

N° d'ordre :

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

UNIVERSITE MOULOU MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



Présenté pour obtenir le Grade de

MASTER

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Par

Melle HAMMAD Sara

et

Melle GUETAL Kahina

Thème

**VALIDATION ANALYTIQUE DE LA METHODE
D'IDENTIFICATION DE LA
METFORMINE DC PAR SPECTROSCOPIE RAMAN**

Organisme d'accueil: Novo Nordisk Aldaph Production Pharmaceutique

Soutenu publiquement le 03/10/2013, devant le jury composé de :

Mr SAHMOUNE Amer	Professeur (UMMTO)	Président
Mme MAZARI Tassadit	MCB (UMMTO)	Examinatrice
Mr BELAISSA Yahia	MAA (UMMTO)	Examineur
Mme FERNANE Farida	MCA (UMMTO)	Encadreur
Melle TASSIGABOUAMZA Noura	LCQ (NNAPP)	Co-Encadreur

Remerciements

On remercie Dieu, le Tout Puissant, le Miséricordieux, qui nous a donné l'opportunité de mener à bien ce travail.

Ce modeste travail s'est déroulé au sein du laboratoire de Novo Nordisk Aldaph Production Pharmaceutique (NNAPP) sous la direction de Madame **FERNANE Farida** maître de conférences au département de chimie de la faculté des sciences de l'UMMTO et co-direction de **TASSIGABOUAMZA Noura** responsable physico-chimie à NNAPP.

Tout d'abord de grands remerciements à notre Co-promotrice Mademoiselle **TASSIGABOUAMZA Noura** pour avoir accepté de diriger ce travail, pour sa confiance, son aide et ses précieux conseils, et pour le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer.

Nos vifs remerciements s'adressent également à notre promotrice Madame **FERNANE Farida** pour sa bonté, sa disponibilité, ses conseils et orientations grâce auxquelles on a pu trouver les ressources nécessaires pour mener à terme ce travail, pour sa qualité pédagogique et surtout de nous avoir ouvert l'œil sur le monde pharmaceutique.

Qu'elles puissent trouver dans ce travail le témoignage de notre sincère gratitude et de notre profond respect.

Nos sincères remerciements et nos reconnaissances sont adressés aux responsables de NNAPP qui ont accepté la conduite de ce travail au sein de leur usine.

On souhaite remercier **TOUDEFT Nassima, Djouhra, Kamila, Nawal** et tous les autres techniciens de l'assurance qualité, et également **Salima** pour sa gentillesse.

Nos remerciements les plus chaleureux vont à toute l'équipe du laboratoire contrôle qualité pour leur souplesse ainsi que pour leur disponibilité permanente qui nous a profondément touchés.

Merci Monsieur **AZEM Idir** pour votre gentillesse et votre disponibilité. Merci **Takfarinnas** pour l'intérêt que tu as donné à notre travail, merci **Fetta** d'avoir été là pour nous aider. Merci **Lilia, Hakima, Ouahiba, Toufik, Mahdi, Brahim, Moh Omkrane, Moh**

Ouremdane, Mouloud, Sedik et également **Salim** de nous avoir donné la chance d'assister et de toucher à l'équipement TruScan pendant son travail.

On tient à remercier tous particulièrement Mademoiselle **HASDANE Nassima** pour sa bonté, modestie, et ses conseils, On la remercie profondément d'avoir été toujours disponible pour répondre à nos questions, de nous avoir assisté pendant notre travail et accordé de son temps si précieux.

On remercie toute personne travaillant à NNAPP; employés des autres départements production, magasin, poste de garde d'avoir été si agréables avec nous.

On adresse nos remerciements aux différents membres du jury qui ont accepté d'évaluer notre travail. On remercie vivement Mr SAHMOUNE Amar pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury. On remercie également Mme MAZARI Tassadit et Mr BELAISSA Yahia d'avoir accepté d'examiner notre travail.

On réserve une pensée spéciale à tous nos enseignants, surtout ceux de département de chimie qui ont su nous donner une formation didactique et appréciable durant tout notre cursus.

On ne saurait oublier de remercier Madame **TOUZOUIRT Saida** pour son aide et ses précieux conseils, ses orientations et surtout pour sa bonté.

Enfin, on voudrait remercier tous particulièrement nos familles auprès de qui on a trouvé un soutien sans commune mesure, et également un grand merci à tous nos amis et camarades de la promotion chimie pharmaceutique.

Je dédie ce travail ...

A Ma très chère mère Malika

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites, pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Pour ton affection, bonté, tendresse et tes encouragements. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon père Abderazek

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 tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mes frères Aziz et Abdelmadjid

Avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mes très chères sœurs Zineb et Asma

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

A Rachid

Pour ton soutien moral, ta compréhension, ta gentillesse sans égal, tes conseils et tes encouragements.

A Fadhila et toute sa famille

A Sara

Ma chère amie qui a partagé avec moi les moments agréables de ce travail, merci de m'avoir accordé ta confiance, écouté et supporté toutes ces années.

A mes amies Naima et Rachida

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

A mes amies

Rabea, Lyliia, Lydia, Ratiba, Kahina, Lamis, Nawal, Katia

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

GUETAL KAHINA

A mes précieux parents (Slimane et Nadia)

Maman, tu m'as mise au monde, et depuis tu n'as pas cessé de me chérir, de m'encourager, de t'occuper de moi, de mettre à ma portée ce qu'il y'a de meilleur ; tu n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse.

Papa, tu m'as toujours aimée, soutenue, conseillée .tu as toujours été présent dans ma vie et particulièrement dans les moments les plus pénibles tel un pilier fort et réconfortant.

Alors aucune dédicace n'est assez forte, aucun mot n'est assez éloquent pour exprimer ce que je ressens. Mais à travers ce travail, couronnement de vos efforts conjugués, je voudrais vous dire mon estime et mon respect inégale, ma gratitude infinie et surtout mon immense amour filial.

Puisse dieu vous accorder longue vie, santé, bonheur et sérénité

A mes très chères sœurs (Tassadit et Roumaissa)

Qui m'ont toujours encouragé et soutenu dans les moments les plus durs, je dis un immense merci pour vous exprimer tout le respect et l'amour que j'ai pour vous et pour vous témoigner de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

A Mon beau-frère Omar ainsi que toute sa famille

Qui a toujours répondu présent et a été d'un grand secours moral en toutes situations, Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

A ma meilleure amie Kahina ainsi que toute sa famille

Qui a toujours été présente à mes côtés pour m'écouter, Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, et de réussite.

A Mes très chères ami(e)s (Abderzak, Zineb, Naima, Zhira, Lydia, Lila et Souhila)

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

A Toute la promo de master 2 chimie pharmaceutique et Tous ceux qui m'ont aimé.

A votre bénédiction la plus sainte

Je présente mon travail

HAMMAD SARA

ADC: Article De Conditionnement.

Alu : Aluminium.

AMM : Autorisation de Mise Sur le Marché.

C.V. Raman: Chandrashekhara Venkata Raman.

c: Vitesse de la lumière.

CCD : Charge Coupled Devices.

DC : Direct Compressable.

Dkk : Couronne Danoise.

EP : European pharmacopeia.

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance.

ICH: International Conference on Harmonization.

IR: Infrarouge.

Laser: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation.

LDC : liquid Display crystals..

Nd-YAG: Neodymium-Doped Yttrium-Aluminum-Garnet.

NIR: Porche infra-rouge.

NNAPP: Novo Nordisk Aldaph Production Pharmaceutique.

PELD: Poly Ethylene Low Density.

p-value : valeur de p.

PVC : Polychlorure de Vinyle.

T: Temperature.

USP: United State Pharmacopeia.

UV/Visible : Ultra-Violet/ Visible.

SOMMAIRE

Introduction	1
---------------------------	----------

Partie bibliographique

Chapitre I : Présentation du site et du produit

1	Présentation du site NNAPP.....	3
1.1	Structure du site NNAPP.....	3
1.1.1	Service qualité	3
1.1.1.1	Département assurance qualité	3
1.1.1.2	Laboratoire contrôle qualité	3
1.1.2	Service technique	4
1.1.1.3	Département de Production	4
1.1.1.4	Département de maintenance	4
1.1.3	Logistique	4
2	Présentation de la Metformine Direct Compressable (DC).....	5
2.1	Metformine HCl	5
2.2	Metformine DC.....	5

Chapitre II : Spectroscopie Raman

1	Bref historique	7
2	Effet Raman.....	7
3	Principe et appareillage	8
3.1	Source d'excitation (laser)	9
3.2	Compartiment échantillon	9
3.3	Optique de collection.....	9
3.4	Dispositif de filtrage	9
3.5	Détecteur	10
3.6	Electronique	10
4	Domaines d'applications de la spectroscopie Raman	10

SOMMAIRE

5 Avantages et Inconvénients de la spectroscopie Raman	11
--	----

Chapitre III : Validation analytique

1.1 Résultats des tests de robustesse pour les	15
1.2 Exactitude	16
1.3 Précision	16
1.3.1 Répétabilité.....	16
1.3.2 Précision intermédiaire	16
1.3.3 Reproductibilité	16
1.4 Limite de détection	16
1.5 Limite de quantification (limite de dosage).....	17
1.6 Linéarité	17
1.7 Intervalle de mesure (rang).....	17
1.8 Robustesse	17
2 Validation d'une méthode d'analyse par spectroscopie Raman.....	17

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériels et méthodes

1 Matériels	18
1.1 Représentation schématique des différents compartiments de TruScan	18
1.1.1 Montage des accessoires de TruScan	19
1.2 Micromètre	20
1.3 Matières premières et réactifs.....	21
1.4 Verreries et autres.....	21
2 Protocole de validation de la méthode d'identification de la Metformine DC par Spectroscopie Raman	21
2.1 Autotest.....	21

SOMMAIRE

2.2	Spécificité	21
2.3	Robustesse	22
2.3.1	Conditions et recommandations de la méthode du fabricant.....	22
2.3.2	Paramètres pratiques de la méthode	23
2.3.3	Conditions d'USP et d'EP.....	24

Chapitre V : Résultats et discussion

1	Autotest.....	26
2	Spécificité	26
2.1.	Résultats pour la Metformine DC.....	26
2.2.	Résultats pour la dicyandiamid, Mélamine, opadry et paraffine	27
3	Robustesse	28
3.1.	Conditions et recommandations de la méthode du fabricant	28
3.2.	Paramètres pratiques de la méthode.....	30
3.3.	Conditions d'USP et d'EP.....	32
	Conclusion	34
	Annexes	36
	Annexes 1. Lasers utilisés dans des applications pharmaceutiques	36
	Annexes 2. Résultat de l'autotest	37
	Annexes 3. Résultats des tests de spécificité pour la Metformine DC	37
	Annexes 4. Résultats des tests de spécificité pour la dicyandiamid, mélamine, opadry et paraffine.....	41
	Annexes 5. Résultats des tests de robustesse pour les conditions et recommandations de la méthode du fabricant	45
	Annexes 6. Résultats des tests de robustesse pour les paramètres pratiques de la méthode ...	47

SOMMAIRE

Annexes 7. Résultats des tests de robustesse pour les recommandations d'USP et d'EP	52
Annexes 8. Généralité sur le spectromètre TruScan.....	55
Annexes 9. Terminologie	61

Références bibliographiques

Liste des figures

Liste des tableaux

La Metformine DC est la matière première utilisée au niveau du site Novo Nordisk Aldaph Production Pharmaceutique (NNAPP) pour la fabrication de l'antidiabétique orale Metformine, sous le nom commerciale Novoformine[®]. Elle est fournie par le norvégien "Weifa" sous forme de granules composés d'un mélange du principe actif et d'excipients. Après une compression directe, la Metformine DC est transformée en comprimés de différents dosages (500, 850 ou 1000 mg) au niveau du service production de NNAPP. Des contrôles de routine sont indispensables pour assurer la qualité de la Metformine DC avant son utilisation dans la production, tels que l'identification du principe actif qui peut se réaliser par l'une des techniques d'analyses suivantes : chromatographie liquide à haute performance (HPLC), spectroscopie proche infrarouge (NIR) ou spectrométrie Raman.

Depuis quelques années, la spectrométrie Raman est devenue une méthode incontournable permettant l'analyse rapide dans plusieurs domaines notamment le domaine pharmaceutique. Plusieurs raisons font de cette technique un outil analytique puissant et efficace : il s'agit d'une technique sans contact et non destructive, ne nécessitant qu'une quantité minimale d'échantillon et pas ou peu de préparation de ce dernier (préparations chimiques). Les informations obtenues par spectroscopie Raman incluent l'identification chimique et la caractérisation de la composition moléculaire. Ces caractéristiques sont très utiles pour le contrôle qualité des médicaments, car la technique permet la détection de différences infimes pouvant provenir de la composition, de l'origine de l'échantillon ou de la méthode de synthèse. Contrairement à la spectroscopie infrarouge, la spectroscopie Raman est moins sensible aux liaisons polaires ; ainsi l'analyse d'échantillons aqueux est possible. Les analyses à travers des flacons en verre ou des sacs plastiques sont envisageables grâce au couplage avec un microscope confocal permettant ainsi d'éviter la contamination des échantillons. Actuellement, pour les techniques de spectrométrie l'accès à une base de données spectrale permet une identification rapide de l'échantillon analysé.

Au niveau du laboratoire contrôle qualité de NNAPP, l'identification de la Metformine DC se faisait par la technique de spectroscopie proche infrarouge (NIR), mais cette technique est remplacée par la spectroscopie Raman et cela dans le but de pouvoir analyser plusieurs lots de Metformine DC en un temps réduit.

L'objectif principal de notre travail est d'étudier la validation analytique de la méthode d'identification de la Metformine DC par spectroscopie Raman, et cela, en se référant aux conditions et recommandations des ICH, des pharmacopées et de la méthode du fabricant du spectromètre "TruScan" utilisé tout au long de ce travail.

Dans l'étude de spécificité, nous avons analysé des produits de structures différentes afin de démontrer que la méthode employée ne permet d'identifier que la Metformine DC. Pour la robustesse, nous avons évalué les facteurs susceptibles d'affecter les résultats d'identification de la Metformine DC.

Ce manuscrit s'organise autour de cinq chapitres. En l'occurrence, le chapitre I présente les différents départements de NNAPP et la Metformine DC. Dans le chapitre II nous présenterons une synthèse bibliographique sur la spectroscopie Raman. Le chapitre III définit en générale les procédures de validation analytique. Le chapitre IV est consacré à notre travail pratique dans lequel nous avons décrit le protocole expérimental et le matériel principal utilisé. Enfin, nous rassemblerons dans le chapitre V l'ensemble des résultats et interprétations.

