée à la position debout et se traduit par une sensation de malaise.

Un anticholinergique : est une substance qui s'oppose à l'action de l'acétylcholine, une molécule jouant le rôle de médiateur chimique et permettant la communication nerveuse entre deux neurones. L'acétylcholine est un acteur de la mémoire, de l'apprentissage et de l'activité musculaire. Elle a également pour effet d'accroître temporairement le diamètre d'une artère.

Point éclair : ou le point d'inflammation est la température la plus basse à laquelle un liquide émet suffisamment de vapeurs pour former avec l’air ambiant un mélange inflammable dont la combustion une fois débutée puisse s’entretenir d’elle-même après retrait de la source d’allumage

Le point de fusion : ou la température de fusion d'un corps représente la température à une pression donnée, à laquelle un élément pur ou un composé chimique fond c'est-à-dire passe de l'état solide à l'état liquide. Le point de congélation (ou point de solidification selon les matériaux) est la température de la transition inverse

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'industrie pharmaceutique est l'une des industries les plus développé grâce à la diversité de ses applications. C'est le secteur industriel chargé de la conception, de la fabrication, du conditionnent et de la commercialisation des produits pharmaceutiques. [1]

Le médicament est l'un des produits délicats pour l'homme, sa conception, sa fabrication et sa consommation doivent répondre à des normes strictes, de telle sorte que son utilisation ne doit comporter aucun risque pour les malades [1], parmi ces produits on trouve les préparations liquides pour usage orale qui sont habituellement des solutions, émulsions ou suspensions contenants une ou plusieurs substances actives dans un véhicule approprié. Certaines préparations liquides pour usage oral (liquide buvable) sont constituées de substances actives liquides utilisées telle quelles. [3]

Lorsqu'un principe actif(PA) est disponible sous différentes formes pharmaceutiques, le choix de l'une d'elles dépend de divers facteurs tels que l'âge du patient, sa condition physique, l'effet thérapeutique souhaité (rapide ou prolongé). Les solutions sont généralement préférées pour une mise à disposition rapide de la substance active ; lorsque celle-ci est insoluble, des suspensions ou émulsions peuvent être proposé, la formulation des préparations liquides présentes des avantages par apport aux autres préparations.

La pharmacopée Européenne 6 ème édition [4], classe les préparations liquides pour usage oral comme suit :

- Les solutions, émulsions et suspensions buvables
- Les poudres et granulés pour solutions ou suspensions buvables
- Les goutes buvables
- Les poudres pour gouttes buvables
- Les sirops
- Les poudres et granulés pour sirops

Tout médicament doit subir des études de préformulation et de formulation pour aboutir à un produit stable, efficace et sûr car la notion de stabilité comprend la constance de la qualité d'un médicament, de sa sécurité et de son activité thérapeutique dans le temps c'est-à-dire au cours de sa conservation.

Cependant, un médicament est une entité qui ne peut se conserver durant une période indéfinie, il est le siège d'altérations et de modifications à différentes échelles qui sont plus ou moins rapide et/ou plus ou moins profondes. Les études de stabilité sont donc conçus dans le but de déterminer la date limite d'utilisation du médicament ou sa date de péremption et d'étudier les éventuelles transformations auxquelles le médicament sera exposé.

L'objectif de notre travail est de rechercher l'impact et l'effet, du conservateur "acide sorbique" sur les propriétés physico-chimiques d'une forme sirop à base de cyproheptadine dosé à 0.04% et de déterminer une éventuelle incompatibilité avec les autres constituants du sirop

Tout d'abord, nous présenterons dans notre première partie une revue bibliographique qui comporte trois chapitres : généralités sur les sirops, l'acide sorbique dans les formulations liquides et les plans d'expériences.

La deuxième partie est consacrée à deux chapitres expérimentaux : Matériels & méthodes en se basant sur une exploitation des plans d'expériences, résultats et discussions et nous terminons par une conclusion et des perspectives.

PREMIERE PARTIE

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LA FORME SIROP

I.1. LA FORME SIROP :

Les sirops sont des préparations aqueuses caractérisées par leur saveur sucrée et leur consistance visqueuse, ils sont généralement préparés avec du saccharose qui, à une concentration voisine de 65%, et une densité de l'ordre de 1,32, leur assure, en prenant un minimum de précautions, une protection antimicrobienne. [5]

Par convention, ce n'est qu'à partir de la concentration de *45%* qu'une solution de saccharose est appelée sirop

Quand un sirop est trop concentré en saccharose, il cristallise. Quand le sirop est trop dilué, il permet la prolifération de levures et moisissures. [9]

La forte proportion de sucre a pour rôle de masquer la saveur désagréable des principes actifs et d'assurer la conservation. [1]

Le saccharose peut être remplacé par des polyols (sorbitol, glycérol, xylitol) ou des édulcorants (aspartam, saccarine). Des épaississants peuvent alors être ajoutés afin d'obtenir une viscosité proche de celle du sirop de saccharose. [3]

Ils sont souvent utilisés chez les enfants puisqu'ils sont plus faciles à avaler.

On distinguer les sirops simples médicamenteux (sirops contenant un seul principe actif) et les sirops composés (sirops contenant plusieurs principes actifs). [3]

I.2. AVANTAGES ET INCONVENIENTS

Avantages

- Les formes liquides destinées à la voie orale, contrairement aux formes solides, sont des formes pharmaceutiques simples et plus faciles à avaler que les comprimés ou les gélules. Ce sont des préparations qui conviennent particulièrement aux enfants et personnes adultes ayant du mal à avaler.
- Une fragmentation possible des doses permet une adaptation plus facile de la posologie.
- Meilleure biodisponibilité : l'action thérapeutique des formes liquides est très rapide comparée aux formes solides puisque le problème de délitement ne se pose pas.
- Le masquage du goût amer des agents thérapeutiques peut être aisément réalisé.

- Formulation non compliquée [10]
- Formes multi-doses HOMOGÈNES [10]
- Concentration déterminée [10]
- Divisible avec une précision suffisante
- PA mieux tolérés (en raison de leur dilution), mieux absorbés et actifs plus rapidement. [10]

Inconvénients

- Les sirops sont des préparations nécessitant un conditionnement encombrant, souvent fragile et lourd (verre, polymère) .
- Altération plus rapide des PAs (car ils sont en solution) Conservation limitée , nécessitant de basses températures après reconstitution (< 30°C)
- Produits de dégradation incompatibles avec les autres composants.
- La précision et l'exactitude de la dose administrée dépendent du patient lui-même.

I.3. FORMULATION DES SIROPS:

La formulation est l'activité industrielle, consistant à fabriquer des produits homogènes, stables et possédants des propriétés spécifiques, en mélangeant différentes matières premières, sous une forme pharmaceutique définie.

Principe actif + Excipient (Matière première) + Technologie = formulation

- ***Avant la formulation on doit:***
  - ✓ Définir les caractéristiques physico-chimiques des matières premières
  - ✓ Définir les consignes de sécurités à prendre lors de la manipulation des produits.
- ***Les éléments qui sont pris en compte pour la formulation***
  - ✓ La voie d'administration
  - ✓ Conditions de conservation dans les matériaux de conditionnements
  - ✓ La forme galénique
  - ✓ Les excipients
  - ✓ Procédé de fabrication

- **Les études de formulation ont pour objectif de :**

  - **Générer des prototypes ce qui est lié :**

- Aux spécifications du principe actif et celles du véhicule ainsi qu'au procédé de fabrication : les caractéristique physico-chimiques du PA, les technologies les plus simples possibles.
- Aux définitions des objectifs thérapeutiques : nature pathologie, activité du PA et facteurs inhérent aux patients
- Au facteur économique (innovation) : médicament doit être rentable.
- Aux méthodologies existantes
- Aux systèmes experts d'aide à la formulation
- Optimisation de la formulation au fur et à mesure des résultats des différents essais

I.3.1. Préparation

Les sirops de saccharose peuvent être préparés à froid ou à chaud soit par addition de principe actif au sirop de sucre, soit par dissolution du sucre directement dans une solution de principe actif. **[3]**

Méthode de préparation :

- **Préparation à chaud**

Cette méthode de préparation est utilisée lorsque le sirop doit être préparé rapidement et quand ses constituants ne sont pas sensibles à la chaleur et ne risquent pas non plus de se volatiliser.

Dans cette méthode 100g de saccharose sont ajoutés à 165 g d'eau distillée, l'ensemble est chauffé à ébullition (105°C) jusqu'à dissolution complète du saccharose.

La densité du sirop à ébullition est de 1,26 ; il est ensuite filtré à chaud. Les substances labiles ou volatiles sont ajoutées au sirop après son refroidissement.

- **Préparation à froid :**

La préparation à froid du sirop se fait par dissolution de 180 g de saccharose dans 100 g d'eau, la préparation est ensuite filtrée. La densité du sirop à froid est de 1,32.

Les sirops sont fabriqués dans des récipients en acier inoxydable, en général à double parois pour le chauffage à la vapeur d'eau sous pression ; un système d'agitation à palette ou à hélice facilite la dissolution. [1]

La préparation nécessite 2 substances :

- Le **véhicule** : c'est un liquide dans lequel le sucre est dissout (eau).

- Le **sucre** : on utilise soit le saccharose soit le sucre blanc issu de la betterave. Pour les diabétiques, on utilisera des édulcorants tels que le sorbitol ou le polyol et des édulcorants intenses comme l'aspartam ou la saccharine [27]

➢ **Tests physico-chimiques effectués sur la forme sirop :**

Les analyses physico-chimiques font référence à toutes les actions de détermination d'une valeur sur un échantillon, qu'il s'agisse d'analyses, de mesures, d'observations, etc... faites en laboratoire ou sur le site de la station de mesure. Parmi ces tests on trouve :

✓ **La turbidité** : qui désigne la teneur d'un fluide en matières qui le troublent. Dans les cours d'eau elle est généralement causée par des matières en suspension et des particules colloïdales qui absorbent, diffusent et/ou réfléchissent la lumière

✓ **pH** : Le potentiel hydrogène (ou pH) est une mesure de l'activité chimique des ions hydrogène H^+ en solution. Notamment, en solution aqueuse, ces ions sont présents sous la forme de l'ion oxonium (également, et improprement, appelé ion hydronium).

Plus couramment, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution.

✓ **La densité** d'une substance est égale à la masse volumique de la substance divisée par la masse volumique du corps de référence à la même température. Pour les liquides et les solides, l'eau est utilisée comme référence, pour les gaz, la mesure s'effectue par rapport à l'air. Elle est notée d et n'a pas d'unité (grandeur physique sans dimension).

I.4. STABILITE ET INSTABILITE DES MEDICAMENTS

I.4.1. Définition

Selon la Conférence Internationale sur l'Harmonisation (ICH), la stabilité est l'aptitude d'un médicament à conserver des propriétés chimique, physique, microbiologique et biopharmaceutiques dans les limites spécifiées pendant toute sa durée de validité.

Un médicament est considéré comme pratiquement stable lorsque, dans un laps de temps déterminé, ses propriétés essentielles ne changent pas ou changent au plus dans des proportions tolérables, de plus, le médicament doit être conservé dans des conditions appropriées et prescrites de température, d'humidité et d'exposition à la lumière et qu'un récipient convenable a été utilisé.

La stabilisation d'un produit implique des procédés physiques, physico-chimiques, chimiques, biopharmaceutiques et ou antimicrobiens. On distingue :

- Stabilité chimique
- Stabilité physique
- Stabilité microbiologique
- Stabilité biopharmaceutique [15]

I.4.2. Objectifs des études de stabilité

Les essais de stabilité ont pour but de fournir des données probantes sur la façon dont la qualité d'un principe actifs ou d'un produit médicamenteux varie en fonction du temps sous l'effet de divers facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité et la lumière, permettant ainsi de définir les conditions de conservation et de déterminer la durée de validité des produits

Toutes les phases de développement du médicament sont sujettes à des essais de stabilité, seul l'objectif diffère en fonction du stade de développement du produit. [16]

I.4.3. Instabilité

Le milieu aqueux est très favorable à la prolifération microbiologique. La date limite de conservation pour une forme liquide n'est valable que pour un emballage non ouvert, non endommagé et uniquement si les conditions de conservation prescrites par le fabricant ont

été respectées. Après une première ouverture, un principe actif peut se dégrader, le solvant peut s'évaporer si le flacon n'est pas bien fermé ; et en conséquence, la teneur en principe actif sera modifiée [15]

Les principaux facteurs d'instabilité :

- **Facteurs externes** : température, contamination microbienne, lumière, air atmosphérique et l'humidité
- **Facteurs internes** : système médicamenteux, interactions PA-excipients, interaction contenu-contenant et le pH

Types d'étude de stabilité : on a trois types :

- ✓ Etude dans des conditions de stress
- ✓ Etude dans des conditions accélérées
- ✓ Etude à long terme

I.5. CONTROLE QUALITE ET DOSAGE PAR HPLC

I.5.1.Contrôle Qualité

- **Définition**

Le contrôle est une opération destinée à déterminer, avec des moyens appropriés, si le service contrôlé est conforme ou non à ses spécifications ou exigences préétablies par le référentiel et incluant une décision d'acceptation, de rejet ou de retouche.[20]

Le contrôle qualité permet de savoir si les produits ou les services vendus par l'entreprise sont conformes :

- aux exigences du marché,
- à la demande du client,
- aux législations,
- au cahier des charges de l'entreprise

- **Conforme ou non-conforme**

Le contrôle qualité permet de déterminer si les produits fabriqués sont :

- conforme,
- non-conformes mais avec possibilité de retouche,
- non-conformes et devant être détruits. [18]

I.5.2. Dosage par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

- **Définition :**

La chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC est l'une des techniques les plus employées dans les laboratoires d'analyse chimiques. Elle permet l'identification, la séparation et le dosage de composés chimiques dans un mélange. La grande précision de la chromatographie liquide (HPLC) permet la recherche de traces. Il est possible de coupler la chromatographie liquide (**HPLC**) à un spectromètre de masse. [21]

- **Chromatographes d'HPLC**

La chromatographie haute performance nécessite un appareillage sophistiqué et coûteux.). En général, ce type d'appareil ne peut pas être couplé avec un autre instrument comme un spectromètre de masse.

L'HPLC est utile dans le cas d'identification des molécules macromoléculaire, des composés thermolabiles et substances ionisables.

- **Les domaines d'utilisation de la chromatographie en phase liquide sont essentiellement:**
  - Agroalimentaire
  - Environnement
  - Pharmaceutique

- **Domaines d'intervention**

Le laboratoire HPLC assume des activités diverses et variées dont on peut citer:

- Mise au point des méthodes d'analyse qualitatives et quantitatives des substances majeurs et traces.
- Etude de dégradation

- Identification et confirmation…

Ces activités sont appliquées dans plusieurs domaines; exp : **Pharmaceutique**

L'analyse par HPLC dans ce domaine permet:

- Contrôler les impuretés dans un médicament.
- Analyser quelque principe actif.
- Contrôler la matière première et la stabilité des médicaments. [22]

- **Dosage par l'HPLC**

Au laboratoire contrôle qualité, les conservateurs ainsi que les principes actifs sont dosés dans le produit fini afin de garantir au mieux la teneur exacte en conservateur ajouté ainsi qu'en principe actif

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a pris une position importante dans la recherche et le développement surtout dans le contrôle de qualité pharmaceutique, c'est une méthode de choix incontournable dans l'analyse qualitative et quantitative des médicaments que ça soit le contrôle du principe actif dans la matière première ou dans le produit fini.

Actuellement, le dosage d'acide sorbique est effectué par HPLC. Cette technique d'analyse permet une bonne séparation et quantification de l'acide sorbique, mais c'est une technique coûteuse en solvant, en temps et en matériel.[22]

I.6.MATIERES PREMIERES ET REACTIFS

I.6.1.Principe actif :

Le terme de principe actif désigne une substance qui possède des propriétés thérapeutiques. Cette substance n'est pas obligatoirement chimiquement pure. Elle peut être composée de plusieurs isomères, par exemple.

Dans notre cas le principe actif utilisé c'est la **Cyproheptadine HCl**

Définition

Le chlorhydrate de cyproheptadine contient au minimum 98,5 pour cent et au maximum l'équivalent de 101,0 pour cent de chlorhydrate de 4-(5*H*-dibenzo[*a*,*d*]cycloheptén-5-ylidène)-1-méthylpipéridine,calculé par rapport à la substance anhydre.

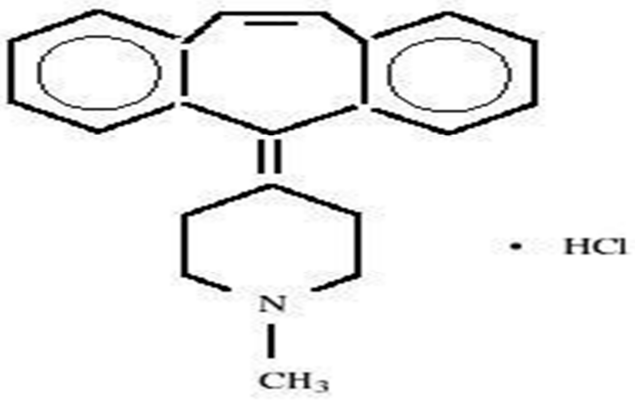
Caractères :

Poudre cristalline, blanche ou légèrement jaune, peu soluble dans l'eau, facilement soluble dans le méthanol, assez soluble dans l'alcool. **[26]**

Pharmaco thérapeutique :

La cyproheptadine est un antihistaminique H1 qui se caractérise par : un effet sédatif marqué aux doses usuelles, lié à une activité antihistaminique, anti cholinergique et adrénolytique centrale, un effet anti cholinergique à l'origine d'effets indésirables, un effet adrénolytique, pouvant retentir au plan hémodynamique (risque d'hypotension orthostatique). [25]

Formule chimique :



$C_{21}H_{21}N$ • HCl **M.W. 350.89**

- **Conditions de conservation :**

  - Conserver hors de la portée des enfants.
  - Conserver les récipients bien fermés et dans un endroit frais et bien ventilé.
  - Conserver dans des récipients correctement étiquetés **[13]**

- **Stabilité et réactivité**
  - **Stabilité:** Stable dans les conditions de stockage recommandées.
  - **Matières incompatibles:** Incompatible avec les agents comburants.
  - **Conditions à éviter:** Chaleur, flammes et étincelles. Variations extrêmes de température et lumière du jour directe.

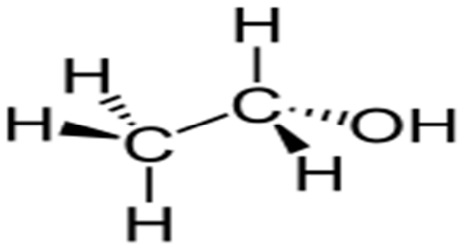
I.6.2. Excipients :

Un excipient est une substance, dans un médicament, autre que la substance active, destinée à apporter une consistance, un goût, une couleur à un médicament, tout en évitant toute interaction avec le principe actif.

Les différents excipients utilisés dans notre formulation sont les suivants :

❖ **Ethanol**

- **Formule développée : [2]**



- **Synonyme :**

Alcool éthylique, éthyle hydroxyde

- **Formule empirique et poids moléculaire**

C_2H_6O 46.07 g/mol

- **Fonction** :

Conservateur antimicrobien, désinfectant, pénétrant dans la peau, solvant

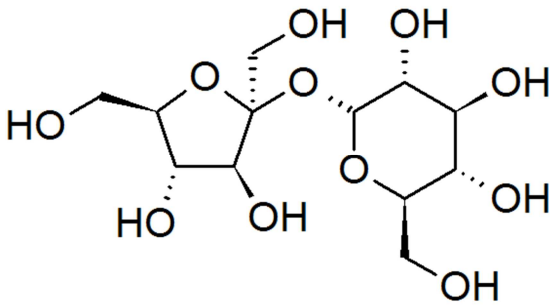
- **Stabilité et condition de stockage**

Les solutions aqueuses d'éthanol peuvent être stérilisées par autoclavage ou par filtration et devraient être stocké dans un récipient hermétique, dans un endroit frais. **[2]**

❖ **Saccharose**

- **Saccharose en représentation polygonale**

$C_{12}H_{22}0_{11}$



❖ **Acide sorbique**

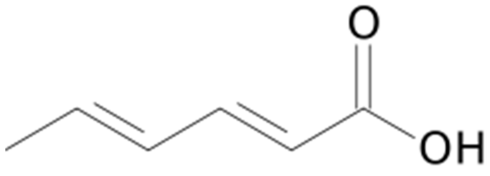
- **Nom chimique :**

L'acide trans, trans-2,4-hexadiénoïque. **[2]**

- **Formule empirique et poids moléculaire.**

$C_6H_8O_2$ 112.13g/mol

- **La formule structurale**



- **Catégorie fonctionnelle.**

Conservateur antimicrobien. **[2]**

❖**Arôme cerise**

Dans le domaine pharmaceutique, les arômes sont des produits ou des substances destinés à être introduits dans certains médicaments pour en masquer ou en améliorer la saveur ou l'odeur, à l'exception des substances ayant exclusivement une saveur sucrée, acide ou salée. Les arômes peuvent être additionnés de solvants, de supports, de colorants, de conservateurs ou d'additifs divers autorisés par l'autorité compétente.
Les arômes introduits dans les médicaments sont au minimum de qualité alimentaire. [14]

Arôme concentré à diluer dans du liquide de Base afin d'obtenir un excellent goût de Cerise.[28]

❖ **Eau purifiée**

Une eau purifiée est une eau issue d'un traitement physique destiné à supprimer les impuretés. L'eau distillée et l'eau déminéralisée (aussi appelée dé_ionisée), souvent utilisées en laboratoire et dans l'industrie, sont des exemples bien connus.

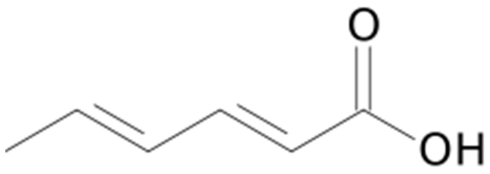
CHAPITRE II

L’ACIDE SORBIQUE DANS LA FORMULATION LIQUIDE

II.1. ACIDE SORBIQUE

- **Présentation :**

L'acide trans, trans-2,4-hexadiénoïque.