1 Présentation du site NNAPP

Novo Nordisk Aldaph Production Pharmaceutique (NNAPP) est une usine née dans le cadre des relations de coopération Algéro-Danoises que les deux pays tentent de renforcer sur plusieurs plans, en investissant un capital de 50 million DKK (6.7 million d'euro). C'est la première usine que réalise Novo Nordisk en Afrique. Située à environ 7 Km au Sud-Est du chef-lieu de la wilaya de Tizi Ouzou, NNAPP est implantée dans la zone industrielle Aïssat Idir à oued Aïssi, elle occupe une superficie de 2900 m². L'usine est conçue selon les exigences de bonnes pratiques de fabrication et les standards propres à Novo Nordisk pour la production des antidiabétiques oraux Metformine comprimés à différents dosages 500mg, 850mg et 1000mg destinés au traitement du diabète de type II, appelé "diabète non insulino dépendant". L'usine est officiellement ouverte en mai 2006 avec un effectif initial de 30 employés et une capacité de production d'environ deux millions de boîtes par année. Le premier lot a été commercialisé en 2008. Actuellement, l'effectif a dépassé les 100 employés afin d'atteindre une capacité de production annuelle de plus de 10 millions de boîtes [1].

1.1 Structure du site NNAPP

L'usine est construite de manière à séparer le service qualité du service technique et de logistique:

1.1.1 Service qualité

Ce service veille à ce que le médicament Metformine fabriqué soit adapté à l'emploi, répond aux exigences du dossier d'autorisation de mise sur le marché (AMM) et n'expose le patient à aucun risque lié à des carences en matière de sécurité, de qualité ou d'efficacité. Il comporte deux départements distincts :

1.1.1.1 Département assurance qualité

Ce département gère le travail des différents départements du site NNAPP et garantit que les médicaments sont conçus et développés en tenant compte des exigences des bonnes pratiques de fabrication et de laboratoire.

1.1.1.2 Laboratoire contrôle qualité

Ce laboratoire s'occupe du contrôle :

- De la matière première utilisée en production ;
- Des articles de conditionnement (ADC) ;
- De l'eau purifiée et de l'eau brute, et des produits finis.

Le laboratoire est constitué de plusieurs salles de travail des quelles nous citons:

- Salle de pesée ;
- Salle de contrôles physicochimiques (HPLC, dosage UV/visible...)

- Salle de chimie, où se préparent les différentes solutions nécessaires aux contrôles ;
- Salle de contrôles microbiologiques ;
- Magasin réactifs ;
- Un échantillothèque où sont rangés des échantillons de produit finis libérés sur le marché ;
- Un bureau de contrôle qualité ;
- Une laverie.

1.1.2 Service technique

Composé de :

1.1.2.1 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 [2].

Le département est conçu d'une façon à répondre aux exigences de la production de Metformine qui passe par trois processus :

- **La compression** : C'est l'opération qui permet la mise en forme des granules en comprimés.
- **Le pelliculage**: C'est l'opération qui permet d'ajouter une couche supplémentaire aux comprimés nus en utilisant des agents de pelliculage. La paraffine est utilisée pour donner un aspect lisse aux comprimés et l'opadry permet de masquer leur goût amer.
- **Le conditionnement** : Primaire (mise des comprimés pelliculés sous blisters : Alu /PVC), et secondaire (la mise en étuis des blisters et des notices) [3].

1.1.2.2 Département de maintenance

Ce département s'occupe de la maintenance de tous les équipements des différents départements de l'usine.

1.1.3 Logistique

C'est le département chargé des approvisionnements en matières premières et ADC ainsi que l'expédition des produits finis, il est constitué d'un magasin qui grâce à sa grande surface permet un stockage ordonné des différentes catégories de produit :

- Matière première (granulat, excipient, article de conditionnement),
- Produit intermédiaire (vrac ou fini),
- Produits en quarantaine, libérés, refusés, retournés ou rappelés.

Le magasin respecte les normes d'hygiène : propre, sec, maintenu dans des limites acceptables de température et d'humidité (inférieure à 60%) [2].

2 Présentation de la Metformine Direct Compressable (DC)

2.1 Metformine HCl

La Metformine HCl est une molécule qui fait partie de la classe des biguanides utilisés comme médicament dans le traitement du diabète de type 2 appelé aussi diabète non insulino-dépendant. Cette molécule réduit l'hyperglycémie en diminuant la production de glucose par le foie et en améliorant la sensibilité des tissus à l'insuline. Elle constitue le principe actif des comprimés Metformine (500, 850 et 1000mg) fabriqués au niveau du site NNAPP.

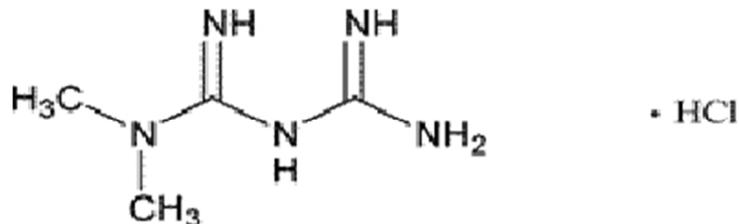


Figure 1 : Structure de la Metformine HCl[4]

L'ensemble des propriétés physicochimiques de la Metformine HCl sont regroupées dans le tableau 1 :

Tableau 1- Propriétés physicochimiques du chlorhydrate de Metformine [4].

Metformine HCl	Propriétés physicochimiques /organoleptiques
Nomenclature	Chlorhydrate de 1,1-diméthylbiguanide
Formule brute	C ₄ H ₁₁ N ₅ HCl
Aspect	Cristaux blancs ou sensiblement blancs
Masse molaire (g/mole)	165,62
Point de fusion (°C)	222-226
Teneur(%)	98,5-101(substance desséchée)
Solubilité	Facilement soluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool, pratiquement insoluble dans l'acétone et dans le chlorure de méthylène

2.2 Metformine DC

La Metformine DC est la matière première nécessaire à la production des comprimés Metformine à 500, 850 et 1000 mg au niveau du site NNAPP, elle est sous forme de granules

blanchâtres à jaunâtres avec absence de grumeaux durs, et possédant un écoulement libre[5,7].1g de granules est composé de 925,9 mg du principe actif (Metformine HCl) et les excipients listés dans le tableau 2 :

Tableau 2 - Composition qualitative de la Metformine DC en principe actif et en excipients[6].

Composition	Dénomination
Principe actif	Chlorhydrate de Metformine
Excipients	Providone
	Polyéthylène glycol 6000
	Sorbitol 100%
	Stéarate de magnésium

1 Bref historique

La spectrométrie Raman est une branche de la spectroscopie vibrationnelle analysant les mouvements des atomes au travers un couplage tensoriel entre une lumière monochromatique et la variation de polarisabilité des liaisons chimiques, en d'autres termes la déformation du nuage électronique lors du mouvement des atomes. Elle permet à ce titre l'observation et la caractérisation de la composition moléculaire et de la structure externe d'un matériau à l'état liquide, solide ou gazeux [4,8].

La technique de spectrométrie Raman a été prédite sur des bases théoriques par Brillouin en 1922 et Smekal en 1923 et le premier spectre Raman a été observé le 28 février 1928 par C.V. Raman et Krishnan pour les liquides avec un dispositif expérimental qui comprenait une source de lumière (un faisceau de lumière solaire filtré), un échantillon (un grand volume de liquide pur) et un détecteur (l'œil humain). Quelques mois plus tard cet effet a été observé en France dans des solides par Rocard et Cabanes. Raman en fut récompensé par le prix Nobel de Physique en 1930 [8,9].

Cette technique ne commença à se développer qu'avec l'essor des lasers dans les années 1970, la disponibilité des détecteurs CCD à haute sensibilité dans les années 1990 et la convergence de nombreux progrès en optique, microélectronique et informatique. Le développement de spectromètres à hautes performances a permis l'accès à un vaste champ d'applications, a offert la possibilité d'analyser rapidement une large gamme d'échantillons et une capacité de collecter un grand nombre de spectres avec une haute résolution en une seule mesure [10].

2 Effet Raman

Lorsqu'une molécule est irradiée par une lumière monochromatique, la majeure partie de cette lumière est absorbée, réfléchiée ou traverse la molécule. Une petite fraction, environ 0,1% de cette lumière, est élastiquement dispersée à la même fréquence que la lumière incidente, c'est la "diffusion Rayleigh" où l'énergie de la molécule reste pratiquement constante (cf. figure 2a) [11].

Une proportion encore plus petite de la lumière incidente, peut-être 1 photon dans 10^6 ou 10^7 , est dispersée de façon non élastique qui peut amener la molécule à passer à un niveau d'énergie supérieur et le photon diffusé perd de l'énergie "diffusion Stokes" (cf. figure 2b). Si la molécule est déjà dans un état excité elle peut redescendre à l'état fondamental et le photon diffusé gagne de l'énergie "diffusion anti-Stokes" (cf. figure 2c). Ce processus d'échange d'énergie entre les molécules diffusantes et la lumière incidente est appelé **effet ou diffusion Raman** [12,13].

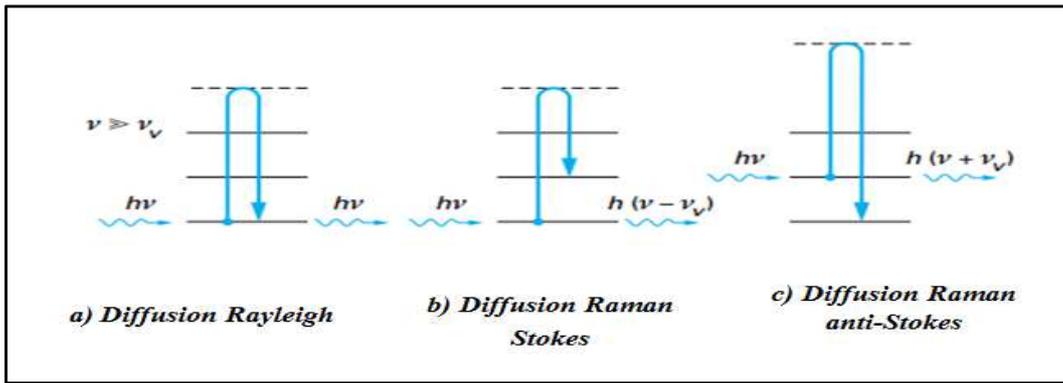


Figure 2 : Interaction entre un photon et la matière caractérisée par des niveaux d'énergie vibrationnelle [10]

3 Principe et appareillage

Toutes les techniques de la spectroscopie Raman consistent 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. Les spectromètres Raman contiennent les dispositifs communs suivants pour remplir leurs fonctions (cf. figure 3) [14]:

- Source d'excitation (laser) ;
- Compartiment échantillon ;
- Optique de collection ;
- Dispositif de filtrage/ rejet de la lumière diffusée à la longueur d'onde du laser ;
- Détecteur ;
- Electronique.

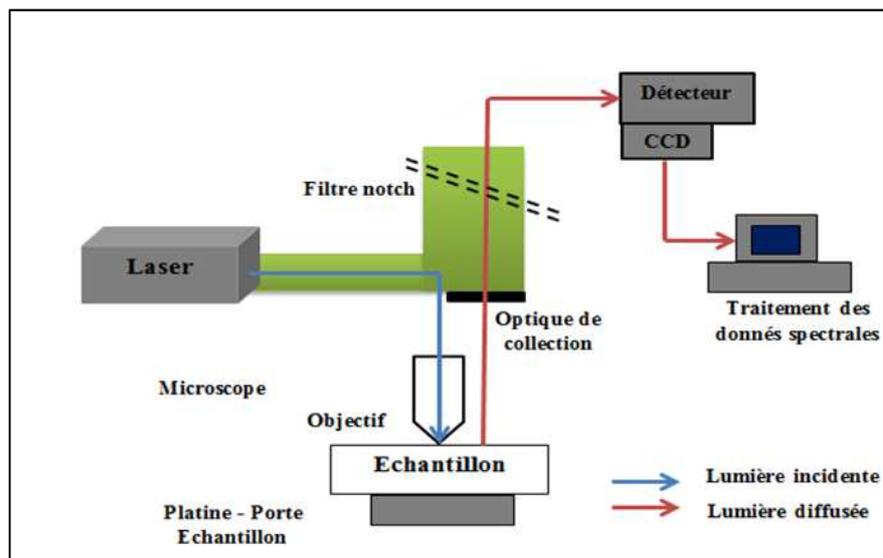


Figure 3 : Dispositif d'un spectromètre Raman

3.1 Source d'excitation (laser)

Le choix de la source laser dépend de la nature de l'échantillon à analyser et le but de l'analyse. Dans le domaine du visible, les sources les plus fréquemment utilisées sont les lasers à gaz (argon ionisé, krypton ionisé, hélium-néon) en raison principalement du grand nombre de longueurs d'onde accessibles avec une seule source.

Dans le domaine du proche infrarouge, principalement pour des raisons de coût réduit et de fiabilité, c'est presque exclusivement le laser Nd-YAG émettant à 1064 nm qui est employé. Cependant il existe des diodes lasers qui émettent de 785 nm à 830 nm avec des puissances suffisantes pour exciter convenablement le spectre de diffusion Raman [10].

Le tableau 3 identifie plusieurs lasers communs utilisés en spectrométrie Raman pour des applications pharmaceutiques. (cf. Annexe1).

3.2 Compartiment échantillon

Le compartiment échantillon est choisi selon le type d'analyse à effectuer, macroanalyse ou microanalyse, qui se diffèrent principalement au niveau de la platine porte-échantillon.

Dans le cas d'une macroanalyse, la platine porte-échantillon est un dispositif équipé d'optiques généralement de faible ouverture numérique pouvant accueillir des objets relativement volumineux. Pour une microanalyse, la platine porte-échantillon est un véritable microscope optique muni d'objectifs à fort grandissement et d'ouverture numérique très élevée, permettant l'observation et l'analyse d'échantillon microscopiques [10].

Des considérations telles que la vitesse de la mesure, la sécurité du laser, et la reproductibilité de la présentation d'échantillon devraient être évaluées pour optimiser le dispositif de prélèvement pour n'importe quelle application donnée [14].

3.3 Optique de collection

C'est un système permettant de collecter la lumière diffusée par l'échantillon [10].

3.4 Dispositif de filtrage

L'intensité de la lumière diffusée à la longueur d'onde du laser (Rayleigh) est beaucoup plus intense que le signal Raman et doit être rejetée avant le détecteur par un filtre holographique "notch" (signifiant réponse en créneau) fournissant un excellent rejet. L'utilisation traditionnelle des monochromateurs à plusieurs étages à cette fin, bien qu'encore viable, est maintenant rare. En outre, divers filtres ou entraves physiques peuvent être exigés selon la géométrie de collection de l'instrument, pour protéger l'échantillon de rayonnement provenant des sources extérieures [14].

3.5 Détecteur

L'analyse du spectre Raman peut être effectuée par deux méthodes :

- Détection photoélectrique monocanal

Le spectromètre Raman laser monocanal contient un dispositif mécanique de balayage du spectre qui assure l'analyse successive des différents éléments spectraux [15].

Le photomultiplicateur, qui est un détecteur le plus souvent utilisé dans un appareil de spectrométrie Raman est toujours refroidi (à T -40°C) au moyen d'un refroidisseur thermoélectrique pour diminuer les émissions thermoélectriques [15].

De plus, ce photomultiplicateur doit être bien blindé avec du métal pour l'isoler des champs magnétiques extérieurs [15].

- Détection de photons multicanale

En détection photoélectrique monocanale, il y a risque important de perte d'informations. Pour cela, un spectromètre multicanal permettant d'analyser simultanément un grand nombre d'éléments spectraux est utilisé [15].

En fait, le spectromètre n'a plus de système de balayage mécanique, mais il fonctionne comme un spectrographe couplé à un détecteur photoélectrique multicanal comportant un grand nombre de canaux de détection, ce qui permet d'avoir des mesures et des analyses plus précises [15].

Les détecteurs multicanaux à barrettes photodiodes, sont parfaitement conçus pour la détection simultanée des raies spectrales. Cependant, à l'essor des détecteurs CCD (charge coupled devices) à base de silicium présentant à basse température un niveau de bruit de lecture beaucoup plus faible que les barrettes de photodiodes, ont pris le pas et équipent aujourd'hui la plus grande majorité des instruments[15].

3.6 Electronique

Un ordinateur équipé d'un logiciel d'acquisition et de traitement des données spectrales et d'un logiciel de reconnaissance spectrale [10].

4 Domaines d'applications de la spectroscopie Raman

La spectroscopie Raman est une technique appliquée dans de nombreux domaines notamment [10]:

- En industries :

Afin de mener des recherches fondamentales et d'effectuer des contrôles qualitatifs (exemples: industrie pétrolière, agroalimentaire, pharmaceutique, pigments pour peinture, électronique...);

- Matériaux (Céramiques, Polymères, Microélectronique) ;

- Catalyse ;
- Environnement ;
- Biologie et médecine ;
- Objets et œuvres d'art ;
- Géologie et gemmologie ;
- Criminologie.

5 Avantages et Inconvénients de la spectroscopie Raman

➤ **Avantage**

- Méthode non-destructive et non intrusive applicable à des systèmes réels [12];
- Facile à mettre en œuvre [12];
- Utilisable quel que soit l'état physique du matériau : solide amorphe ou cristallisé, liquide ou gazeux. De plus, elle ne requiert qu'une faible quantité d'échantillons (1µg) [12];
 - Elle peut être couplée avec d'autres méthodes analytiques et offre la possibilité de mesures in situ [12];
 - Elle est utilisable sur des échantillons de très petite taille (jusqu'à 1µm³) [12];
 - Elle permet de travailler en milieu hostile, notamment à haute température, en présence de phénomènes radioactifs ou sous atmosphère contrôlée [12];
 - Elle est sensible aux petites structures (identification des systèmes amorphes, analyses des films très fins pour lesquels les méthodes de diffraction sont parfois difficiles à réaliser) [12];
 - L'effet Raman est indépendant de la longueur d'onde excitatrice utilisée, ce qui permet de supprimer certains phénomènes indésirables (fluorescence, décomposition des substances colorées...) en choisissant une longueur d'onde adéquate [12];
 - la présence d'eau n'est pas gênante car l'eau diffuse très peu en Raman (l'eau peut ainsi être utilisée comme solvant) [12].
 - Les spectres Raman peuvent être enregistrés à partir de solides, de liquides et de gaz, directement ou dans des récipients ou des tubes de verre, généralement sans préparations ou dilution préalable de l'échantillon [4].

➤ **Inconvénients**

- Faiblesse du signal Raman : l'augmentation du signal Raman est possible par augmentation de la puissance laser mais entraîne souvent une dégradation de l'échantillon par échauffement ou photo décomposition [14];

- Fluorescence : elle peut être beaucoup plus intense que l'effet Raman au point de l'occulter totalement [14];
- Sensibilité moins bonne qu'en infrarouge [14].

Afin d'améliorer l'efficacité et la sécurité du médicament après sa mise sur le marché, les agences réglementaires exigent que le médicament soit testé sur son identité, son dosage, sa qualité, sa pureté et sa stabilité avant libération. Les fabricants de médicaments sont donc dans l'obligation de démontrer qu'ils contrôlent les aspects critiques de leurs opérations spécifiques. Pour cette raison, la validation pharmaceutique et les contrôles de procédé sont importants. Mais la validation n'est pas seulement un exercice réglementaire, elle représente également un des principaux outils de l'assurance qualité, permettant de construire la qualité du produit et d'en conserver les standards, depuis sa conception jusqu'à la fin de sa commercialisation. C'est aussi une démarche de progrès qui, par une meilleure connaissance et une meilleure maîtrise des procédés, permet une diminution des coûts de production et de contrôle [16].

1 Définition de la validation

Etablissement de la preuve, en conformité avec les principes de bonnes pratiques de fabrication. Que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédures, matériel, matière première, article de conditionnement ou produit, activité ou système permet réellement d'atteindre les résultats escomptés [17].

2 Validation des procédures analytiques

2.1 Procédure analytique

Le procédé analytique dans le domaine pharmaceutique se rapporte à la manière d'exécuter l'analyse. Il devrait décrire en détail les étapes nécessaires pour réaliser chaque essai analytique. Il faut décrire notamment, mais non exclusivement, la préparation de l'échantillon, de l'étalon de référence et des réactifs, l'utilisation des appareils, l'application des formules de calcul, etc. [18].

2.2 Types de procédures analytiques à valider

La validation analytique dans l'industrie pharmaceutique est orientée vers les quatre types les plus communs de procédures analytiques [18] :

- Tests d'identification;
- Tests quantitatifs pour la teneur en impuretés ;
- Tests limites pour le contrôle des impuretés ;
- Tests quantitatifs du principe actif dans des échantillons de substance médicamenteuse ou produit pharmaceutique ou d'autres composant(s) choisi(s) dans le produit pharmaceutique.

Les tests d'identification sont prévus pour assurer l'identité d'un analyte dans un échantillon. Ceci est normalement réalisé par la comparaison d'une propriété de l'échantillon à celle de la norme de référence [18].

Les tests d'impuretés peuvent être des tests quantitatifs ou des tests limites d'impuretés dans un échantillon. L'un ou l'autre essai est prévu pour refléter exactement les caractéristiques de pureté de l'échantillon [18].

3 Critères de validation

L'objectif d'un procédé analytique devrait être clairement compris puisque ceci régira les caractéristiques de validation qui doivent être évaluées. Les caractéristiques typiques de validation sont énumérées ci-dessous [18] :

- ✓ Exactitude ;
- ✓ Précision (sensibilité);
 - ✚ Répétabilité ;
 - ✚ Précision intermédiaire ;
 - ✚ Reproductibilité ;
- ✓ Spécificité (sélectivité) ;
- ✓ Limite de détection ;
- ✓ Limite de quantification ;
- ✓ Linéarités ;
- ✓ Intervalle de mesure (rang) ;
- ✓ Robustesse.

Les critères de validations illustrés dans le tableau 4, peuvent être requis suivant la nature de l'essai (exemple: dosage quantitatif ou essai limite):

Tableau 4 - Tests de validation recommandés par les ICH [18]

Caractéristique		Type d'analyse			
		identification	Impureté		dosage
			quanti	Essai limite	
Exactitude		-	+	-	+
précision	Répétabilité	-	+	-	+
	Précision intermédiaire	-	+	-	+(1)
Spécificité (2)		+	+	+	+
Limite de détection		-	- (3)	+	-
Limite de quantification		-	+	-	-
Linéarité		-	+	-	+
Rang		-	+	-	+

(-) signifie que le test n'est normalement pas à réaliser.

(+) signifie que le test est à évaluer

(1) dans le cas où la reproductibilité est testée, la précision intermédiaire n'est pas obligatoire.

(2) par défaut la spécificité d'une méthode analytique peut être compensé par d'autres tests.

(3) Le test peut être obligatoire dans certains cas.

L'évaluation de la robustesse devrait être considérée pendant la phase de développement et dépend du type de procédé à valider [18].

3.1 Spécificité

Une méthode est spécifique s'il est possible d'évaluer la concentration de l'analyte sans interférence de la part des autres constituants de l'échantillon (par exemple, impuretés résultant de la fabrication ou de la dégradation du produit, ou constituants autres que l'analyte) [18].

Le manque de spécificité d'un procédé analytique individuel peut être compensé par d'autres procédures analytiques de soutien [18]:

- **Identification** : pour assurer l'identité d'un analyte.
- **Essais de pureté** : Il s'agit de vérifier si les analyses permettent de déterminer avec exactitude la teneur en impuretés de la substance analysée (recherche des substances apparentées, métaux lourds, résidus de solvants, etc.)
- **Dosage** : Pour fournir un résultat exact qui permet un rapport précis sur la teneur en analyte dans un échantillon.

3.2 Exactitude

L'exactitude d'un procédé analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre une valeur de référence acceptée et la valeur obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais. Ceci se nomme parfois justesse [18].

La valeur de référence peut être connue "a priori" parce que l'on utilise un étalon certifié, ou être le résultat d'une méthode de référence reconnue juste [18].

3.3 Précision

Elle représente l'étroitesse de l'accord entre les résultats d'essais indépendants réalisés dans des conditions déterminées. La précision peut être considérée à trois niveaux [18]:

- ✚ Répétabilité ;
- ✚ Précision intermédiaire ;
- ✚ Reproductibilité.

La précision devrait être étudiée en utilisant les échantillons homogènes authentiques. Cependant, s'il n'est pas possible d'obtenir un échantillon homogène elle peut être étudiée en utilisant des échantillons artificiellement préparés ou une solution témoin [18].

La précision d'un procédé analytique est habituellement exprimée comme une variance, écart type ou coefficient de variation d'une série de mesures [18].

3.3.1 Répétabilité

La répétabilité exprime la précision dans les mêmes conditions de fonctionnement pendant un court laps de temps [18].

La répétabilité se nomme également intra-essai de précision ou intra dosage de précision [18].

3.3.2 Précision intermédiaire

La précision intermédiaire correspond aux variations survenant au sein du même laboratoire: différents jours, analystes et équipements, etc. [18].

3.3.3 Reproductibilité

La reproductibilité exprime la précision entre différents laboratoires visant généralement la normalisation de la méthodologie [18].

3.4 Limite de détection

La limite de détection d'un procédé analytique individuel est la plus basse quantité d'analyte dans un échantillon qui peut être détectée mais n'est pas nécessairement dosé comme valeur exacte [18].

3.5 Limite de quantification (limite de dosage)

La limite de quantification d'un procédé analytique individuel est la plus basse quantité d'analyte dans un échantillon qui peut être quantitativement déterminé avec la précision et l'exactitude appropriées[18].

La limite de quantification est un paramètre des analyses quantitatives pour les niveaux bas des composés dans des matrices témoin, et est employée en particulier pour la détermination des impuretés et/ou des produits de dégradation [18].

3.6 Linéarité

La linéarité d'un procédé analytique est sa capacité dans la marge donnée d'obtenir les résultats d'essai qui sont directement proportionnels à la concentration (quantité) de l'analyte dans l'échantillon [18].

3.7 Intervalle de mesure (rang)

L'intervalle de mesure d'un procédé analytique est l'intervalle entre la concentration supérieure et inférieure de l'analyte dans l'échantillon pour lesquels il a été démontré que le procédé analytique a un niveau approprié de précision, d'exactitude et de linéarité [18].

3.8 Robustesse

La robustesse d'un procédé analytique est une mesure de sa capacité de rester inchangée par des petites variations apportées délibérément aux paramètres de la méthode. Elle fournit une indication de la fiabilité de la méthode aux conditions normales d'utilisation[18].

Les procédures analytiques doivent être revalidées dans les circonstances suivantes[18] :

- Changement de la synthèse de la substance médicamenteuse ;
- Changement de la composition du produit fini ;
- Changement du procédé analytique.

4 Validation d'une méthode d'analyse par spectroscopie Raman

La validation d'une méthode d'analyse par spectroscopie Raman comme toutes autres procédures analytiques repose sur l'étude de plusieurs paramètres tels que l'exactitude, la précision, etc. Cependant, la fluorescence qui est une variable spécifique à la spectrométrie Raman affecte plusieurs paramètres de la méthode tels que la précision, limite de détection, limite de quantification... De ce fait, elle doit être réduite au minimum ou bien modifier la méthode de manière à s'adapter aux niveaux plus élevés de fluorescence [14].

Selon les ICH, deux critères sont recommandés pour la validation d'une méthode d'identification par spectrométrie Raman, la spécificité et la robustesse (cf. chapitre IV).

Ce présent chapitre a pour objectif l'étude de la validation analytique de la méthode d'identification de La matière première " Metformine DC " par spectroscopie Raman, qui est le pré-mélange employé pour la fabrication des comprimés de Metformine 500, 850 et 1000 mg au niveau du site NNAPP.

1 Matériels

Le matériel principal utilisé dans notre travail consiste en un spectromètre Raman « TruScan » avec ses accessoires (Nose cone et Vial holder). En ce qui suit, nous donnerons un aperçu général sur les différentes parties du TruScan.

1.1 Représentation schématique des différents compartiments de TruScan

Le spectromètre Raman TruScan scan le matériel inconnu et compare les données obtenues avec les signatures de références stockées pour le même matériel (Cf. annexe 9, chapitre 1.1.1) [19].