$C_6H_8O_2$ **MW = 112.13g/mol**

- **Description**

C'est un acide gras insaturé CH_3-CH=CH-CH=CH-COOH qui se présente sous la forme d'un solide blanc cristallin légèrement soluble dans l'eau et bien soluble dans l'alcool. (Température de fusion : 135 °C). Par contre ses sels, les sorbates, sont bien plus solubles. **[2]**

II.2.APPLICATION DANS LA FORMULATION PHARMACEUTIQUE

L'acide sorbique est un conservateur antimicrobien, avec des propriétés antibactériennes et antifongiques, utilisé dans les aliments, les cosmétiques et les formulations pharmaceutiques. Généralement, il est utilisé à des concentrations de 0,05-0,2% dans les formulations pharmaceutiques topiques et orales, spécialement celles contenant des surfactants non ioniques. **[2]**

L'acide sorbique présent une stabilité et une activité antibactérienne limitée et donc fréquemment utilisé en combinaison avec d'autres conservateurs antimicrobiens ou des glycols, alors des effets synergiques apparaissent. [2]

L'acide sorbique est utilisé aussi avec des protéines, enzymes, gélatines et les gommes végétales. Il a été démontré pour être efficace comme agent de conservation pour les solutions chlorhydrate de prométhazine à une concentration de 1g/L **[2]**

II.3. PROPRIETES TYPIQUES

- ✓ **Le point d'ébullition**: 228°C.
- ✓ **Densité**: 1.20 g/cm3
- ✓ **La constante de dissociation**: pKa = 4.76
- ✓ **Le point d'éclair**: 127°C
- ✓ **Le point de fusi**on: 134.5°C
- ✓ **Solubilité**: regarder le tableau 3; **<u>En sirop</u>, la solubilité de l'acide sorbique diminue avec l'augmentation de la teneur en sucre**.
- ✓ **La pression de vapeur**: <1.3 Pa (<0.01 mmHg) à 20°C
- ✓ **Température de dégradation : 40°C [2]**

- ✓ ***L'activité antimicrobienne :***

L 'activité antibactérienne optimale est obtenu à un pH de 4,5.Il n'existe pratiquement aucune activité supérieure à Ph 6

L'efficacité d'acide sorbique est renforcée lorsqu'il est utilisé en combination avec d'autres conservateurs antimicrobiens ou glycols dès l'apparition d'effets synergétique. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) à ph 6 ont été signalées dans le **tableau N° 1**. [2]

Tableau 01: Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'acide sorbique

Microorganisme	CMI (mg/mL)
Aspergillus niger	200–500
Candida albicans	25–50
Clostridium sporogenes	100–500
Escherichia coli	50–100
Klebsiella pneumonie	50–100
Penicillium notatum	200–300
Pseudomonas aeruginosa	100–300
Pseudomonas cepacia	50–100
Pseudomonas fluorescens	100–300
Saccharomyces cerevisiae	200–500
Staphylococcus aureus (doré)	50–100

L'acide sorbique est un conservateur un peu soluble dans l'eau mais qui est soluble dans l'alcool, le tableau suivant présent sa solubilité à 20°C dans quelques solvants

Tableau 02: Solubilité de l'acide sorbique

Solvant	Solubilité à 20°C Sauf indication contraire
Acétone	1 à 11
Chloroforme	1 à 15
Ethanol	1 à 8
Ethanol (95%)	1 à 10
Ether	1 à 30
Glycérine	1 à 320
Méthanol	1 à 8
Propylène glycol	1 à 19
Eau	1 à 400 à 30°C 1 in 26 à 100°C

Remarque : solubilité de l'acide sorbique

Partant de ces données, les recommandations proposées par la FDA sont les suivantes :

- L'éthanol ne devrait pas être inclus dans les médicaments administrés chez l'enfant ;
- Néanmoins si l'éthanol est indispensable pour solubiliser les principes actifs, les recommandations suivantes sont faites :

1°) Les produits OTC en solution ne doivent pas contenir plus de **5**% d'éthanol ;

2°) Les enfants de moins de 6 ans sous traitement par produit OTC contenant de l'alcool doivent être suivis par un médecin ;

3°) La quantité d'alcool dans tout médicament ne devrait pas produire une concentration sanguine en éthanol supérieure à 0,25 g/L après une administration unique ;

4°) Un intervalle approprié entre 2 médications doit être respecté afin d'éviter l'accumulation ;

5°) Le volume total en éthanol du médicament doit être le plus raisonnable possible pour prévenir une
intoxication accidentelle à dose potentiellement létale ;

6°) Des bouchons de sécurité seront recommandés pour des médicaments ayant un titre alcoolique
supérieur à 5%.

II.4. STABILITE ET CONDITIONS DE STOCKAGES

L'acide sorbique est sensible à l'oxydation, particulièrement en présence de lumière ; l'oxydation se produit plus rapidement en solution aqueuse que dans une forme solide. L'acide sorbique peut être stabilisé par les antioxydants phénoliques tels que le pyrole gallate à 0,02% .

Quand il est chauffé jusqu'à la décomposition, le produit peut dégager des fumées âcres et irritantes .La matière en vrac devrait être stocké dans un récipient bien fermé, à l'abri de la lumière, à une température qui ne dépasse pas 40°C. **[**2**]**

II.5. INCOMPATIBILITES

L'acide sorbique est incompatible avec les bases, les agents oxydants (l'oxydation est catalysée par les sels de métaux lourds) et les agents réducteurs, une certaine diminution de l'activité antimicrobienne se produit en présence de surfactants non ioniques et plastiques.

Stockée dans un contenant en verre, la solution devient très pH-sensible ; par conséquent, les préparations utilisant l'acide sorbique comme conservateur devraient être testées pour leur pureté microbienne après des périodes prolongées de stockage.

Les différentes caractéristiques physicochimiques de l'acide sorbique en suivant les spécifications pharmacopée sont portées dans le **tableau N°3 [2]**

Tableau 03 : Caractéristiques physicochimiques de l'acide sorbique lot N°0000476291

Tests	**Spécifications pharmacopée**
Aspect	Poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche
Solubilité	Peu soluble dans l'eau, facilement soluble dans l'éthanol à 96 %
Identification	Solution limpide et incolore
Aldéhydes	≤ 0.15%
Métaux lourds	≤ 10 ppm
Teneur en eau	≤ 1 %
Cendres sulfuriques	≤ 0.2 %
pureté	99,0 – 101,0 %

Les solutions aqueuses de l'acide sorbique sans l'addition d'antioxydants sont décomposés rapidement quand elles sont stockées dans des récipients en polypropylène, en chlorure de polyvinyle(PVC) et en polyéthylène. **[**2**]**

II.6. PROCEDE DE FABRICATION

Naturellement, l'acide sorbique peut être extrait des lactones (acide parasorbique) à partir des baies de sorbier (sorbus aucuparia). (Fam.Rosaceae). **[2]**

L'acide sorbique peut être préparer par la condensation de crotanoldéhyde et cétène en présence de tri-fluorure de bore par la condensation de croton- et des acides malonique en solution de pyridine ou bien 1,1,3,5-tetraalkoxyhexane aldéhyde **[2]**

La fermentation de sorbaldehyde ou de sorbitol par des bactéries dans le milieu de culture à également été utilisé. **[2]**

II.7-PRECAUTIONS DE MANIPULATION

L'acide sorbique peut être irritant pour la peau, les yeux, et pour le système respiratoire. Des lunettes de protection, des gants, un respiratoire ou masque de poussière sont recommandés. [2]

CHAPITRE III

LES PLANS D'EXPERIENCES

III.1. INTRODUCTION

Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt, y, et des variables, x_i

Avec les plans d'expériences on obtient le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences. Pour cela, il faut suivre des règles mathématiques et adopter une démarche rigoureuse. Il existe de nombreux plans d'expériences adaptés à tous les cas rencontrés par un expérimentateur. Les principes fondamentaux de cette science seront indiqués et les principaux plans seront passés en revue.

La compréhension de la méthode des plans d'expériences s'appuie sur deux notions essentielles, celle ***d'espace expérimental*** et celle de ***modélisation mathématique*** des grandeurs étudiées. [11]

III.2.DEFINITION

Un plan d'expérience est une approche statistique permettant de maîtriser un problème à plusieurs paramètres tout en suivant un programme préconçu des différentes expériences qu'on se doit effectuer. Il a pour but de minimiser le nombre d'essais pour obtenir des résultats fiables qui reflètent la variation réelle du phénomène étudié en fonction de ses diverses caractéristiques. [23]

III.3. METHODOLOGIE DES PLANS D'EXPERIENCES

Pour l'élaboration d'un plan d'expériences, on passe généralement par les trois étapes suivantes :

III.3.1. Recherche des facteurs influents

Cette étape consiste à répondre à un ensemble de questions concernant l'influence des facteurs considérés sur le phénomène étudié : parmi tous les facteurs susceptibles d'influer sur la

réponse, lesquels ont une influence significative ? Que vaut cette influence ? et y a t il des interactions entre ces facteurs ? [23]

Une fois les facteurs influents sont bien déterminés et leurs influences est quantifiées, on passe au second stade :

III.3.2. Modélisation

Dans cette phase, on cherche quelle est la forme de l'influence définie dans la première étape : linéaire, courbe.... et quelle est l'équation mathématique régissant, avec une précision donnée, la variation du phénomène en fonction des facteurs influents. [23]

La modélisation d'une réponse se fait en choisissant des points expérimentaux dont le nombre est au moins égal à la somme des effets, des interactions et des effets quadratiques. Ainsi on définit une matrice de n lignes et k colonnes, où n est le nombre d'expériences et k est le nombre des effets. [23]

III.3.3. Optimisation

Après la détermination de la forme graphique et analytique de notre réponse, il est primordial d'aller chercher les conditions expérimentales donnant le meilleur résultat. Cette étape nécessite préalablement une connaissance assez profonde du phénomène étudié.[23]

III.4. DIFFERENTS TYPES DE PLANS D'EXPERIENCES

Trois grandes familles de plans d'expériences sont présentes :

- Plans factoriels complets à deux niveaux
- Plans fractionnaires à deux niveaux
- Plans de mélange [23]

III.5. DOMAINES D'APPLICATION

Les premiers PEX, dits « plans factoriels complets et fractionnaires », ont vu le jour grâce aux travaux de Fisher (statisticien et généticien britannique) au début du XX^{e} siècle dans le cadre des activités qu'il menait pour le centre de recherche d'agronomie de Rothamsted. [12]

Les plans d'expérience issus de ses travaux, de par leur complexité de mise en œuvre dès lors que les facteurs influents (et leurs combinaisons) devenaient trop nombreux, ont trouvé peu d'échos dans le secteur industriel. [12]

Les plans d'expérience sont donc devenus, dès lors, des méthodologies couramment usitées dans de nombreux secteurs industriels (secteurs auxquels nous nous attacherons tout au long de cet article) autres que l'agronomie. Ces modèles, se basant sur des modèles statistiques complexes, ont pour vocation de :

- Déterminer l'influence des différents facteurs d'un procédé sur la réponse ;
- Optimiser les réglages d'un procédé ;
- Prédire le comportement d'un procédé. [12]

III.6. INTERETS DES PLANS D'EXPERIENCES

Les plans d'expériences sont utilisés dans les études industrielles enrecherche-développement. Ils interviennent dans de nombreux domaines industriels. [17]

On peut notamment citer :

- ✓ Industries chimiques, pétrochimiques et pharmaceutiques
- ✓ Industries mécaniques et automobiles
- ✓ Industries métallurgiques. [17]

Leur utilisation vise aux buts suivants :

- ✓ Détermination des facteurs clés dans la conception d'un nouveau produit ou d'un nouveau procédé
- ✓ Optimisation des réglages d'un procédé de fabrication ou d'un d'appareil de mesure
- ✓ Prédiction par modélisation du comportement d'un procédé
- ✓ Les PEX s'inscrivent dans une démarche générale d'amélioration de la qualité. [17]

Le succès de la démarche originale des plans d'expériences réside dans la possibilité d'interprétation de résultats expérimentaux avec un effort minimal sur le plan expérimental la minimisation du nombre nécessaire d'expériences permet un gain en temps et en coût financier. [17]

Il faut néanmoins comprendre que les plans d'expériences ne sont pas un outil destiné a priori à la recherche fondamentale car ils ne permettront jamais une explication du phénomène physico-chimique étudié. [17]

III.7.MODELISATION ET OPTIMISATION DE PLANS D'EXPERIENCES

- **Améliorer et optimiser des produits et des procédés**

La haute qualité, l'efficacité et la continuité sont les caractéristiques d'une organisation qui garantit le succès. Les plans d'expériences sont les meilleurs outils pour atteindre ces objectifs.

- **Pourquoi mettre en oeuvre les plans d'expériences et comment trouver l'optimum?**

Ceci est une question courante dans les entreprises. En recherche et développement, souvent la moitié des ressources est utilisée pour résoudre des problèmes d'optimisation. Avec l'augmentation rapide du coût des expériences, il est essentiel que l'optimisation puisse être faite avec le moins possible d'expériences. Ceci est une des raisons importantes pour lesquelles il faut utiliser les plans d'expériences. [27]

Des exemples typiques :

- Le développement de nouveaux produits et procédés
- L'optimisation de la qualité et de la performance d'un produit existant
- L'optimisation de procédés industriels dans les domaines suivants :
    - ✓ chimie
    - ✓ polymères
    - ✓ matériaux
    - ✓ **médicaments et produits pharmaceutiques**
    - ✓ aliments et boissons
    - ✓ cosmétique
    - ✓ peintures [27]

Dans notre cas nous avons exploité le plan d'expérience MODDE 6 et ça pour une meilleure planification des essais de formulation et pour une éventuelle évaluation et étude des interactions entre les facteurs et facteurs-réponses,. Les facteurs sont en nombre de 4 (Ac sorbique, saccharose, arôme et alcool éthylique). Le plan choisi est D-optimal avec 3 points au centre (essais : 19,20 et 21).