Avant d'employer cet équipement, il faut se familiariser avec l'unité, ses commandes et accessoires, décrits dans les figures 4 et 5 :

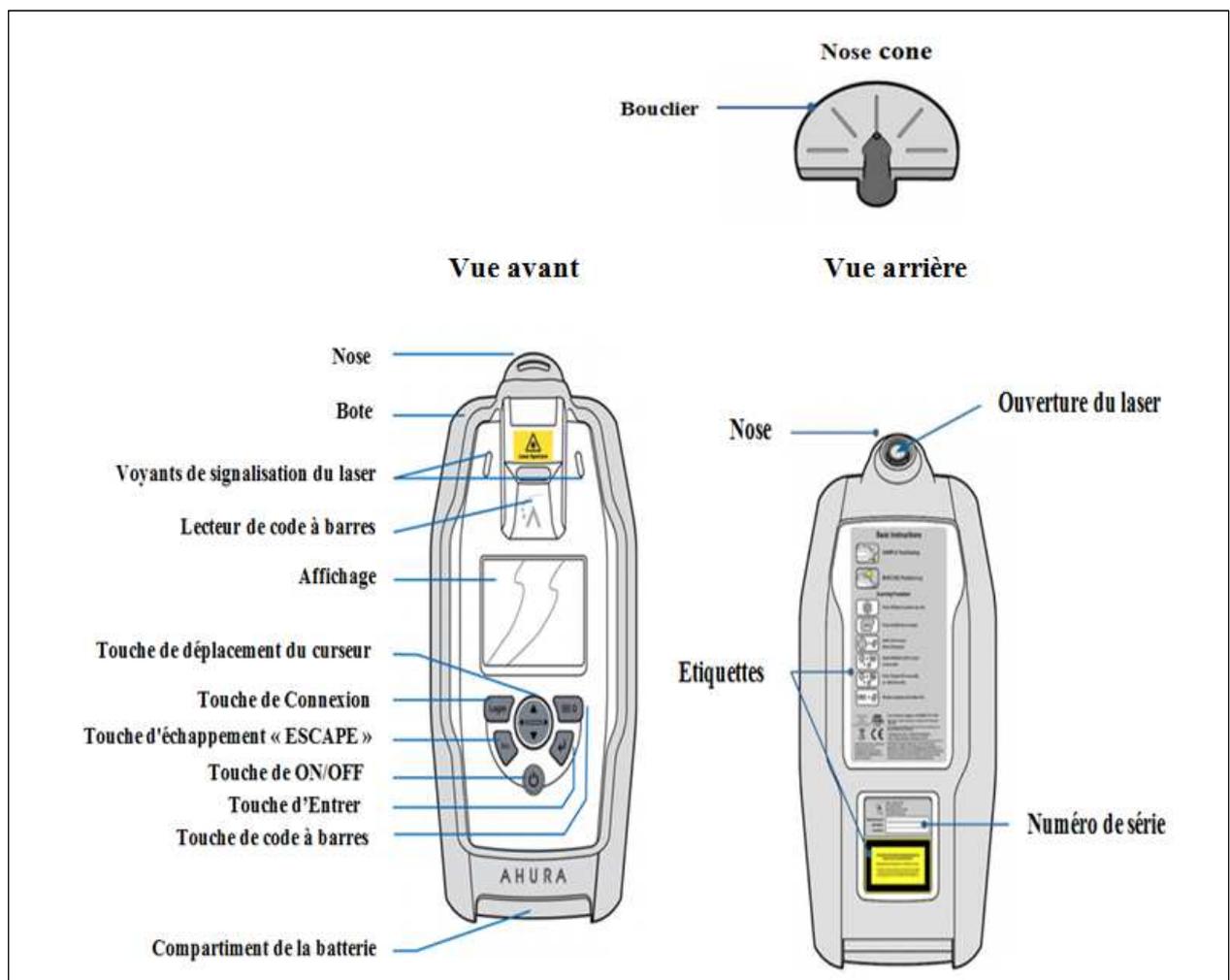


Figure 4 : Vue avant et arrière de l'équipement TruScan [19].

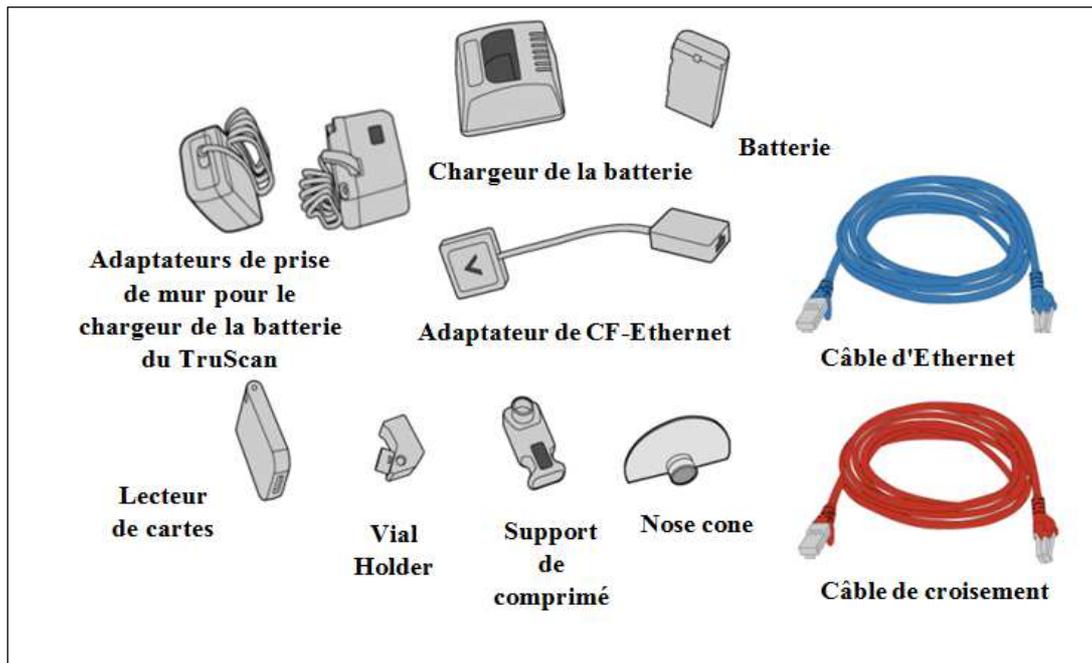


Figure 5 : Accessoires du TruScan [19]

1.1.1 Montage des accessoires de TruScan

Le Nose cone, le Vial holder et le support de comprimé sont adapté avec précision au-dessus de l'ouverture du laser sur le Nose de l'unité.

- Le Nose cone est employé pour scanner une substance dans un sac, une bouteille, ou directement, il assure que l'ouverture du laser de l'unité est à la distance correcte de la substance.

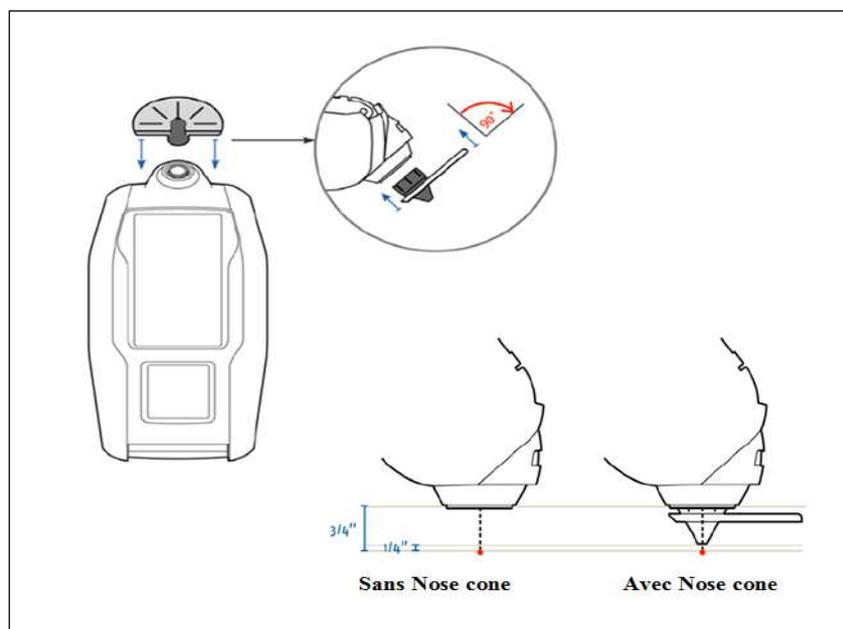


Figure 6 : Nose et configuration du Nose cone [19]

- Le Vial holder est employé pour scanner une substance dans un Vial (fiolle).



Figure 7 : Vial holder [19]

- Le support de comprimé est employé pour scanner directement des comprimés.



Figure 8 : Support de comprimé [19]

1.2 Micromètre

C'est un autre appareil utilisé dans notre travail pour mesurer l'épaisseur des contenants de la Metformine DC, il est composé de :

1. Bouton Origine
2. Bouton de sélection pouces/mm (sur modèles de mesure impériale / modèles métriques)
3. LDC (Ecran à cristaux liquides)
4. Tambour (le type varie selon le modèle)
5. Couverture du compartiment de la batterie
6. Axe (touche mobile) [20]

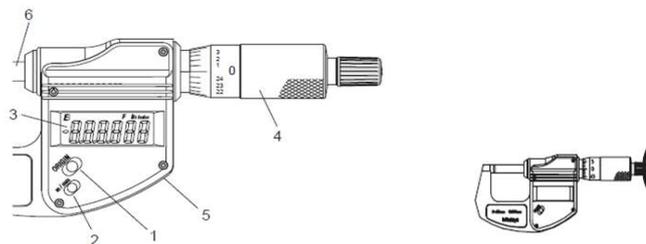


Figure 9 : Micromètre [20]

1.3 Matières premières et réactifs

- Les lots de Metformine DC utilisés dans notre travail sont fournis par "Weifa". Nous avons réalisé les tests de spécificité sur les lots N° 1, 2, 3 et les tests de robustesse sur les lots N° 4, 5, 6 et 7.
- Afin de vérifier la spécificité de la méthode d'identification employée, nous avons utilisé les standards de référence dicyandiamid et mélamine et les excipients opadry et paraffine fournis par "Weifa".

1.4 Verreries et autres

Boîtes portes échantillon, vials, béchers de 20ml, erlenmeyer, broyeur, spatules, gants et lunettes de sécurité, casque, papier absorbant, scotche pharmaceutique, ciseaux, sac pharmaceutique.

2 Protocole de validation de la méthode d'identification de la Metformine DC par Spectroscopie Raman

Ce protocole est réalisé en se référant aux ICH qui recommandent d'évaluer les deux critères " spécificité et robustesse " pour la validation des méthodes d'identification contrairement aux autres tests quantitatifs qui nécessitent l'évaluation des autres critères tels que la précision, la linéarité, l'exactitude...etc. [18].

2.1 Autotest

Le fabricant recommande d'effectuer un autotest sur l'équipement TruScan afin de vérifier sa convenance opérationnelle avant toute analyse. Nous avons donc réalisé ce test par l'emploi de polystyrène (standard) qui est sous forme d'une tige qu'on a placé dans l'accessoire vial holder de TruScan [19].

Pour dire que ce test est valide il faut avoir comme résultat : un écran PASS et une p-value ≥ 0.05 [19].

2.2 Spécificité

La spécificité de la méthode est confirmée par les résultats positifs obtenus lors d'une identification des lots de Metformine DC, couplés avec des résultats négatifs obtenus par l'emploi des échantillons : dicyandiamid, mélamine, opadry et paraffine, ne contenant pas la Metformine dans leurs compositions [21].

Pour évaluer la spécificité de la méthode nous avons procédé de la manière suivante :

Tout d'abord, dans le menu de l'équipement TruScan on a choisi la méthode " Metformine granulats ", puis on a effectué des scans sur les lots N°1, 2 et 3 de la Metformine DC avec l'unité TruScan sans accessoires et d'autres scans avec les deux accessoires Nose

cone et vial holder. Ensuite, nous avons effectué trois scans sur un lot des autres matériaux " dicyandiamid, mélamine, opadry et paraffine " avec l'emploi de l'accessoire Vial holder uniquement.

Comme critères d'acceptation, le résultat pour les tests d'identification des lots de Metformine DC doit être un écran PASS et une p-value ≥ 0.05 et le résultat pour les tests d'identification des autres matériaux (Dicyandiamid, Mélamine, Opadry et paraffine) doit être un écran FAIL et une p-value < 0.001 [19].

2.3 Robustesse

Lorsque les mesures sont susceptibles à des variations des conditions opératoires, la robustesse de la méthode analytique doit être évaluée et vérifier que malgré les variations apportées à la méthode elle reste toujours fiable [21].

Pour ce critère de robustesse, trois points doivent être évalués :

- Conditions et recommandations de la méthode du fabricant ;
- Paramètres pratiques de la méthode ;
- Conditions d'USP et d'EP.

2.3.1 Conditions et recommandations de la méthode du fabricant

Selon le fabricant de TruScan, il est important d'abord de déterminer si la Metformine DC peut être employé pour produire une méthode robuste et fiable [19].

Le fabricant recommande d'effectuer un scan sur un lot de Metformine DC, et d'évaluer les facteurs suivants:

- Temps nécessaire pour scanner la Metformine DC

Pour évaluer ce paramètre nous avons effectué un test d'identification pour un contenant d'un lot de Metformine DC avec l'unité TruScan sans accessoires, par la suite avec l'utilisation des deux accessoires Nose cone et vial holder puis on a noté le temps du scan.

Le temps du scan de deux ou trois minutes est acceptable, mais ne doit pas dépasser 10 minutes comme recommandé par le fabricant. Nous avons opté pour un temps de scan de trois minutes [19].

- La qualité du spectre Raman

Nous avons vérifié les spectres Raman obtenus dans les essais d'identification précédents (essai du temps nécessaire pour le scan de la Metformine DC)

Si les spectres montrent des pics distincts, alors on dit que la Metformine DC est appropriée pour le développement de la méthode de TruScan.

S'il n'y a aucun pic distinct, la Metformine DC n'est pas appropriée pour le développement de la méthode de TruScan et un autre type d'essai d'identification doit être employé (HPLC ou NIR) [19].

2.3.2 Paramètres pratiques de la méthode

Les paramètres pratiques qui peuvent affecter la méthode d'analyse sont énumérés ci-dessous :

- Manipulation des techniciens

Une variation peut avoir lieu quand les techniciens emploient l'unité TruScan et l'accessoire Nose cone pour identifier la metformine DC. Il faut vérifier que la variation de la position de l'équipement pour chaque technicien lors des scans n'affecte pas le résultat d'identification. Trois techniciens ont effectué des tests d'identification pour un même contenant d'un lot de Metformine DC avec l'unité TruScan sans accessoires et avec l'accessoire Nose cone [21].