- **Évaluation de la qualité du modèle mathématique**

Dans la présente étude, l'analyse de régression a été basée sur l'évaluation de deux paramètres : R^2et Q^2.

La qualité du modèle mathématique obtenu peut être évaluée par des tests statistiques qui sont donnés directement par le programme MODDE 6.0

Afin de vérifier et dévaluer la qualité du modèle mathématique choisi, il est impératif de calculer les paramètres suivants:

- **Rapport R^2** : Permet d'évaluer le degré d'explication du modèle mathématique établi (réponses prédites) par rapport aux réponses mesurées. Un bon modèle doit avoir un R^2 proche de l'unité 1 ;
- **Rapport Q^2** : Le coefficient Q^2 est très similaire au coefficient R^2; il est parfois appelé R^2 prédictif. Il peut être négatif pour les très mauvais modèles. Des valeurs proches de l'unité 1 désignent de la même façon des modèles bien ajustés aux données expérimentales;
- **Validité du modèle:** est une mesure de la validité du modèle. Quand la colonne de validité modèle est plus grande que 0.25, il n'y a aucun manque d'ajustement du modèle. Ceci signifie que l'erreur modèle est dans la même gamme que l'erreur pure. Quand la validité modèle est moins de 0.25 tu as un manque significatif d'ajustement et l'erreur modèle est sensiblement plus grande que l'erreur pure (reproductibilité). Une valeur modèle de validité de 1 représente un modèle parfait ;
- **Reproductibilité:** est la variation de la réponse dans les mêmes conditions (erreur pure), souvent aux points centraux, comparés à toute la variation de la réponse. Une valeur de reproductibilité de 1 représente la reproductibilité parfaite.

DEUXIEME PARTIE

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE IV :

MATERIELS ET METHODES

INTRODUCTION

L'étude pratique a été réalisée dans le laboratoire de pharmacie galénique et dans le laboratoire de chimie analytique du Centre de Recherche et de Développement du groupe SAIDAL et ce dans le but d'étudier l'effet de l'acide sorbique sur les propriétés physico-chimiques d'un sirop à base de cyproheptadine dosé 0,04%, en particulier l'aspect (la turbidité).

A cet effet, nous avons exploité les plans d'expériences pour une meilleure planification des essais et pour l'évaluation des résultats. Les facteurs sélectionnés sont des facteurs de formulation (taux du saccharose, taux de l'acide sorbique, taux de l'arôme et Alcool éthylique 96%). Les réponses retenues sont : aspect, pH, densité, turbidité, dosage pour quelques essais (la sélection est faite par l'organisme d'accueil en fonction de la disponibilité des moyens techniques).

IV.1. MATERIEL

- **Appareillage :**
  - Balance de précision SARTORIUS LP620S.
  - Agitateur à hélice IKA-RW 015/2.
  - pH mètre « METTER TOLEDO ».
  - Plaque chauffante IKA-WERKE.
  - Turbidimètre.
  - Densimètre électrique ANTON PAAR .
  - HPLC ALLIANCE « WATERS e2695 » avec un détecteur photodiode de marque « WATERS 2998 ».
  - Thermomètre.

- **Verrerie :**
  - Béchers.
  - Fioles jaugées de 10 ml, 100 ml.
  - Pipettes jaugées.

IV.2. MATIERES PREMIERES ET REACTIFS

Matières premières

Toutes les matières premières sont fournies par le CRD –Saidal et elles sont conformes aux spécifications décrites dans pharmacopée européenne. [4]

- **principe actif :** cyproheptadine
- **Excipients** : saccharose, acide sorbique, arôme cerise, eau purifiée, Alcool éthylique 96%.

Réactifs et solvants :

Tous les réactifs et solvants sont fournies par le CRD –Saidal et ils sont en cours de validité.

- Alcool éthylique 96%.
- Acétonitrile de grade HPLC.
- Isopropanol de grade HPLC.
- Acide méthane sulfonique à 3°/∞.
- Triéthylamine.
- Eau purifiée .

IV.3. METHODES

La forme étudiée dans notre travail est un sirop sucré à base de cyproheptadine.

Nous avons exploité les plans d'expériences pour une meilleure planification des essais et pour l'évaluation des résultats.

A cet effet, nous avons fait varier les taux des excipients suivants : le saccharose, l'acide sorbique, l'arôme et l'Alcool éthylique 96%. dans le but est d'étudier l'interaction de l'acide sorbique avec ces excipients de la formule du sirop. Pour cela, nous avons évalué les propriétés suivantes : aspect du sirop, turbidité du sirop, le pH, la densité et le dosage de quelques essais.

IV.3.1. Formule qualitative du sirop à base de cyproheptadine à 0,04%

- Cyproheptadine chlorhydrate 0,04g/100ml

- Sucre cristallisé
- Acide sorbique
- Alcool éthylique 96°
- Arôme cerise
- eau purifiée

A partir de la formule qualitative tirée de la notice du produit étudié, nous avons fait plusieurs recherches. Les données relatées sont présentées ci-après:

1/-D'après le livre ''HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS'' : [2]

On a les normes suivantes :

- ✓ Acide Sorbique : 0,05 à 0,2 %
- ✓ Éthanol: 1 à 5%

2/-D'après la méthode interne retenue par le laboratoire d'accueil les spécifications recherchées sont :

- ✓ pH: de 3 à 4
- ✓ Densité : de 1,16 à 1,20 g/L
- ✓ Aspect : solution limpide, transparente

3/ -D'après la synthèse bibliographique :

Présence d'une incompatibilité de l'acide sorbique avec le saccharose et ce à une certaine concentration du sucre dans la solution. Pour cela, nous avons retenu pour l'étude, un intervalle allant de 25 à 50% de saccharose.

Le trouble remarqué dans les sirops peut être dû au taux de l'arôme (plus l'arôme d'origine naturelle est élevée plus le sirop sera trouble). A cet effet, nous avons retenu un intervalle d'étude de 0,1 à 1 % pour l'arôme.

IV.3.2. Essais de formulation

Pour une meilleure planification des essais de formulation et pour une éventuelle évaluation et étude des interactions entre les facteurs et facteurs-réponses, nous avons exploité le plan d'expérience MODDE 6. Les facteurs sont en nombre de 4 (Ac sorbique, saccharose, arôme et alcool éthylique). Le plan choisi est D-optimal avec 3 points au centre (essais : 19,20 et 21). Additivement à cette matrice, nous avons reproduit la formule validée par l'organisme d'accueil. La formule centésimale de l'essai N° 22 est incluse dans le tableau **N° 4** qui illustre les formules centésimales des différents essais.

Tableau 04 : Matrice d'expérience des essais réalisés pour la préparation de sirop de cyproheptadine

Exp No	ac sorbique %	Alcool %	Saccharose %	Arome %
1	0,20	1	25	0,1
2	0,05	5	25	0,1
3	0,05	1	50	0,1
4	0,2	5	50	0,1
5	0,2	1	25	0,5
6	0,05	5	25	0,5
7	0,2	5	50	0,5
8	0,05	1	25	0,2
9	0,05	1	43,75	1
10	0,05	5	50	0,4
11	0,05	3,5	50	1
12	0,2	1	50	0,2
13	0,2	5	25	0
14	0,15	1	50	0,5
15	0,08	5	50	0,1
16	0,2	0	37,5	0,3
17	0,125	5	37,5	0,3
18	0,125	2,5	25	0,3
19	0,125	2,5	37,5	0,3
20	0,125	2,5	37,5	0,3
21	0,125	2,5	37,5	0,3
22	0,08	1	50	0,3

IV.3.3. Mode préparation des essais de formulation

La préparation de 100 ml de sirop se fait selon le procédé de fabrication retenu et validé antérieurement par de l'organisme d'accueil en suivant les étapes suivantes :

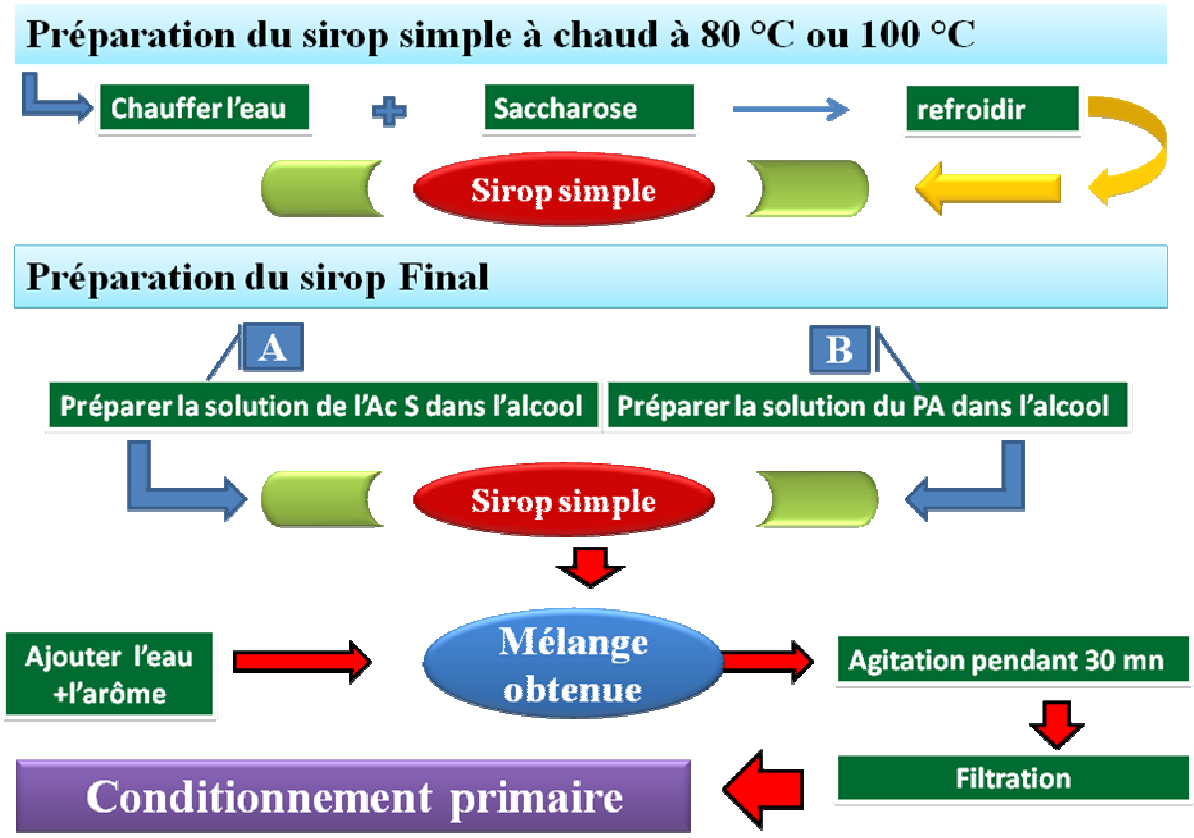


Figure 01 : Mode de préparation du sirop

1. **Conditionnement primaire**

Répartir le mélange dans des flacons en verre, de couleur jaune ambré, avec bouchon en aluminium + étiquetage avec respect des conditions de conservation (T°C et HR %).

IV.4. CARACTERISATION DES ESSAIS

D'après la méthode interne, on a les normes suivantes:

-pH: de 3 à 4

-Densité : de 1,16 à 1,20g/L

-Aspect : Limpide et transparente

IV.4.1-Caractérisation des essais à T_o:

A T_0, on a fait plusieurs tests sur les différentes préparations afin d'évaluer leurs qualités pharmaceutiques.