Le résultat de la manipulation des trois techniciens doit être : un écran PASS et une p-value ≥ 0.1 [19].

- Nature et épaisseur des contenants

Le contenant doit être transparent et l'épaisseur ne doit pas dépasser 5mm pour identifier la Metformine DC avec le TruScan en utilisant l'accessoire Nose cone [19].

Nous avons effectué des tests d'identification pour un contenant d'un même lot de Metformine DC, d'abord avec un seul sac en plastique (PELD), puis avec trois sacs en utilisant l'accessoire Nose cone, ensuite avec la verrerie du laboratoire en employant le vial holder. L'épaisseur des sacs et du récipient est mesurée à l'aide d'un micromètre.

Le résultat pour les tests d'identification de la Metformine DC dans les différentes configurations des contenants doit être : un écran PASS et une p-value ≥ 0.1 et toute épaisseur mesurée ne doit pas dépasser 5 mm [19].

- Granulométrie de la Metformine DC

Pour démontrer que la granulométrie des granulats de Metformine n'affecte pas les résultats d'analyse, nous avons effectué des tests d'identification sur une poudre fine issue des granulats écrasés et sur des morceaux de granulat d'un même lot de Metformine DC [21].

Le résultat pour les deux tests d'identification de la Metformine DC doit être : un écran PASS et une p-value ≥ 0.1 [19].

- **Variation des lots**

Pour inclure la variation possible dans le processus de fabrication de la Metformine DC, différents lots doivent être examinés pour évaluer l'impact de ce dernier sur le résultat[21].

La variation des lots a été examinée pendant le test de " spécificité " (cf. chapitre 2.2).

Le résultat pour les tests d'identification des lots de la Metformine DC doit être : un écran PASS et une p-value ≥ 0.1 [19].

- **Variation des accessoires**

Les différents positionnements des divers accessoires sur l'échantillon peuvent engendrer des variations qui doivent être examinées [21].

La variation des accessoires a été examinée pendant le test de " spécificité " (cf. chapitre 2.2).

Le résultat pour les tests d'identification de la metformine DC avec les différents accessoires doit être : un écran PASS et une p-value ≥ 0.1 [19].

2.3.3 Conditions d'USP et d'EP

Les pharmacopées définissent quelques variations qui peuvent affecter le résultat de l'analyse qui doivent être évaluées. Ci joint les variations qui ne sont pas incluses dans les essais de la robustesse précédents qui doivent être vérifiées :

- **Impact de la fluorescence du matériel**

Si les conditions et les recommandations des essais du fabricant définis dans le chapitre " 2.3.1 " sont vérifiées, le risque d'impact de la fluorescence de la Metformine DC sur le résultat est minime, ainsi la méthode peut être employée pour la Metformine DC [19].

- **Impact du laser sur l'échantillon**

L'impact du laser sur l'échantillon doit être évalué. L'USP recommande une inspection visuelle de l'échantillon et une inspection qualitative du spectre Raman, pour des mesures avec des puissances du laser et des durées d'exposition différentes qui confirmeront que l'échantillon n'est pas modifié [19].

Dans l'équipement Truscan la puissance du laser ne peut pas être modifiée, seule la durée d'exposition est à examiner, Nous avons donc effectué un test d'identification pour un lot de Metformine DC avec l'utilisation de l'accessoire Vial holder, puis on a réalisé trois autres scans consécutifs sur le même échantillon de Metformine DC précédemment examiné (en prenant soin d'utiliser le même Vial sur la même face).

Après une inspection visuelle, l'aspect de la Metformine DC doit être identique à celui du départ et les spectres obtenus doivent garder la même qualité.

Le résultat pour l'essai d'identification de la Metformine DC pour la même face exposée au laser avant et après l'acquisition des spectres doit être : un écran PASS et une $p\text{-value} \geq 0.1$ [19].

- **Environnement (lumière ambiante)**

L'incertitude de la mesure, qui est employée pour calculer la valeur statistique du résultat " p-value ", est déterminée en temps réel basé sur les propriétés connues de l'instrument et les propriétés mesurées de l'environnement telles que les niveaux lumineux ambiants [19].

Comme l'appareil TruScan corrige cette variation et que tous les tests définis ci-dessus seront réalisés dans différents environnements de lumière ambiante, alors ce paramètre n'a pas besoin d'être examiné spécifiquement

Tous les tests définis ci-dessus doivent avoir comme résultat : un écran PASS et une $p\text{-value} \geq 0.1$ [19].

1 Autotest

Le spectre de polystyrène (cf. **figure 10, annexe 2**) est superposable avec celui de référence, il indique que l'équipement est en bon état après la dernière utilisation.

Les résultats de l'autotest sont regroupés dans le tableau 5

Tableau 5 - Résultats de l'autotest

Standard	p-value	Limite	Résultat
Polystyrène	0.306077	≥ 0.05	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL

Nous pouvons conclure que les critères sont valides et que l'unité TruScan fonctionne correctement.

2 Spécificité

2.1 Résultats pour la Metformine DC

D'après le tableau N°6 on constate que tous les tests d'identifications montrent un écran PASS et les p-value sont ≥ 0.05 pour les trois lots de Metformine DC.

Les spectres (cf. **figures 11 à 19, annexe 3**) obtenus pour les trois lots de Metformine DC avec l'utilisation de l'unité TruScan sans et avec les accessoires Nose cone et Vial holder, sont superposables aux spectres de référence de la méthode " Metformine granulat ".

Tableau 6 - Résultats des tests de spécificité pour la Metformine DC

l'unité TruScan (sans accessoires)			
Lot N°	p-value	Limite	Résultat
(1)	0.373856	≥ 0.05	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(2)	0.449552	≥ 0.05	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(3)	0.327642	≥ 0.05	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
l'unité TruScan avec le Nose cone			
Lot N°	p-value	Limite	Résultat
(1)	0.432433	≥ 0.05	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(2)	0.385347	≥ 0.05	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(3)	0.405311	≥ 0.05	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
l'unité TruScan avec le vial holder			
Lot N°	p-value	Limite	Résultat
(1)	0.445475	≥ 0.05	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(2)	0.380063	≥ 0.05	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(3)	0.429641	≥ 0.05	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL

Le logiciel "Decision Engine" de l'équipement compare les spectres de notre analyse aux spectres de la bibliothèque de référence spécifique à la Metformine DC. Chaque pic des

spectres obtenus correspond à une vibration des atomes d'un groupement fonctionnel de la molécule de Metformine HCl, l'ensemble de ces pics nous renseigne sur l'identité du produit étudié.

Le tableau N°7, regroupe les nombres d'ondes correspondant à certains groupements fonctionnels de la molécule de Metformine HCl (cf. annexe N°8)

Tableau 7- Caractérisation de quelques liaisons de la Metformine HCl

Nombre d'onde $\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)	Groupements fonctionnels
750	N-H
800	C-H
1100	C-N
1200	C-N
1400	CH ₃

2.2 Résultats pour la dicyandiamid, Mélamine, opadry et paraffine

Dans le tableau N°8, on voit bien que le résultat de tous les tests est un écran FAIL et des p-value < 0.001 pour les lots de dicyandiamid, Mélamine, opadry et paraffine.

Les spectres (cf. figures 20 à 31, annexe 4) obtenus pour les lots de dicyandiamid, Mélamine, opadry et la paraffine avec l'utilisation de l'unité TruScan sans et avec les accessoires Nose cone et Vial holder, ne sont pas superposables aux spectres de référence de la méthode " Metformine granulat " car ils présentent des pics décalés par rapport à ceux de spectre de référence, ce qui signifie que la méthode employée est appropriée seulement à la Metformine DC.

Tableau 8 - Résultats des tests de spécificité pour la dicyandiamid, Mélamine, opadry et paraffine

Pour la Dicyandiamide avec le vial holder			
Tests	p-value	Limite	Résultat
test 1	0.000000	< 0.001	<input type="checkbox"/> PASS <input checked="" type="checkbox"/> FAIL
test 2	0.000000	< 0.001	<input type="checkbox"/> PASS <input checked="" type="checkbox"/> FAIL
test 3	0.000000	< 0.001	<input type="checkbox"/> PASS <input checked="" type="checkbox"/> FAIL
Pour la Mélamine avec le vial holder			
Tests	p-value	Limite	Résultat
test 1	0.000000	< 0.001	<input type="checkbox"/> PASS <input checked="" type="checkbox"/> FAIL
test 2	0.000000	< 0.001	<input type="checkbox"/> PASS <input checked="" type="checkbox"/> FAIL
test 3	0.000000	< 0.001	<input type="checkbox"/> PASS <input checked="" type="checkbox"/> FAIL
Pour l'opadry avec le vial holder			
Tests	p-value	Limite	Résultat
test 1	0.000000	< 0.001	<input type="checkbox"/> PASS <input checked="" type="checkbox"/> FAIL
test 2	0.000000	< 0.001	<input type="checkbox"/> PASS <input checked="" type="checkbox"/> FAIL
test 3	0.000000	< 0.001	<input type="checkbox"/> PASS <input checked="" type="checkbox"/> FAIL
Pour la paraffine avec le vial holder			
Tests	p-value	Limite	Résultat
test 1	0.000000	< 0.001	<input type="checkbox"/> PASS <input checked="" type="checkbox"/> FAIL
test 2	0.000000	< 0.001	<input type="checkbox"/> PASS <input checked="" type="checkbox"/> FAIL
test 3	0.000000	< 0.001	<input type="checkbox"/> PASS <input checked="" type="checkbox"/> FAIL

En conclusion, tous les critères sont valides donc la méthode est spécifique, elle garantit que les résultats obtenus ne proviennent que des composants analysés.

3 Robustesse

3.1 Conditions et recommandations de la méthode du fabricant

- Temps nécessaire pour scanner la Metformine DC

Dans le tableau N°9 on voit bien que tous les tests d'identification ont abouti à des résultats conformes aux critères fixés dans le protocole. Le temps du scan obtenu avec l'unité TruScan sans accessoires est acceptable et ne dépasse pas le temps limite fixé par le fabricant. Cependant, l'utilisation du Nose cone et du Vial holder garantit un temps de scan meilleure.

Les spectres (cf. figures 32 à 34, Annexe 5) obtenus pour les trois tests par l'utilisation de l'unité TruScan avec et sans accessoires, sont superposables aux spectres de référence de la méthode employée.

Tableau 9 - Résultats des tests de robustesse pour temps nécessaire pour scanner la Metformine DC

Unité TruScan (sans accessoires)					
Lot N°	p-value	Temps du scan	p-value limite	Temps Limite	Résultat
(4)	0.330154	1mn 48 s	≥ 0.1	10 minutes	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
Avec le Nose cone					
Lot N°	p-value	Temps du scan	p-value limite	Temps Limite	Résultat
(4)	0.241230	29 s	≥ 0.1	10 minutes	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
Avec le Vial holder					
Lot N°	p-value	Temps du scan	p-value limite	Temps Limite	Résultat
(4)	0.446921	19 s	≥ 0.1	10 minutes	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL

Pour la rapidité des tests, il est recommandé d'utiliser le Nose cone pour l'identification des échantillons directement dans leurs emballage et le Vial holder après prélèvement. Cet avantage rend la méthode Raman plus adaptée pour les tests d'identification que d'autres méthodes telles que l'HPLC ou le NIR.

- Qualité du spectre Raman

Grâce au dispositif de filtrage de Truscan qui a permis à l'unité d'éliminer tout rayonnement parasite ou inutile, les spectres (cf. figures 32 à 34, annexe 5) obtenus représentent des pics distincts bien résolus et contenant l'information suffisante permettant à l'unité d'exécuter son analyse d'identification (cf. tableau N°10).

Tableau 10 - Résultats des tests de robustesse pour la qualité du spectre Raman

Lot N°	Appareillage	Qualité du spectre Raman	Résultat
(4)	Unité TruScan	<input checked="" type="checkbox"/> Présence de pics distincts <input type="checkbox"/> Pas de pics distincts	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(4)	Nose cone	<input checked="" type="checkbox"/> Présence de pics distincts <input type="checkbox"/> Pas de pics distincts	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(4)	Vial holder	<input checked="" type="checkbox"/> Présence de pics distincts <input type="checkbox"/> Pas de pics distincts	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL

A l'issue de ces résultats nous pouvons dire que tous les critères sont valides donc la Metformine DC est appropriée pour le développement de la méthode de TruScan selon les conditions et les recommandations du fabricant de TruScan.

3.2 Paramètres pratiques de la méthode

- Manipulation des techniciens

Le tableau N°11 résume les résultats des tests d'identifications obtenus par les trois analystes. On peut constater que toutes les p-value sont ≥ 0.1 mais présentent des petites variations liées au positionnement de l'équipement sur l'échantillon pour chaque analyste. En réalité, ces variations sont dues à la pénétration focale du laser.

Les spectres (cf. figures 35 à 40, annexe 6) obtenus par les trois analystes par l'utilisation de l'unité TruScan et l'accessoire Nose cone, sont superposables aux spectres de référence de la méthode employée.

Tableau 11 - Résultats des tests de robustesse pour la manipulation des techniciens

Avec l'unité TruScan				
Lot N°	Nom de l'analyste	p-value	Limite	Résultat
(5)	Analyste 01	0.352539	≥ 0.1	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(5)	Analyste 02	0.404378	≥ 0.1	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(5)	Analyste 03	0.454221	≥ 0.1	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
Avec le Nose cone				
Lot N°	Nom de l'analyste	p-value	Limite	Résultat
(5)	Analyste 01	0.397886	≥ 0.1	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(5)	Analyste 02	0.338325	≥ 0.1	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(5)	Analyste 03	0.450446	≥ 0.1	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL

On conclut que les variations liées au positionnement de l'équipement lors de la manipulation des techniciens n'affectent pas les résultats d'identification.

- Nature et épaisseur des contenants

Nous constatons d'après le tableau N°12 que tous les tests d'identifications montrent un écran PASS et les p-value sont ≥ 0.1 , l'épaisseur mesurée pour les trois contenants est inférieur à 5 mm, ce qui signifie que le laser peut pénétrer le contenant de l'échantillon.

Les spectres (cf. figures 41 à 43, Annexe 6) obtenus pour les trois contenants sont superposables aux spectres de référence.

Tableau 12 - Résultats des tests de robustesse pour la nature et épaisseur des contenants

Lot N°	Contenant	Epaisseur mesurée	p-value	Limite	Résultat
(6)	01 sac en plastique	0.093mm	0,436095	≥ 0. 1	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(6)	03 sacs en plastique	0.267mm	0,384791	≥ 0. 1	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(6)	Contenant en verre	1.821mm	0,503579	≥ 0. 1	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL

Nous pouvons conclure à partir de ces résultats que lorsque le contenant est transparent et son épaisseur ne dépasse pas les 5 mm, il n’y a pas d’effets sur les résultats d’identification.

- Granulométrie de la metformine DC

Les résultats des deux tests d’identifications est un écran PASS et des p-value ≥ 0.1 comme le montre le tableau N°13. Les spectres (cf. figures 44 et 45, annexe 6) obtenus sont superposables aux spectres de référence, ce qui signifie que cette méthode est applicable que ce soit sur des échantillons de très petite taille (poudre fine) ou sur des morceaux de granulat.

Tableau 13 - Résultats des tests de robustesse pour la granulométrie de la metformine DC

Lot N°	Type du granulat	p-value	Limite	Résultat
(7)	Granulat écrasé	0.469096	≥ 0. 1	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
(7)	Morceaux de granulat	0.469232	≥ 0. 1	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL

Tous les critères sont valides, ceci signifie que la granulométrie de l’échantillon n’affecte pas les résultats d’identification.

- Variation des lots

Les tests d’identifications des différents lots de Metformine granulat montrent un écran PASS et les p-value sont ≥ 0.1 (cf. tableau N°6 de la spécificité). Les spectres (cf. figures 11 à 19, annexe 3) obtenus sont superposables aux spectres de référence.

Tous les critères sont valides, par conséquent la Metformine granulat est fournie par un fournisseur agréé et les variations possibles dans le processus de fabrication n’ont pas d’impact sur le résultat de l’analyse.

- **Variation des accessoires**

Les tests d'identifications montrent un écran PASS et les p-value sont ≥ 0.1 (cf. tableau N°6 de la spécificité). Les spectres (cf. figures 11 à 19, annexe 3) obtenus sont superposables aux spectres de référence.

Sans le Nose cone (Unité TruScan) le point focal du laser sur l'échantillon est à 18 mm du nose de l'unité, tandis qu'avec le Nose cone il est un peu moins de 5 mm au-delà de sa pointe sur l'échantillon. Le vial holder est le mieux adapté pour l'analyse le fait qu'il est assez proche du nose de l'unité sauf que son utilisation nécessite un prélèvement préalable de l'échantillon.

L'utilisation du Nose cone a permis de bien positionner le point focale du laser au bon endroit sur l'échantillon pour les mesures directes. Cependant, le vial holder est recommandé dans le cas où le Nose cone ne permet pas d'aboutir aux résultats escomptés.

3.3 Conditions d'USP et d'EP

- **Impact de la fluorescence du matériel**

On constate d'après le tableau N°14 que les conditions et les recommandations des essais du fabricant sont vérifiées. En effet, ceci était prévisible étant donné que le Truscan emploie des filtres numériques pour réduire la contribution de la fluorescence sur l'analyse des échantillons et les conditions pour l'acquisition des données des spectres.

Tableau 14 - Résultats des tests de robustesse pour l'impact de la fluorescence du matériel

Tests	Résultat
Temps nécessaire pour scanner la Metformine granulat	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
Qualité du spectre Raman	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL

- **Impact du laser sur l'échantillon**

Dans les tableaux N°15,16 et17 on voit bien que tous les tests d'identifications réalisés montrent un écran PASS et les p-value sont ≥ 0.1 . Les spectres (cf. figures 46 à 49, annexe7) sont superposables aux spectres de référence vu qu'ils ont gardés la même qualité, ce qui signifie que l'échantillon n'est pas détruit après l'exposition répétée au laser.

Tableau 15 - Résultats des tests de robustesse pour l'impact du laser sur l'échantillon avec le Vial holder

Test d'identification avant l'acquisition des spectres			
Lot N°	p-value	Limite	Résultat
(5)	0,429203	≥ 0.1	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL

Tableau 16 - Résultats des tests de robustesse pour l'aspect visuel de la Metformine DC après l'acquisition des spectres

L'aspect visuel de la Metformine granulat après l'acquisition des spectres	
Limite	Résultat de l'aspect visuel
L'aspect visuel de la Metformine granulat doit être le même qu'avant l'acquisition des spectres.	<input checked="" type="checkbox"/> Similaire <input type="checkbox"/> Non similaire

Tableau 17 - Résultats des tests de robustesse des spectres acquis pour la face exposée au laser

Test d'identification après l'acquisition des spectres pour la face exposée au laser						
Lot N°	Aspect visuel du spectre	p-value			Limite	Résultat
(5)	<input checked="" type="checkbox"/> Similaire <input type="checkbox"/> Non similaire	Spectre-1	Spectre-2	Spectre-3	≥ 0.1	<input checked="" type="checkbox"/> PASS <input type="checkbox"/> FAIL
		0,519239	0,548304	0,473817		

Nous pouvons conclure que La Méthode d'identification par Spectroscopie Raman est non-destructive.

En industrie pharmaceutique, toute méthode appliquée au contrôle qualité des médicaments doit être validée conformément aux normes internationales. Notre travail au sein du site NNAPP, nous a permis d'étudier la validation analytique de la méthode d'identification de la Metformine DC par spectroscopie Raman.

L'autotest a confirmé que l'équipement " TruScan " fonctionne correctement. Les résultats obtenus dans l'étude de spécificité, que ce soit par les tests réalisés sur la Metformine DC, ou sur la dicyandiamid, Mélamine, opadry et sur la paraffine, s'avèrent tous conformes et dans les limites de spécifications.

Pour l'étude de la robustesse:

➤ L'évaluation des conditions et des recommandations de la méthode du fabricant, a démontré que la Metformine DC peut être employée pour produire une méthode robuste et fiable par le " TruScan ".

L'utilisation de l'équipement "TruScan" permet l'identification rapide de la Metformine DC.

Les spectres obtenus par la technique de spectrométrie Raman ont l'information suffisante pour l'identification de la Metformine DC.

➤ L'évaluation des paramètres pratiques de la méthode d'identification par spectroscopie Raman, a démontré que malgré les variations apportées à la méthode elle reste toujours fiable.

Les différents positionnements de l'équipement "TruScan" sur l'échantillon lors de la manipulation des techniciens n'affectent pas les résultats d'identification.

Le contenant doit être transparent et son épaisseur ne doit pas dépasser 5mm pour identifier directement la Metformine DC par l'équipement "TruScan".

La granulométrie de la Metformine DC n'affecte pas les résultats d'identification par spectroscopie Raman.

Les variations possibles dans le processus de fabrication de la Metformine DC n'ont pas d'effets sur les résultats d'identification par spectroscopie Raman.

L'utilisation des accessoires de "TruScan" permet de bien positionner le point focal du laser sur l'échantillon et donc une meilleure identification.

➤ L'évaluation des conditions d'USP et d'EP a démontré que :

- La fluorescence de la Metformine DC est éliminée par le "TruScan".

- La méthode d'identification par spectroscopie Raman n'est pas destructive.
- L'équipement "TruScan" peut être utilisé dans différents environnements de lumière ambiante.

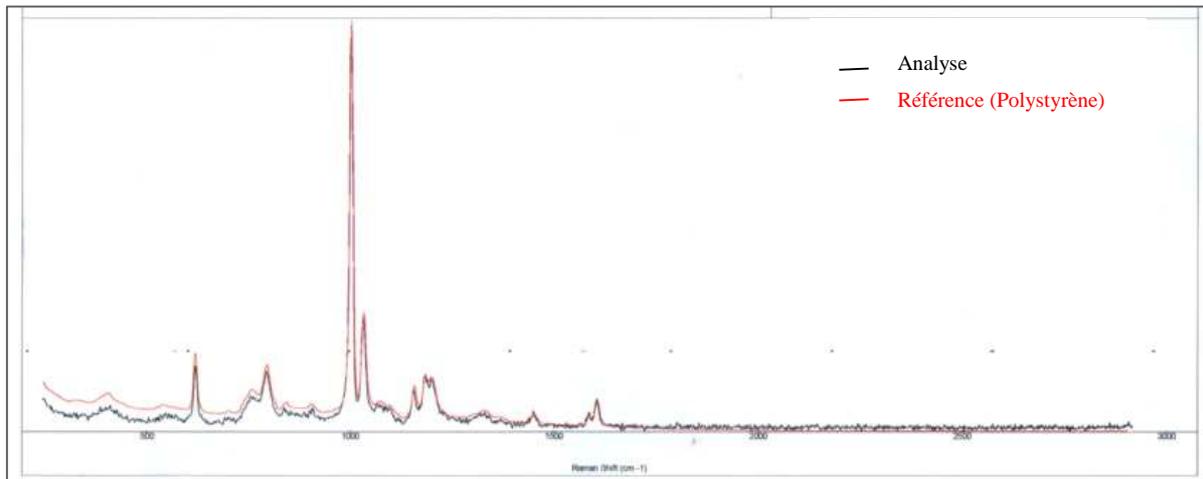
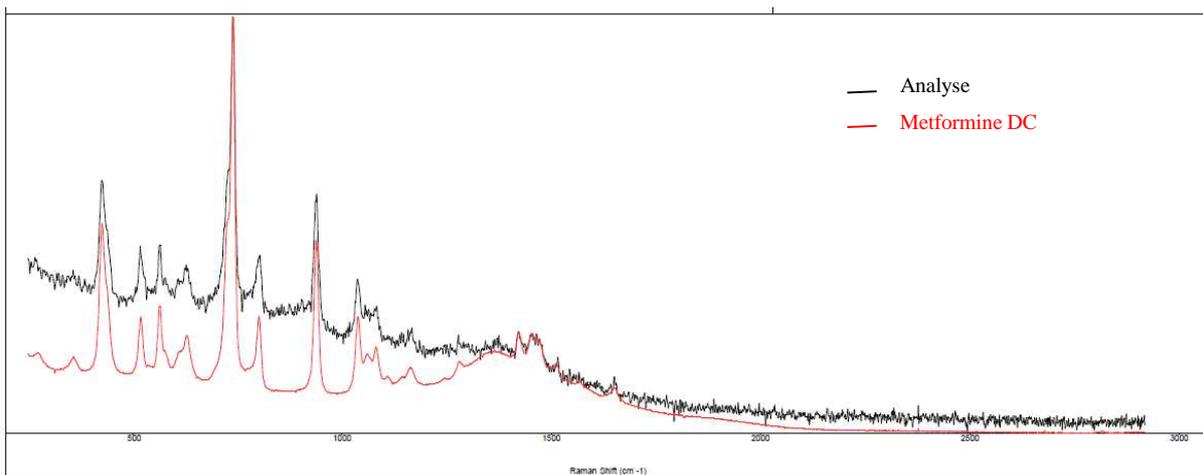
Pour conclure, nous pouvons dire que la méthode d'identification de la Metformine DC par spectroscopie Raman est valide, vue qu'elle est robuste et spécifique à l'identification de la Metformine DC.

La spectroscopie Raman est une technique très importante dans le contrôle qualité des médicaments, elle permet une identification rapide des échantillons. Elle peut être appliquée pour l'identification des matières premières, des articles de conditionnement, des excipients et d'autres matériaux.

Annexe 1. Lasers utilisés dans des applications pharmaceutiques

Tableau 3: Lasers utilisés dans des applications pharmaceutiques [14]

Laser λ (nm)	Type	Puissance typique du laser	Gamme (nm)	Commentaires
Laser NIR				
1064	semi-conducteur (Nd : YAG)	Plus de 3 W	1075-1563	Utilisé généralement dans des instruments à transformée de Fourier
830	Diode	Plus de 300 mW	827-980	Le Décalage Raman est en général limité de 2000 cm^{-1} , en raison de la réponse spectrale CCD ; moins commune que les autres lasers
785	Diode	Plus de 500 mW	791-1027	laser le plus couramment employé en diffusion Raman
lasers Visible				
632.8	He-Ne	Plus de 500 Mw	637-781	Risque relativement petit de fluorescence
532	Double (Nd :YAG)	Plus de 1W	535-632.8	Risque élevé de fluorescence
514.5	Ar ₊	Plus de 1W	517-608	Risque élevé de fluorescence
488 à 632.8	Ar ₊	Plus de 1W	490-572	Risque élevé de fluorescence

Annexe 2. Résultat de l'Autotest**Figure 10** : Spectre de l'autotest**Annexe 3. Résultats des tests de spécificité pour la Metformine DC****Figure 11** : Spectre de spécificité pour le lot N° 01 avec l'unité TruScan (sans accessoires)