Les tests effectués sur les différentes préparations sont :

- ***Aspect :***

Analyse des caractères organoleptique (aspect, la couleur et l'odeur) dans le but d'obtenir un sirop liquide de couleur un peu jaune, limpide et d'odeur fuitée.

- ***Densité :***

La mesure de la densité s'effectue au moyen d'un densimètre électronique, test considéré comme un indice de pureté, qui a pour but de confirmer les résultats de l'analyse organoleptique.

- ***Détermination du pH :***

La mesure de pH s'effectue grâce à un pH mètre ou l'électrode est introduite dans un bécher contenant la solution à examiner, et grâce à sa grande sensibilité, elle indique la valeur de pH sur un écran afficheur.

Ce test a pour but d'évaluer le caractère acide du produit.

- ***La turbidité***

La mesure de la turbidité s'effectue au moyen d'un turbidimètre, qui a pour but de déterminer la nature du trouble (un nuage, voile…).

- **Méthodes de dosage de l'acide sorbique (méthode interne)**

Le dosage a été réalisé uniquement sur quelques peu essais et ce par manque de moyens techniques. Les essais sélectionnés sont **: 3, 6, 9, 15, 17, 20, 22** parmi les essais limpides

Le dosage par HPLC a concerné : l'acide sorbique (conservateur).

- **Procédure d'analyse** :

La technique utilisée pour le dosage du conservateur <acide sorbique> et le principe actif cyproheptadine dans le produit fini sirop à base de cyproheptadine 0,04% est une

méthode chromatographique « HPLC ». Les temps de rétention de la cyproheptadine et celui de l'acide sorbique dans la solution à examiner correspondent aux temps de rétention de la cyproheptadine et celui de l'acide sorbique dans les solutions standards.

Référence : Méthode interne

ESSAI	TESTS	NORMES
Acide sorbique	HPLC doté d'un UV	0,072g/100ml à 0,088g/100ml
Cyproheptadine		0,04g/100ml

Conditions opératoires :

- Régime isocratique
- Phase mobile : (Acétonitrile/isopropanol/Acide méthane sulfonique à 3°/$_{\circ\circ}$ (V/V)) : (20V/15V/65V). Mélanger et ajuster le pH à 4,0 ±0,05 avec du tréthylamine. Filtrer la phase mobile sur un filtre membrane à 0,45 µm ensuite dégazer pendant 10 min.
- Colonne :colonne octadécylsilylé C18 (15 cm×4,6mm×5µmètre)(Symmetry ou équivalent).
- Longueur d'onde : 285 nm
- Volume d'injection : 10µm
- Débit : 1,0 ml/min
- Température de la colonne : 25°C
- Température de l'échantillon : 25°C

• Mode opératoire :

Le protocole de dosage du PA et du conservateur est décrit comme suit :

Solutions standards :

- Prise d'essai pour l'étalon d'acide sorbique : 0,080g/100ml dans la phase mobile
- Bien agiter les solutions chacune à part.
- Injecter 10µl de chaque solution et lire à une longueur d'onde de 285 nm.

- **Solution à examiner :**

- Introduire un volume correspondant à 5ml du sirop dans une fiole de 100ml
- Ajouter 50 ml de phase mobile.
- Bien agiter.
- Compléter au volume avec le même solvant.

Formule de calcul de l'acide sorbique

Teneur en acide sorbique(g/100ml)= $S_e/S_{ST} \times P_{ST}$/dilution st × dilution e/v sirop × Pureté

Avec

S_e : surface de l'acide sorbique dans la solution à examiner.

S_{ST} : surface de l'acide sorbique dans la solution standard, en g.

P_{ST} : prise d'essai de l'acide sorbique dans la solution standard, en g.

Dilution $_{ST}$: dilution de la solution standard, en ml.

Dilution e : dilution de la solution à examiner en ml.

V sirop : volume prélevé du produit fini ;en ml.

Pureté : pureté de l'acide sorbique (matière première titré).

Les résultats des dosages des essais réalisés sont portés dans la partie résultats et discussions, ci-après.

IV.4.2. Caractérisation des essais à T_1:

Dans un second temps, nous avons réalisé aussi les tests précédant dans le but de déceler les changements des caractéristiques des essais réalisés qui se posent après une semaine (T_1). Les essais étant conservés dans des flacons en verre, ambré, fermés hermétiquement et dans des conditions ambiantes.

Etant l'objectif du projet est d'étudier l'influence de la formulation, en particulier le taux de l'acide sorbique sur les caractéristiques physiques du sirop, nous avons refait les tests suivants, au bout d'une semaine : Aspect, turbidité et pH.

Remarque : la densité ne change pas au cours du temps.

Les résultats de l'étude de stabilité physique des essais sont portés dans la partie résultats et discussions, ci-après.

IV.4.3. Caractérisation des essais à T_2:

Dans un second temps, nous avons réalisé aussi les tests précédant dans le but de déceler les changements des caractéristiques des essais réalisés qui se posent après deux mois (T_2). Les essais étant conservés dans des flacons en verre, ambré, fermés hermétiquement et dans des conditions ambiantes.

Les résultats de l'étude de stabilité physique des essais sont portés dans la partie résultats et discussions, ci-après.

CHAPITRE V :

RESULTAYS ET DISCUSSION

V. RESULTATS ET DISCUSSION

Au vu du procédé utilisé pour la formulation de sirop et la variation des constituants dans chaque essai, la série d'échantillons réalisée a révélé des résultats différents.

V.1. Résultats obtenus lors de la caractérisation des essais à T_0

V.1.1. Résultats à T_0 de l'aspect des essais de formulation du sirop de cyproheptadine

Les résultats de caractérisation à T0, des essais de formulation du sirop de cyproheptadine à 0,04% relatifs au paramètre aspect sont portés dans le tableau **N° 5 :**

Tableau 05: Résultats relatifs à l'aspect à T_0 des essais de formulation du sirop de cyproheptadine à 0,04%

Exp Name	ac SOR en %	Alcool éthylique en %	saccharose en %	arome en %	Aspect
N1	0,2	1	25	0,1	trouble
N2	0,05	5	25	0,1	limpide
N3	0,05	1	50	0,1	limpide
N4	0,2	5	50	0,1	trouble
N5	0,2	1	25	0,5	trouble
N6	0,05	5	25	0,5	limpide
N7	0,2	5	50	0,5	trouble
N8	0,05	1	25	0,2	limpide
N9	0,05	1	43,75	1	limpide
N10	0,05	5	50	0,4	limpide
N11	0,05	3,5	50	1	limpide
N12	0,2	1	50	0,2	trouble
N13	0,2	5	25	0	limpide
N14	0,15	1	50	0,5	limpide
N15	0,08	5	50	0,1	limpide
N16	0,2	0	37,5	0,3	trouble
N17	0,125	5	37,5	0,3	limpide
N18	0,125	2,5	25	0,3	limpide
N19	0,125	2,5	37,5	0,3	limpide
N20	0,125	2,5	37,5	0,3	limpide
N21	0,125	2,5	37,5	0,3	limpide
N22	0,08	2	50	0,3	limpide

Discussion :

Au vu des résultats obtenus pour les différents échantillons, nous remarquons que le pourcentage de l'acide sorbique joue un rôle important sur l'aspect, la concentration de 0,2% donne toujours des solutions troubles et ce quel que soit le pourcentage de l'alcool

éthylique. De même nous remarquons qu'à la même concentration de l'acide sorbique (0,2%) et avec une baisse du taux du saccharose (25 % au lieu de 50%), et un taux élevé de l'alcool éthylique ; la solution devient limpide.

De ce fait, nous concluons qu'il y'a une relation étroite entre le taux de l'acide sorbique, le taux d'alcool éthylique et le taux de saccharose ce qui confirme les données de la littérature.

V.1.2. Résultats à T_0 de turbidité des essais de formulation du sirop de cyproheptadine

Les résultats de caractérisation à T0, des essais de formulation du sirop de cyproheptadine à 0,04% relatifs au paramètre turbidité sont portés dans le tableau **N° 6** et figure N° 1

Tableau 06 : Résultats de turbidité des différents essais à T_0

Exp No	ac SOR en %	Alcool éthylique en %	saccharose en %	arome en %	Turbidité à t_0 en NTU
1	0,2	1	25	0,1	13,12
2	0,05	5	25	0,1	2,9
3	0,05	1	50	0,1	3,8
4	0,2	5	50	0,1	318
5	0,2	1	25	0,5	25,8
6	0,05	5	25	0,5	12,89
7	0,2	5	50	0,5	163,16
8	0,05	1	25	0,2	4,63
9	0,05	1	43,75	1	2,70
10	0,05	5	50	0,4	3,14
11	0,05	3,5	50	1	5,99
12	0,2	1	50	0,2	57,18
13	0,2	5	25	0	54,98
14	0,15	1	50	0,5	28,23
15	0,08	5	50	0,1	15,40
16	0,2	0	37,5	0,3	12,53
17	0,125	5	37,5	0,3	10,67
18	0,125	2,5	25	0,3	6,18
19	0,125	2,5	37,5	0,3	9,64
20	0,125	2,5	37,5	0,3	5,98
21	0,125	2,5	37,5	0,3	12,68
Essai temoin	0,08	2	50	0,3	5,21

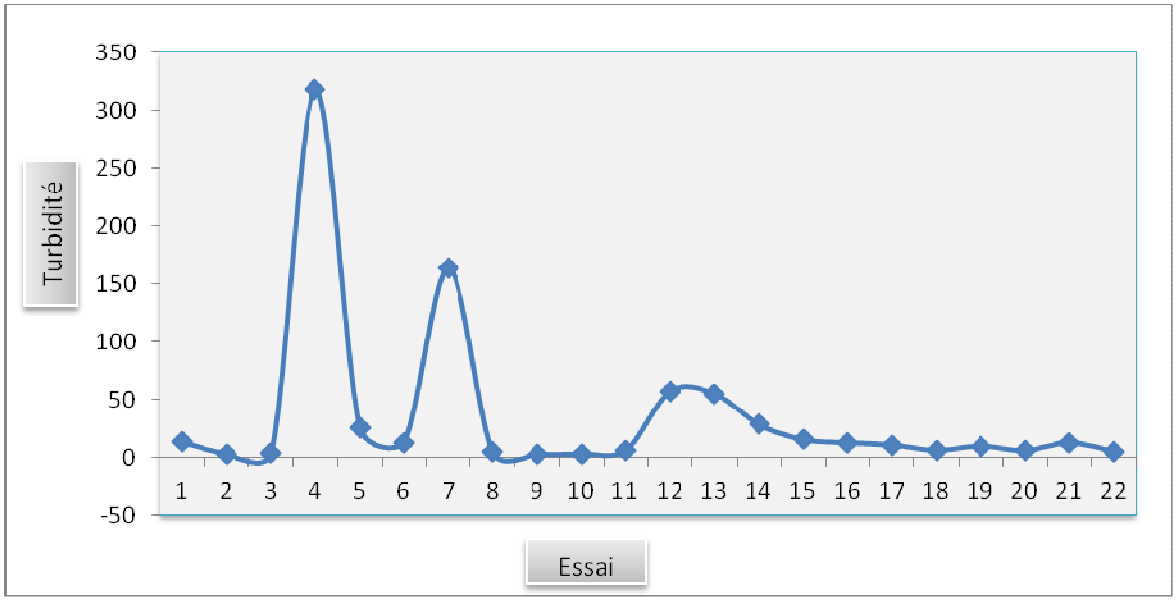


Figure 02 : Turbidité des essais à T_o

Discussion :

Au vu des résultats obtenus pour les différents échantillons, nous remarquons que le pourcentage de l'acide sorbique joue un rôle important sur la turbidité, la concentration de 0,2% donne souvent des valeurs de turbidité élevée (essais 4, 7, 12, 13) et ce quel que soit le pourcentage de l'alcool éthylique. De même, il existe un impact entre le taux du saccharose (25 % - 50%) et la concentration de l'acide sorbique sur les valeurs de la turbidité.