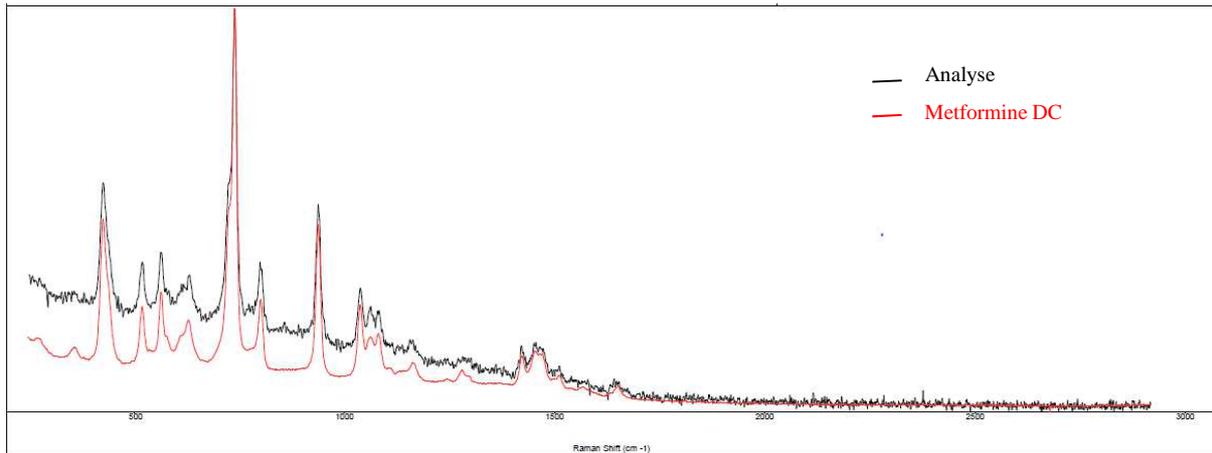


Figure 12 : Spectre de spécificité pour le lot N°01 avec le Nose cone

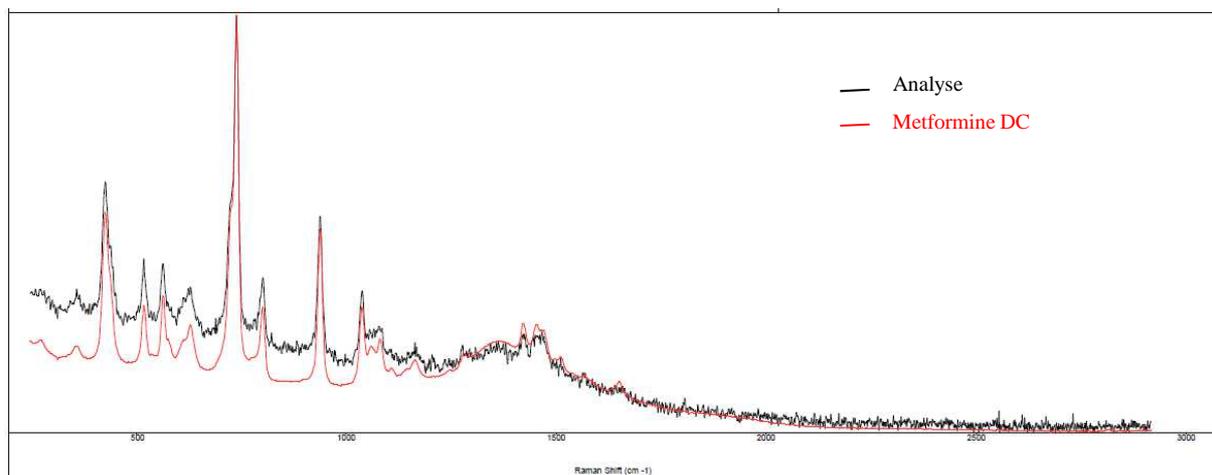


Figure 13 : Spectre de spécificité pour le lot N°01 avec le Vial holder

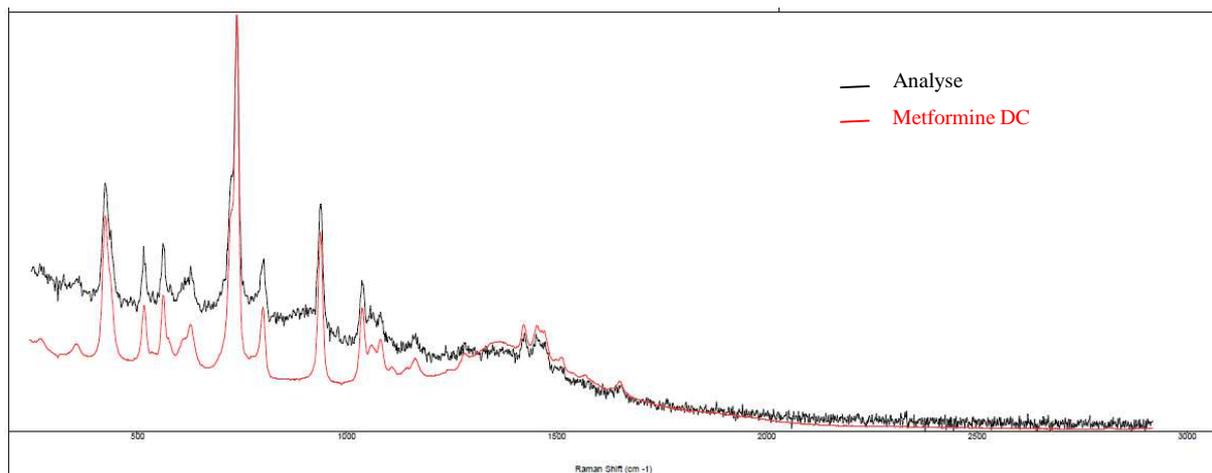


Figure 14 : Spectre de spécificité pour le lot N°02 avec l'unité TruScan (sans accessoires)

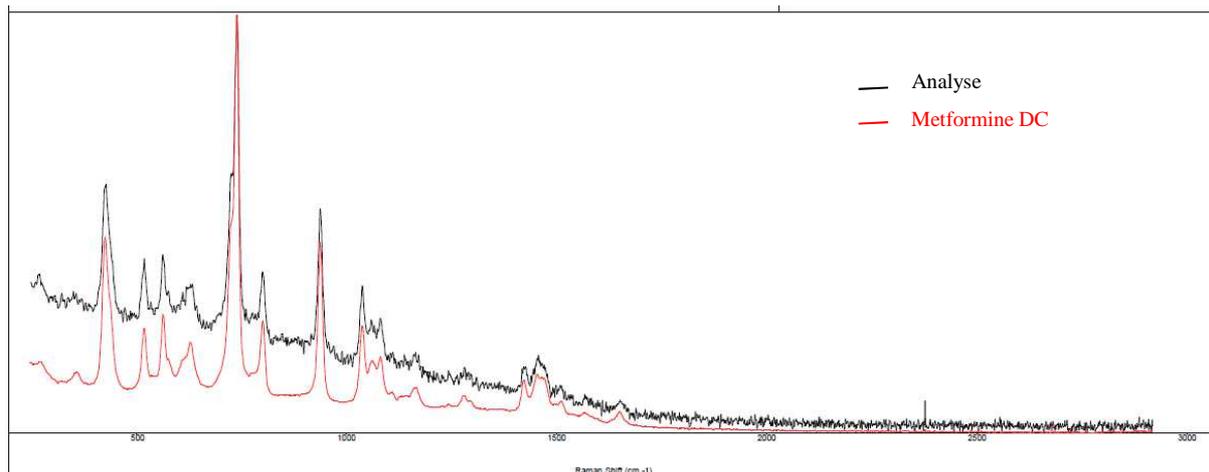


Figure 15 : Spectre de spécificité pour le lot N° 02 avec le Nose cone

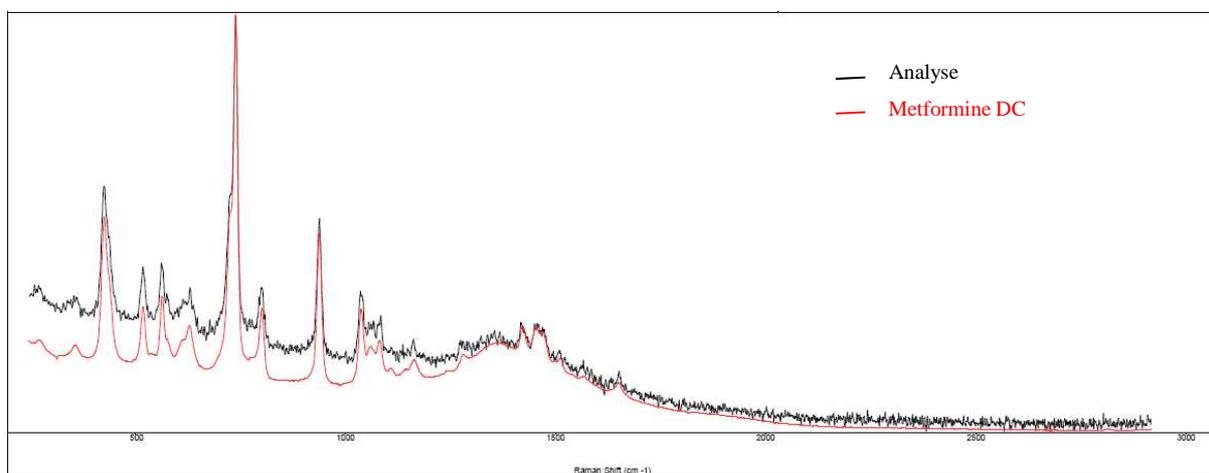


Figure 16 : Spectre de spécificité pour le lot N° 02 avec le Vial holder

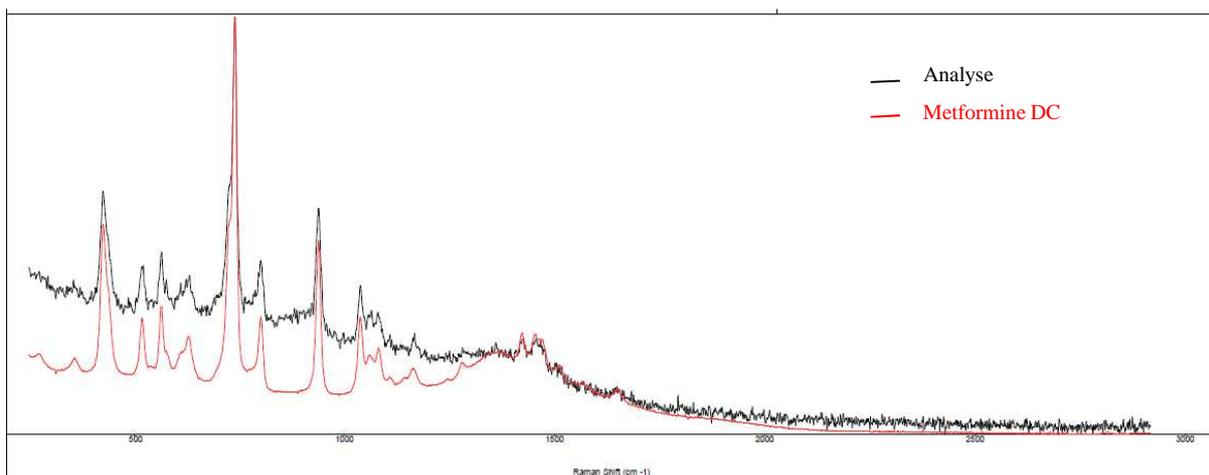


Figure 17 : Spectre de spécificité pour le lot N°03 avec l'unité TruScan (sans accessoires)

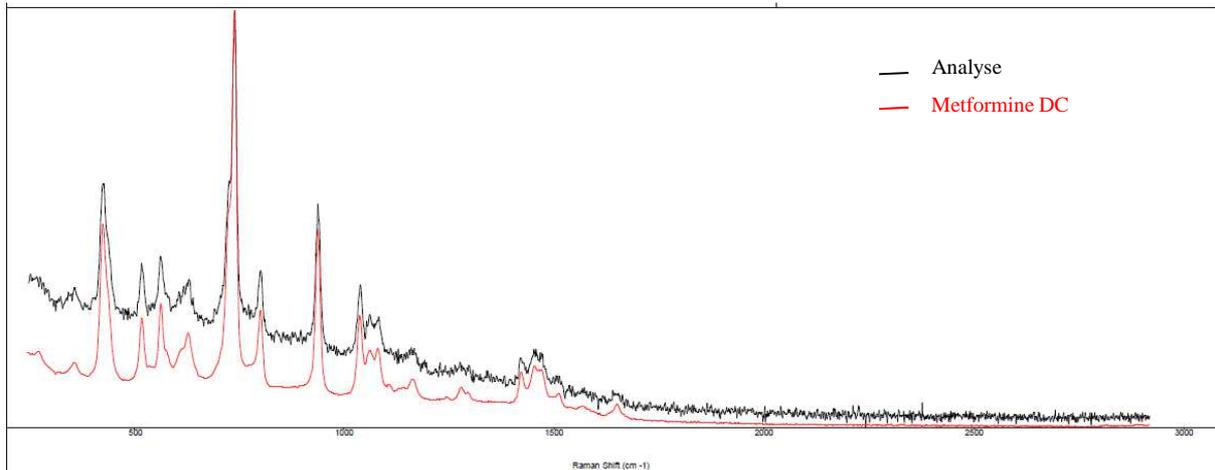


Figure 18 : Spectre de spécificité pour le lot N° 03 avec le Nose cone

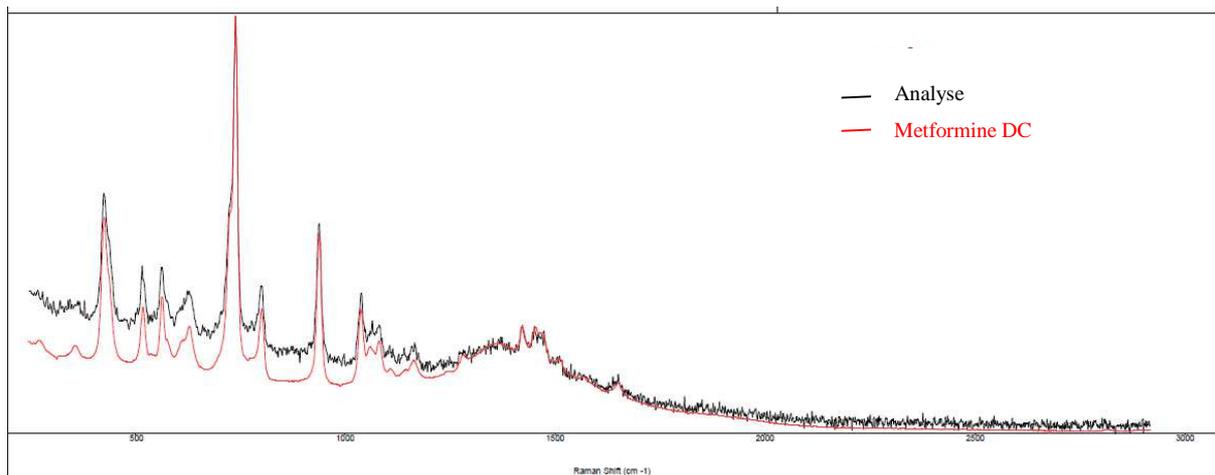


Figure 19 : Spectre de spécificité pour le lot N° 03 avec le Vial holder

Annexe 4. Résultats des tests de spécificité pour la dicyandiamid, Mélamine, opadry et paraffine