V.1.3. Résultats à T_0 de densité des essais de formulation du sirop de cyproheptadine

Les résultats de caractérisation à T0, des essais de formulation du sirop de cyproheptadine à 0,04% relatifs au paramètre densité sont portés dans le tableau **N° 7**

Tableau 07 : Résultats de densité des différents essais à T_0

Exp No	ac SOR en %	Alcool éthylique en %	saccharose en %	arome en %	Densité
1	0,2	1	25	0,1	1,094
2	0,05	5	25	0,1	1,089
3	0,05	1	50	0,1	1,184
4	0,2	5	50	0,1	1,181
5	0,2	1	25	0,5	1,092
6	0,05	5	25	0,5	1,086
7	0,2	5	50	0,5	1,180
8	0,05	1	25	0,2	1,090
9	0,05	1	43,75	1	1,160
10	0,05	5	50	0,4	1,161
11	0,05	3,5	50	1	1,173
12	0,2	1	50	0,2	1,178
13	0,2	5	25	0	1,083
14	0,15	1	50	0,5	1,11
15	0,08	5	50	0,1	1,174
16	0,2	0	37,5	0,3	1,133
17	0,125	5	37,5	0,3	1,131
18	0,125	2,5	25	0,3	1,093
19	0,125	2,5	37,5	0,3	1,135
20	0,125	2,5	37,5	0,3	1,109
21	0,125	2,5	37,5	0,3	1,135
Essai temoin	0,08	2	50	0,3	1,176

Discussion

Nous remarquons que la densité recherchée (1.16-1.20) est liée à la concentration de 50 % en saccharose dans le sirop et indépendant des autres constituants. De ce fait, toute baisse du taux de saccharose accompagne une baisse de densité.

V.1.4. Résultats à T_0 du pH des essais de formulation du sirop de cyproheptadine

Les résultats de caractérisation à T0, des essais de formulation du sirop de cyproheptadine à 0,04% relatifs au paramètre pH sont portés dans le tableau **N° 8**

Tableau 08 : Résultats pH des différents essais à T_0

Exp No	ac SOR en %	Alcool éthylique en %	saccharose en %	arome en %	pH à t_0
1	0,2	1	25	0,1	3,254
2	0,05	5	25	0,1	3,586
3	0,05	1	50	0,1	3,498
4	0,2	5	50	0,1	3,721
5	0,2	1	25	0,5	3,270
6	0,05	5	25	0,5	3,598
7	0,2	5	50	0,5	3,305
8	0,05	1	25	0,2	3,721
9	0,05	1	43,75	1	3,470
10	0,05	5	50	0,4	3,601
11	0,05	3,5	50	1	3,738
12	0,2	1	50	0,2	3,342
13	0,2	5	25	0	3,324
14	0,15	1	50	0,5	3,329
15	0,08	5	50	0,1	3,543
16	0,2	0	37,5	0,3	3,320
17	0,125	5	37,5	0,3	3,419
18	0,125	2,5	25	0,3	3,349
19	0,125	2,5	37,5	0,3	3,423
20	0,125	2,5	37,5	0,3	3,505
21	0,125	2,5	37,5	0,3	3,339
Essai temoin	0,08	2	50	0,3	3,488

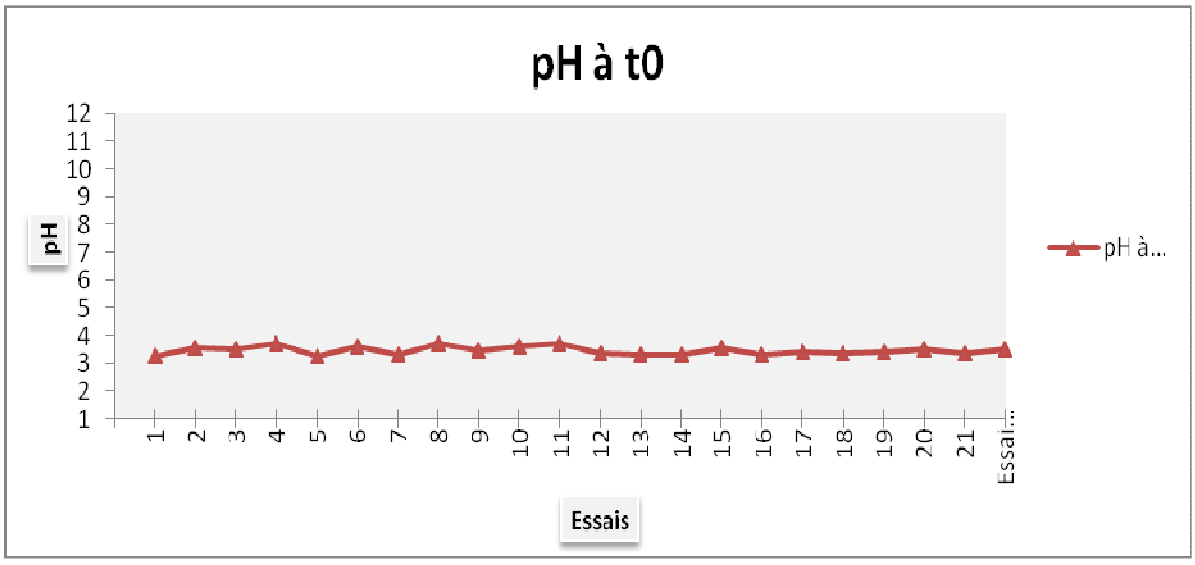


Figure 03: pH des différents essais à T_0

Discussion

Le paramètre de pH est indépendant de la formulation, car il découle de l'ajustement effectué par le manipulateur. De ce fait, nous concluons que l'ajustement a été bien fait et que toutes solutions sont conformes sur plan pH.

V.1.5. Résultats à T_0 dosage de l'ac sorbique dans les essais de formulation du sirop

Les résultats de caractérisation à T0, des essais de formulation du sirop de cyproheptadine à 0,04% relatifs au paramètre dosage de l'Ac sorbique sont portés dans le **tableau N°9** et Figure N°3

Tableau 09: Résultats de dosage de l'acide sorbique des essais sélectionnés

Essai N°	SSC ac sorbique	taux Acide sorbique mg/ 1ml	taux Acide sorbique mg/ ml
Etalon acide sorbique	1210378	/	/
3	380053	0.502392476	0,5
6	248556	0.328566448	0,5
9	356323	0.471023763	0,5
15	673487	0.890283201	0,8
17	728403	0.962876721	1,25
20	609878	0.806198394	1,25
Essai témoin	683033	0.902902069	0,8

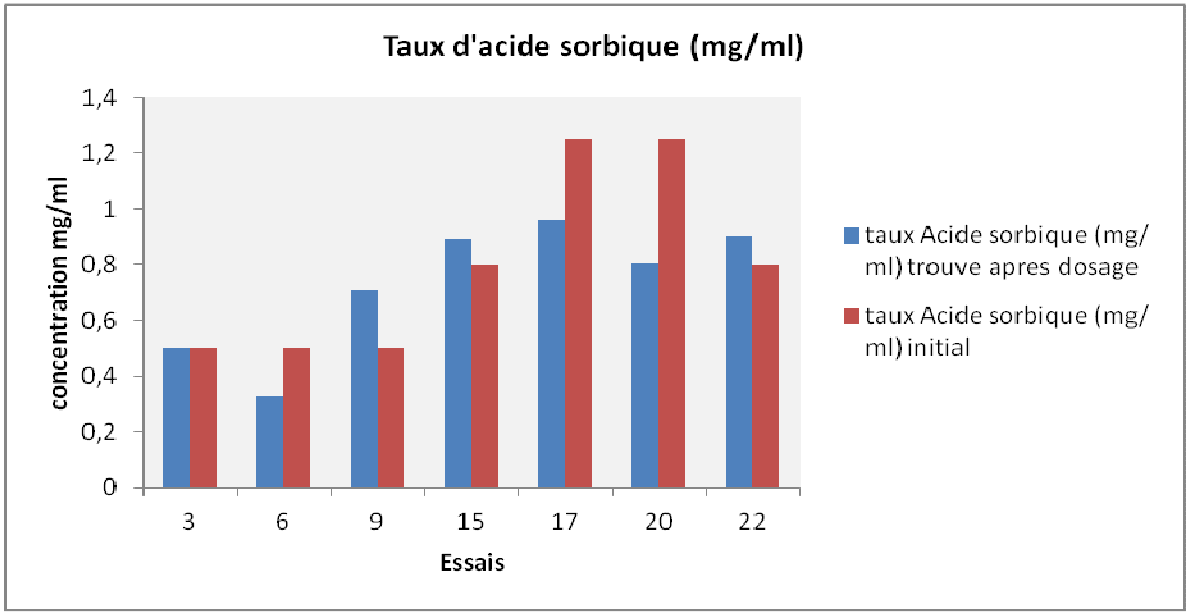


Figure 4: Résultats de dosage de l'acide sorbique dans les essais sélectionnés

Discussion

Les taux de l'acide sorbique dans les essais 3, 9, 15 et 22 sont conformes. Tandis que pour les essais 6, 17 et 20 ne sont pas conformes car les taux trouvés en acide sorbique sont inférieures aux taux initiaux introduits. On assiste alors à une déperdition de l'acide sorbique qui est dû peut être à sa dégradation ou à sa précipitation. Les moyens et le temps qui nous ont été dispensés ne nous permettaient pas d'étudier l'origine de cette perte en acide sorbique.

La bibliographie est riche en articles à propos de la dégradation de l'acide sorbique. Quelques données relatées sont illustrées ci-dessous :

- L'acide sorbique est facilement oxydé par les molécules d'oxygène, une réaction qui peut être accélérée par l'addition des radicaux initiateurs [6].
- Dans un autre contexte l'acide sorbique possède un système de doubles liaisons conjuguées qui le rend susceptible de subir des réactions d'additions, ces mêmes réactions aboutissent à des dérivées cycliques. L'étude des différents paramètres (température, absence ou présence de lumière, auto-oxydation en présence de l'oxygène …) sur la cinétique de la réaction a démontré que seul l'oxygène présente un effet significatif sur l'accélération de cinétique de dégradation de l'acide sorbique. [7]
- L'acide sorbique se décompose en formant acroleincrotonaldhyde et des manoldhyde, alors que dans les formes sèches il est hautement stable. [8]
    - De ce fait, les préparations à base d'acide sorbique doivent être conditionnées hermétiquement.

V.2. Exploitation statistique des réponses par le MODDE 6.0

Il s'agit d'un outil informatique qui permet de déterminer de manière automatique et rapide, l'optimum d'un certain processus, permettant d'obtenir des produits respectant un certain nombre de critères de qualité. Pour cela nous avons utilisé logiciel MODDE 6.0. Après calcul des différents coefficients d'effet, on obtient ainsi, la figure N° 4

➢ Évaluation de la qualité du modèle mathématique

Dans la présente étude, l'analyse de régression a été basée sur l'évaluation de deux paramètres : R^2et Q^2.

La qualité du modèle mathématique obtenu peut être évaluée par des tests statistiques qui sont donnés directement par le programme MODDE 6.0. Ces tests statistiques sont représentés dans la Figure N°4 :

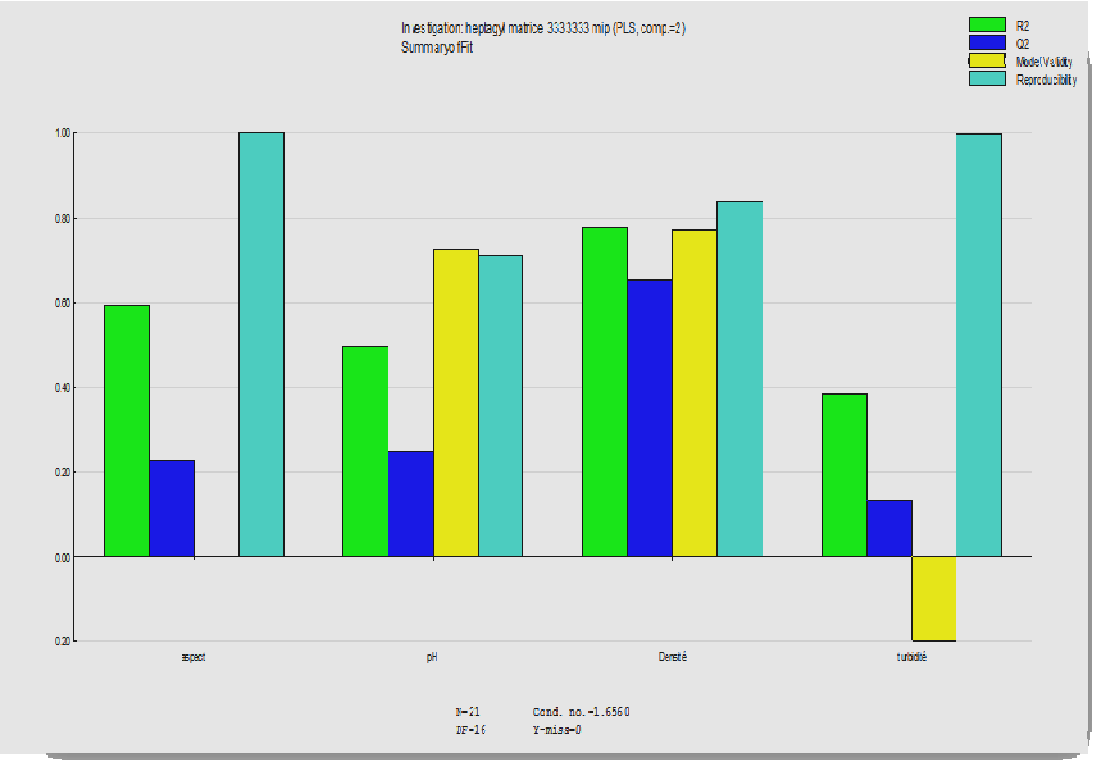


Figure 05: Représentation des coefficients d'ajustement du modèle.

Discussion :

A partir des résultats obtenus, nous concluons que les tests statistiques des réponses (densité, turbidité, aspect et pH) se caractérisent par:

- Reproductibles entre 70 à 100 %. Donc les points centres sont reproductibles et la reproductibilité est parfaite pour les réponses turbidité et aspect.
- la validité du model choisi est supérieure à 0,25 pour le pH et la densité. Ceci signifie que l'erreur modèle est dans la même gamme que l'erreur pure. Quant à la

turbidité la validité modèle est moins de 0.25 ce qui signifie qu'il n'y a un manque significatif d'ajustement et l'erreur modèle est sensiblement plus grande que l'erreur pure (reproductibilité). L'aspect n'est pas inclus car c'est un paramètre qualitatif;

- Facteur de corrélation (R^2) entre les réponses prédites par rapport aux réponses mesurées n'est que pour la densité (d en g/L). Pour le reste des réponses, on ne peut pas prédire les réponses pour des valeurs des facteurs en dehors du modèle.
- Rapport Q^2 : A partir des Q2 des différentes réponses, nous constatons que le modèle choisi est moyennement ajusté pour l'aspect et pH , très mauvais modèle pour la turbidité mais il est bien ajusté aux données expérimentales pour le paramètre densité;
- De ce fait, nous concluons que le modèle mathématique est bien ajusté pour la densité, relativement ajusté pour le Ph et aspect mais mauvais pour la turbidité.

  Pour mieux comprendre l'interactions entre les facteurs-facteurs, facteurs – réponses et réponses-réponses les plus significatifs, le logiciel MODDE 6.0 nous a permis de relater la résultante des interactions.

5.3. Étude des interactions facteurs-réponses

Afin d'étudier l'impact de l'acide sorbique sur les propriétés physico-chimique des essais réalisés, nous avons exploité le logiciel Modde 6.0 qui nous a présenté toutes les interactions significatives d'ordre statistique. La figure ci-dessous, illustre les coefficients des effets et interaction des facteurs.

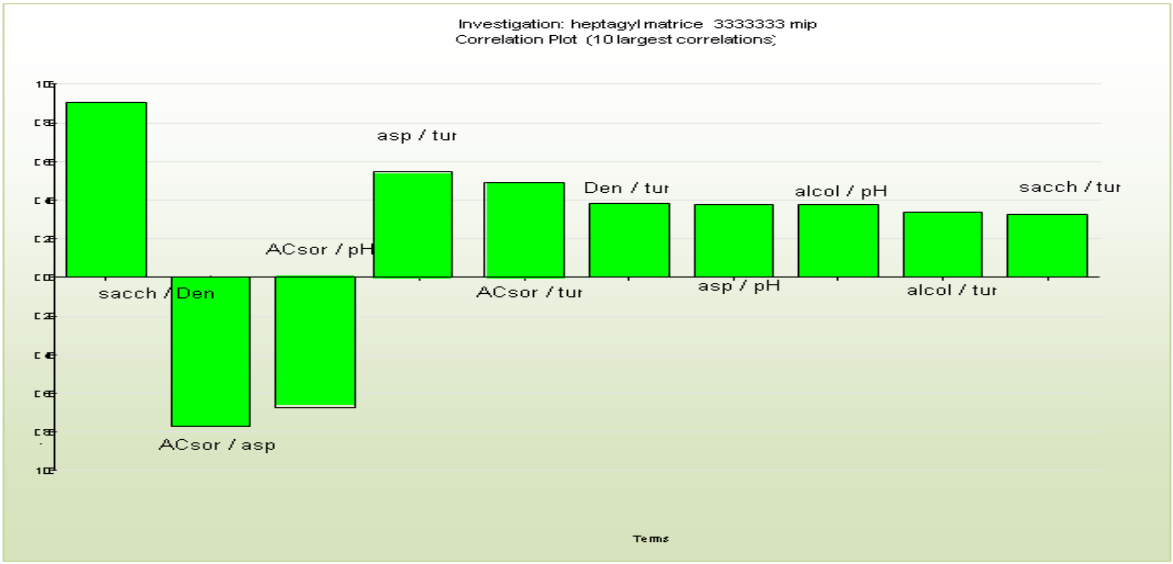


Figure 06: Valeurs des coefficients d'effets et des interactions des facteurs

Discussion

A partir de la figure N°5 relative à l'expression des valeurs des coefficients d'effets et des interactions des facteurs, nous constatons que :

- Le taux de saccharose a un effet positif sur la densité. La densité augmente avec l'augmentation du saccharose. Cette interaction est vraie dans 90% des essais.
- Le taux d'acide sorbique a un effet négatif sur l'aspect. Plus le taux en acide sorbique est élevé et plus l'aspect devient trouble. cette interaction est valable pour 70% des essais. De même 50 % des essais révèle que la turbidité augmente avec augmentation du taux de l'acide sorbique. Ce qui confirme, dans environ 60 %, l'existence d'une relation entre la turbidité élevée et l'aspect trouble des solutions.
- Par ailleurs, sur plan technique, les interactions acide sorbique-pH, aspect-pH et alcool-p sont négligeables car le pH est une réponse indépendante de la formulation. Elle dépend du manipulateur qui fait l'ajustement du pH à la fin de chaque préparation.
- Enfin l'interaction type turbidité-densité semble vraie dans 40% des essais dont la densité augmente avec augmentation de la turbidité. Techniquement parlant, cette interaction à négliger car l'acide sorbique en suspension (turbidité élevée) n'est pas un agent viscosifiant.

V.4. Résultats de stabilité physico-chimiques des essais à T_1 et T_2

V.4.1. Résultats de stabilité de la turbidité des essais à T_0 ,T1 et T2

Les résultats de caractérisation physique (pour le paramètre Turbidité) après une semaine (T_1) puis 2 mois (T_2) à compter de la préparation des essais de formulation du sirop de cyproheptadine à 0,04% sont portés dans le tableau **N°10 :**

Tableau 10: Résultats de turbidité des essais en fonction du temps T_0, T_1 et T_2

Exp No	Turbidité à t_0 NTU	Turbidité à t_1 NTU	Turbidité à t2 NTU
1	13,12	14,76	20,32
2	2,9	3,2	5,9
3	3,8	3,9	4,8
4	318	208	410
5	25,8	27,8	30,1
6	12,89	15,2	14,2
7	163,16	152,36	170,3
8	4,63	7,16	5,1
9	2,7	2,18	3,2
10	3,14	4,12	5,6
11	5,99	8,8	6,2
12	57,18	97,9	20,2
13	54,98	66,3	65,8
14	28,23	59,7	36,23
15	15,4	26,37	18,33
16	12,53	31,17	18,22
17	10,67	16,94	13,11
18	6,18	6,88	6,96
19	9,64	14,09	11,02
20	5,58	6,22	9,13
21	12,68	25,88	12,68
Essai témoin N°22	5,21	5,84	7,56

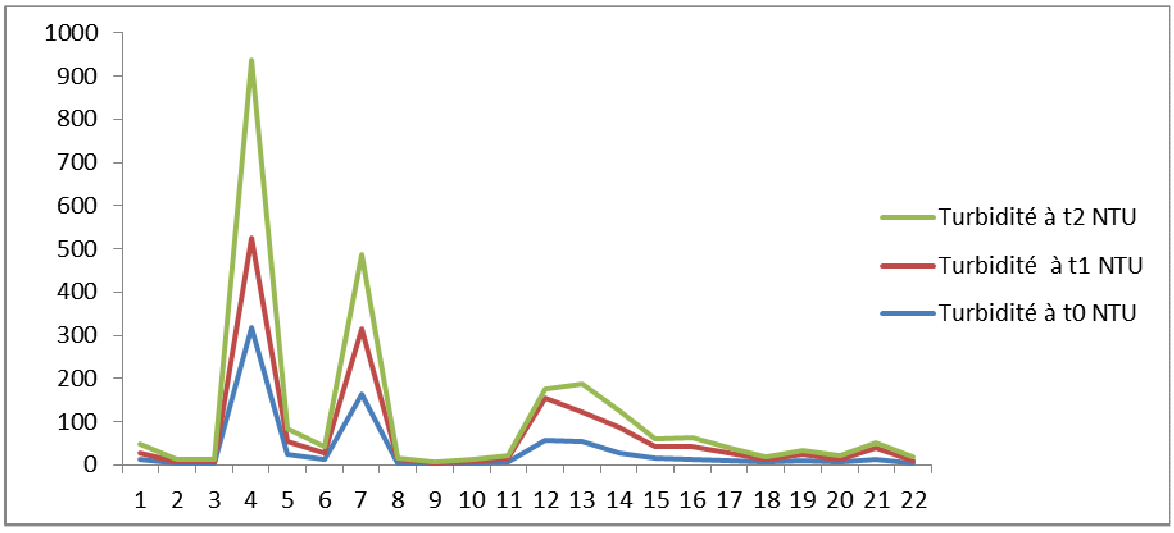


Figure 07 : les résultats de turbidité des différents essais en fonction du temps (T_0,T_1 T_2)

Discussion

Au vu des résultats obtenus après une semaine puis 2 mois de la préparation des essais, nous remarquons qu'on n'a pas vraiment de changement de turbidité par rapport à T0. Les essais qui présentent les taux de turbidité les plus élevés (essai 4, 7, 12, 13 et 14) ont

connu une légère augmentation, contrairement aux autres essais dont la turbidité est restée quasi-constante. De ce fait, nous constatons que tous les essais sont stables physiquement dans l'intervalle de temps étudié (2 mois). Il est judicieux d'étudier cette stabilité durant plusieurs mois.

V.4.2. Résultats de pH à T_0, T_1 et T_2 des essais de formulation du sirop de cyproheptadine

Les résultats de caractérisation à T1, des essais de formulation du sirop de cyproheptadine à 0,04% relatifs au paramètre pH sont portés dans le tableau **N°11**

Tableau 11 : Résultats de variation de pH des différents essais en T_0, T_1 et T_2

Exp No	Ph à t_0	Ph à t_1	pH à t_2
1	3,254	2,92	3,364
2	3,586	3,331	3,701
3	3,498	3,36	3,598
4	3,721	3,078	3,75
5	3,27	2,94	3,29
6	3,598	3,245	3,6
7	3,305	3,1	3,32
8	3,721	3,63	3,71
9	3,47	3,442	3,475
10	3,601	3,51	3,61
11	3,738	3,69	3,754
12	3,342	3,171	3,348
13	3,324	3,051	3,326
14	3,329	3,208	3,333
15	3,543	3,427	3,55
16	3,32	3,157	3,345
17	3,419	3,178	3,504
18	3,349	3,281	3,36
19	3,423	3,216	3,46
20	3.51	3.22	3.51
21	3.34	3.35	3.35
Essai temoin	3.49	3.47	3.50

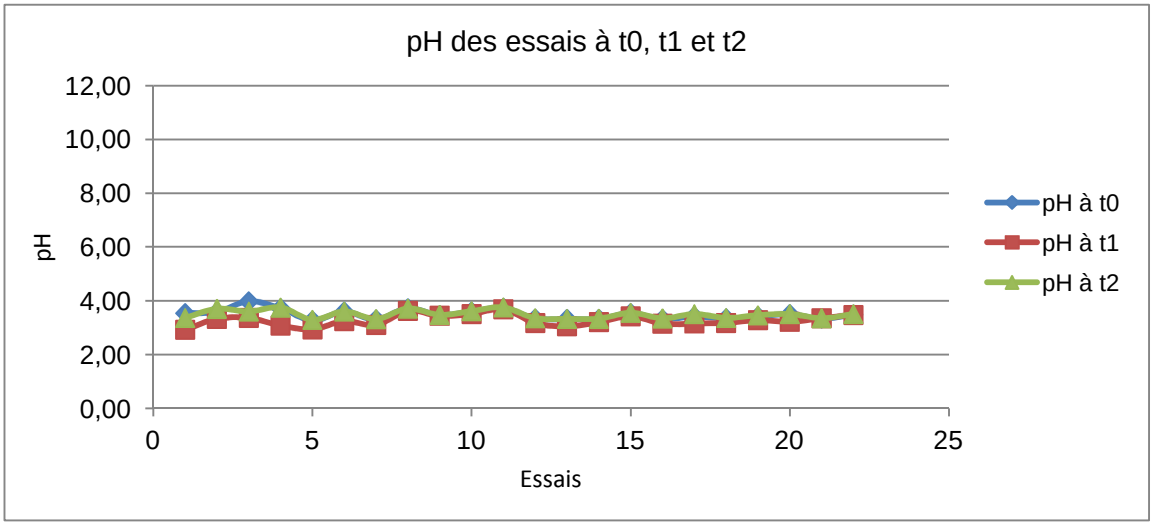


Figure 08 : Résultats du pH des essais à T0, T_1 et T_2

Discussion

Au vu des résultats obtenus après une semaine puis 2 mois de la préparation des essais, nous remarquons qu'on n'a pas vraiment de changement de pH par rapport à T0. De ce fait, nous constatons que tous les essais sont stables chimiquement sur le plan acido-basique dans l'intervalle de temps étudié (2 mois). Il est judicieux d'étudier cette stabilité durant plusieurs mois.

CONCLUSION

Les produits médicamenteux ont une tendance naturelle au vieillissement et à la dégradation ou à l'agrégation. Pour certaines formes pharmaceutiques de part leur conception (solutions, émulsions, suspensions, collyres), les processus d'instabilité physique, chimique ou microbiologique sont cependant plus rapides que pour d'autres formes telles que les formes sèches. Il est à noter que, de nombreux facteurs peuvent intervenir dans ce processus de déstabilisation, les plus influents sont la température, l'humidité, la lumière et l'oxygène atmosphérique.

La stabilité des médicaments est donc un caractère primordial à examiner avec attention lors de la mise au point d'une forme pharmaceutique. En effet, il faut s'assurer que le produit médicamenteux conserve toutes ses spécifications de départ durant la durée prévue à son utilisation.

Parmi les critères de stabilité d'un produit pharmaceutique, il faut noter l'absence de signe organoleptique d'altération tels que, couleur, goût et limpidité. Cette altération est souvent due à la dégradation, ou agrégation, ou incompatibilité de certains composants du produit, individuellement ou en interaction avec d'autres.

Ainsi, comme nous l'avons souligné en introduction, l'objectif de cette étude était de déterminer la cause de l'instabilité physique du sirop à base de cyproheptadine (apparition d'un trouble ou voile au cours de la conservation). L'acide sorbique étant le premier suspect d'après la littérature

Pour tenter de répondre à cette problématique, notre travail a porté sur la recherche d'une éventuelle incompatibilité entre l'acide sorbique et un des composants du sirop.

Nous avons donc procédé à la réalisation de plusieurs échantillons de sirop, sous planification expérimentale en exploitant le logiciel MODDE 6.0. Pour cela, nous avons procédé à une étude de formulation en faisant varier la concentration de l'acide sorbique, de l'éthanol, du saccharose et de l'arôme. Les échantillons réalisés ont été soumis au dosage du conservateur " acide sorbique" par une méthode chromatographique, l'HPLC.

Pour se faire, nous avons suivi deux paramètres pendant 2 mois dans les conditions de conservation ambiantes

L'acide sorbique joue un rôle important sur la turbidité, la concentration de 0,2% donne souvent des valeurs de turbidité élevée (essais 4, 7, 12, 13) et ce quel que soit le

pourcentage de l'alcool éthylique. De même, il existe un impact entre le taux du saccharose (25 % - 50%) et la concentration de l'acide sorbique sur les valeurs de la turbidité.

Les taux de l'acide sorbique dans les essais 3, 9, 15 et 22 sont conformes. Tandis que pour les essais 6, 17 et 20 ne sont pas conformes car les taux trouvés en acide sorbique sont inférieures aux taux initiaux introduits. On assiste alors à une déperdition de l'acide sorbique qui est dû peut être à sa dégradation ou à sa précipitation. Les moyens et le temps qui nous ont été dispensés ne nous permettaient pas d'étudier l'origine de cette perte en acide sorbique. De ce fait, les préparations à base d'acide sorbique doivent être conditionnées hermétiquement.

Les résultats de turbidité et de pH obtenus après une semaine puis 2 mois de la préparation des essais ne présent pas vraiment un changement par rapport à T0; les essais qui présentent les taux de turbidité les plus élevés (essai 4, 7, 12, 13 et 14) ont connu une légère augmentation, contrairement aux autres essais dont la turbidité est restée quasi-constante. De ce fait, nous constatons que tous les essais sont stables chimiquement sur le plan acido-basique et stable physiquement dans l'intervalle de temps étudié (2 mois). Il est judicieux d'étudier cette stabilité durant plusieurs mois.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] Hir.A : pharmacie galénique, bonnes pratiques de fabrication des médicaments, édition MASSON, 1998.

[2] Rowe, Paul J Sheskey and Siân C Owen: Handbook of pharmaceutical excipients, 6th edition.

[3] P. Wehrlé : pharmacie galénique, formulation et technologie pharmaceutique, Maloine Paris 2007, p135, 136.

[4] Pharmacopée européenne, 6éme édition.

[5]Pharmacie galénique, 9éme édition, 2011, p36-117.

[6]DULOG et ALL: Acid catalysis in autoxydation of sorbic acid,Macromol, 1981.

[7]C. FERRAND, F. M. FRITSCH: Interactions sorbic acid and srbates with food amines, role of light, oxygen, temperature and the presence of glycerol and emulsifiant. Science des aliments, vol. 18, n°6, 1998, p603-616.

[8]J.AGRIC : Stability of sorbic acid inaqueous solutions.Food.chim, 1980, p2246-2249.

[9] Chafik Lahrache* &, Abdelkader El Jabri, Etudiant en quatrième année de pharmacie, Rabat, Pharmacien d'officine, Taourirt : Mode d'emploi des médicaments (Guide pratique).

[10] Dr. Farshid Sadeghipour, Dr. Farshid Sadeghipour, Ecole de Pharmacie Genève, Lausanne, Liquides oraux : solutions, sirops solutions, sirops et suspensions et suspensions.

[11] Jacques GOUPY, ©Revue MODULAD Tutoriel N° 34 : LES PLANS D'EXPERIENCES, 2006.

[12] http://www.techniques-ingenieur.fr/fiche-pratique/genie-industriel-th6/piloter-et-animer-la-qualite-dt34/comp.

[13] Santa Cruz Biotechnology, Inc : FICHE DE DONNÉES DE SÉCURITÉ, Version 1.2, 2016.

[14] ANSM, ARÔMES, Pharmacopée française 1995.

[15] CAPP-INFO, Bulletin d'information du CAPP(Contact Avis Pharmacologique et Pharmaceutique), N°42 : Conservation Des Medicaments Liquides , Et Semi-Solides Multidoses, 2006.

[16] Lncpp, cecomed : Etude de stabilité des médicaments, 2010.

[17]Philippe TRIBOULET , Lycée Niepce – Chalon sur Saône : NOTIONS DE BASES SUR LES PLANS D'EXPERIENCES.

[18] https://qualite.ooreka.fr/comprendre/controle-qualite.

[19]http://www.ut-capitole.fr/universite/presentation/demarche-qualite/definition-du-contole-qualite-322622.

[20].http://www.ut-capitole.fr/universite/presentation/demarche-qualite/definition-du-contole-qualite-322622.

[21] http://www.lachimie.fr/analytique/chromatographie/HPLC/HPLC.

[22] http://www.inrap.rnrt.tn/cat.php/TDmzofd_gllksx.

[23]http://www.memoireonline.com/09/08/1539/m_utilisation-cendres-volantes-prevention-desordres-alcali-rea.

[24] http://www.doctissimo.fr/medicament-PERIACTINE.htm.

[25] http://www.doctissimo.fr/principe-actif-5278-CYPROHEPTADINE.htm.

[26]http://prepenpharma.skyrock.com/3074571777-galenique-chapitre-4-complet.html.

[27]http://www.sigmaplus.fr/logiciels/plans-d-experiences/modde.

[28]http://www.aromes-et-liquides.fr/aromes-inawera/10-arome-cerise.html.

Résumé

En industrie pharmaceutique, un médicament ne peut être commercialisé que si au préalable il a obtenu une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) octroyée sur la base d'un dossier comportant des données attestant de la sécurité, de l'efficacité et de la qualité de ce médicament.

L'étude de stabilité est une des garanties de la qualité du médicament et de la sécurité de son emploi, c'est donc une étape clef pour l'obtention de l'AMM et constitue une rubrique particulière pour son dossier. Le taux des conservateurs utilisés dans un produit pharmaceutique est un des paramètres de sa stabilité, ce taux doit être stable pendant la durée d'utilisation du produit.

L'objectif de notre travail est de rechercher l'impact du conservateur "acide sorbique" sur les propriétés physico-chimiques du produit cyproheptadine en sirop et de déterminer une éventuelle incompatibilité avec les autres constituants du sirop.

Mots clés : stabilité, conservateur, acide sorbique, sirop, incompatibilité

Summary

In pharmaceutical industry, we can't put a medication on the market without a Marketing Authorization (MA), granted on the basis of a file containing data approving the safety, the efficacy and the quality of the medication.

Stability study is one of the guarantees of quality of the medication and its safe use; it is therefore a key step to get the MA and constitutes a specific section for its file. The rate of preservatives used in pharmaceutical products is one of parameters of its stability, this rate should be stable throughout the duration of use of the product.

The aim of this memory is to researching the impact of preservative "sorbic acid" on the physicochemical properties of the product cyproheptadine in syrup and to determine a possible incompatibility between sorbic acid and another component of the syrup.

Keywords: stability, preservative, sorbic acid, sirup, incompatibility.