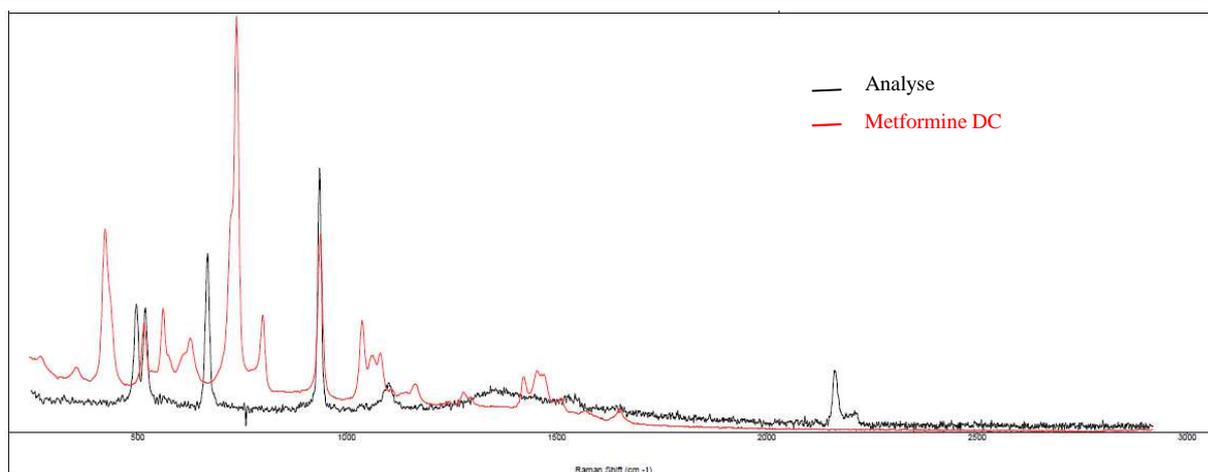


Figure 20 : Spectre de spécificité pour la dicyandiamid avec le Vial holder (Test N°01)

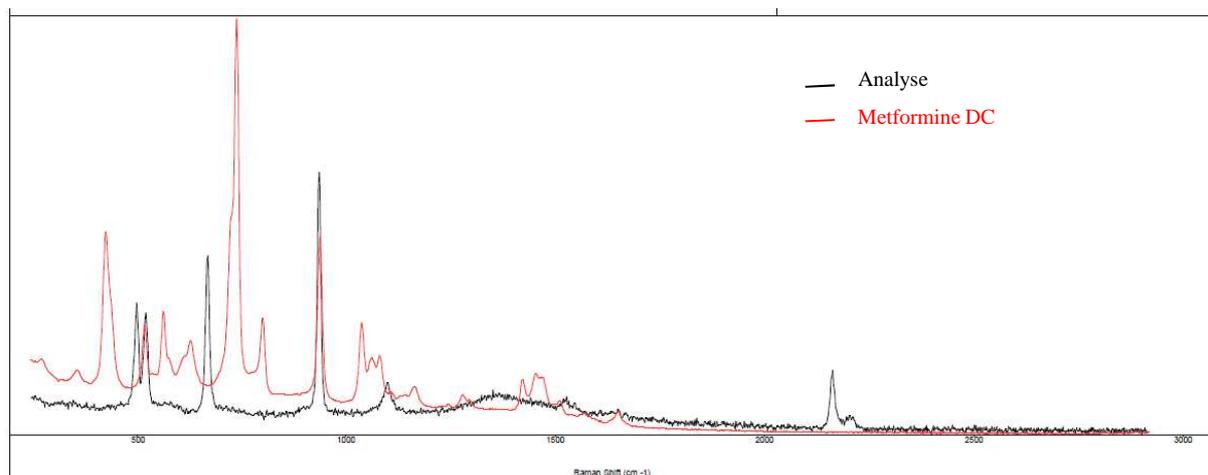


Figure 21 : Spectre de spécificité pour la dicyandiamid avec le Vial holder (Test N°02)

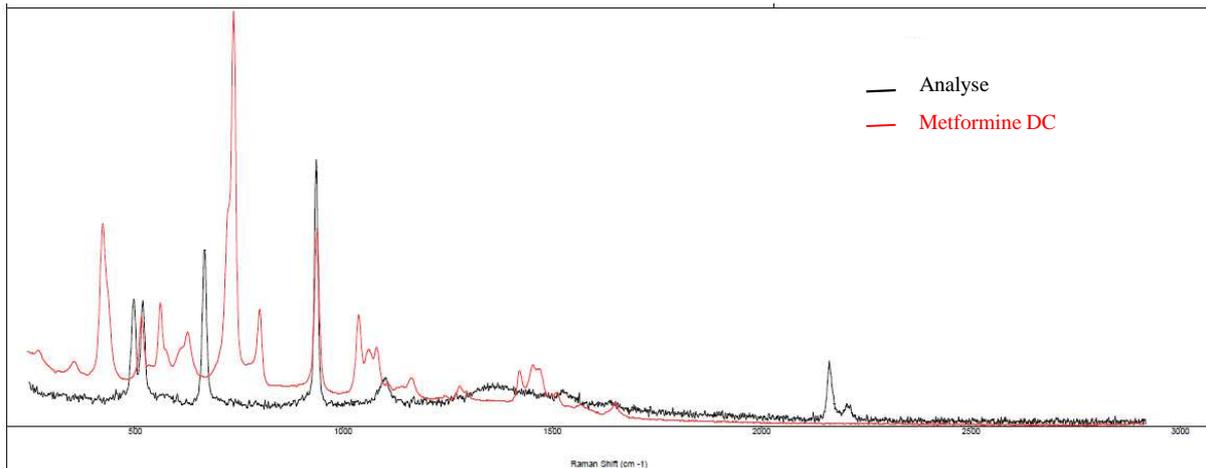


Figure 22 : Spectre de spécificité pour la dicyandiamid avec le Vial holder (Test N°03)

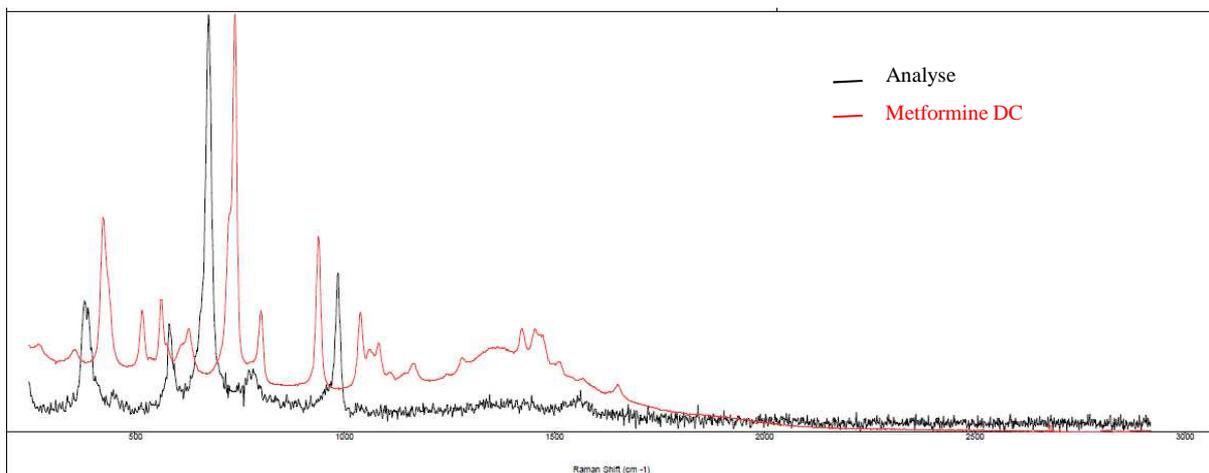


Figure 23 : Spectre de spécificité pour la Mélamine avec le Vial holder (Test N°01)

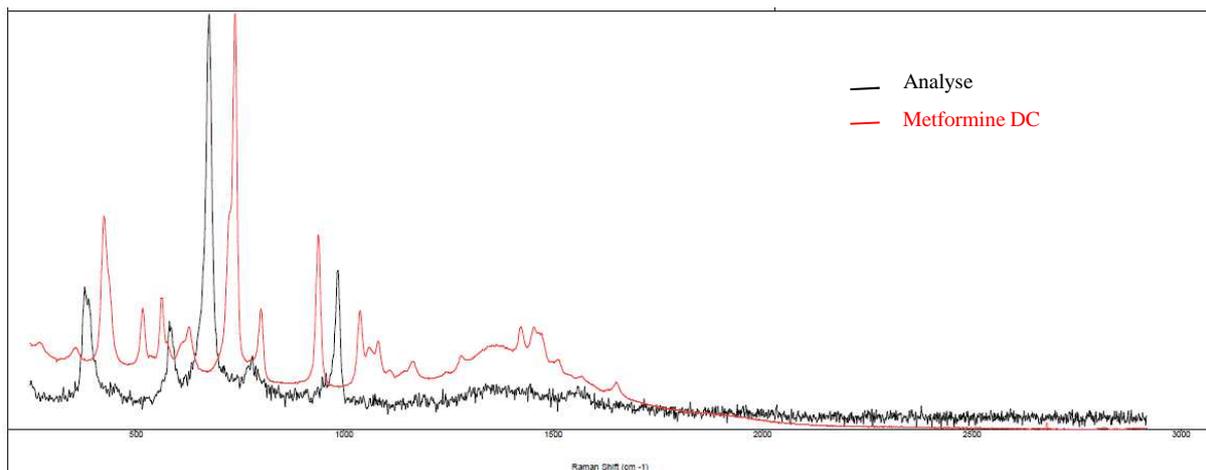


Figure 24 : Spectre de spécificité pour la Mélamine avec le Vial holder (Test N°02)

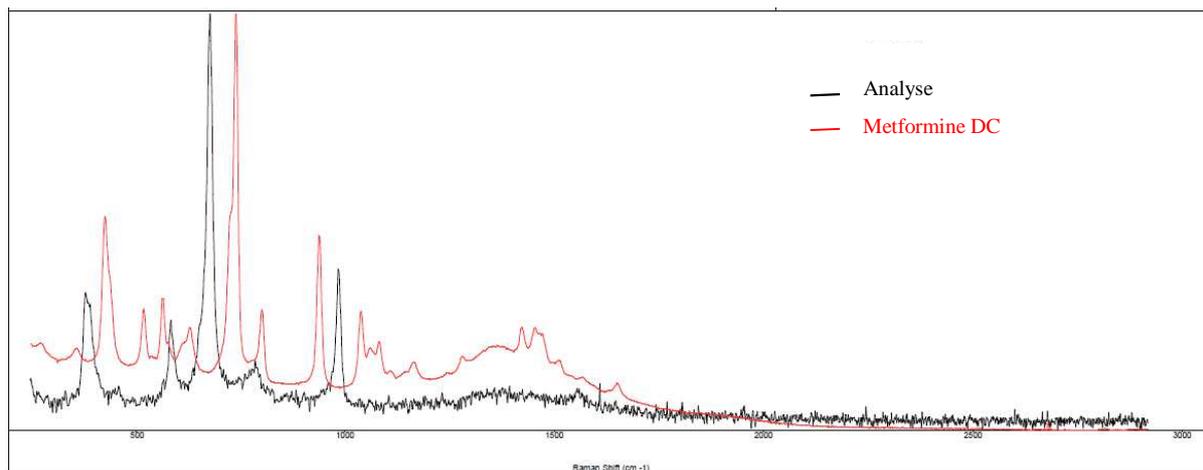


Figure 25 : Spectre de spécificité pour la Mélamine avec le Vial holder (Test N°03)

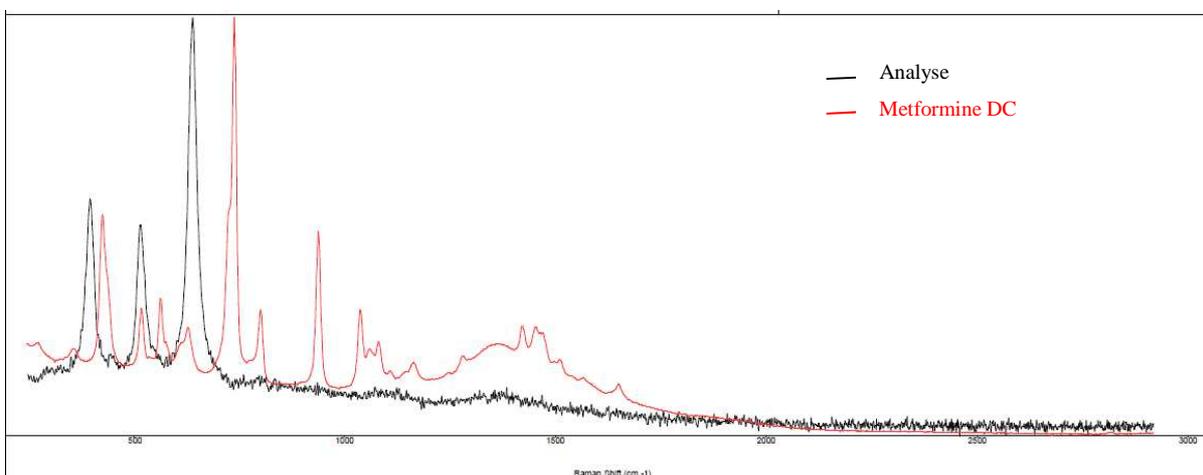


Figure 26 : Spectre de spécificité pour l'opadry avec le Vial holder (Test N°01)

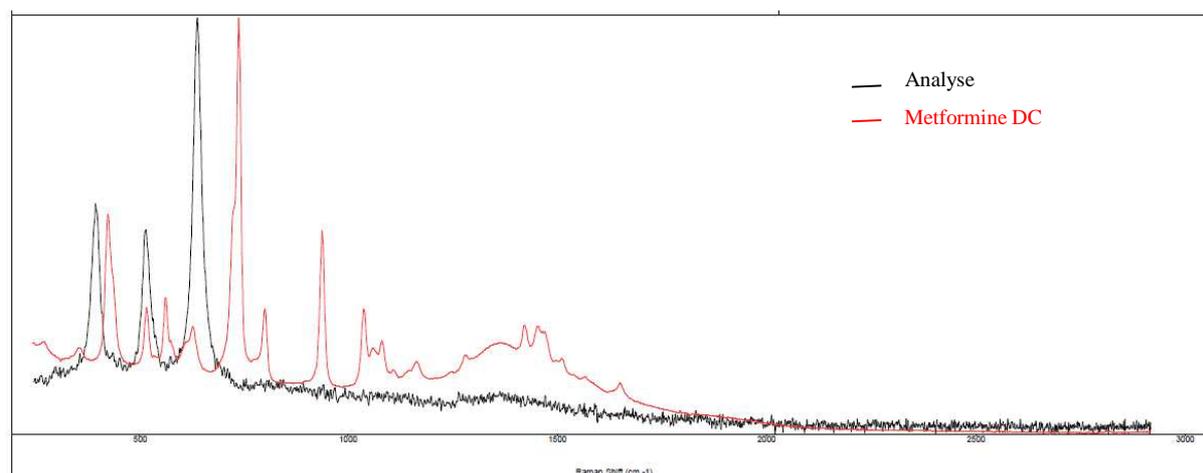


Figure 27 : Spectre de spécificité pour l'opadry avec le Vial holder (Test N°02)

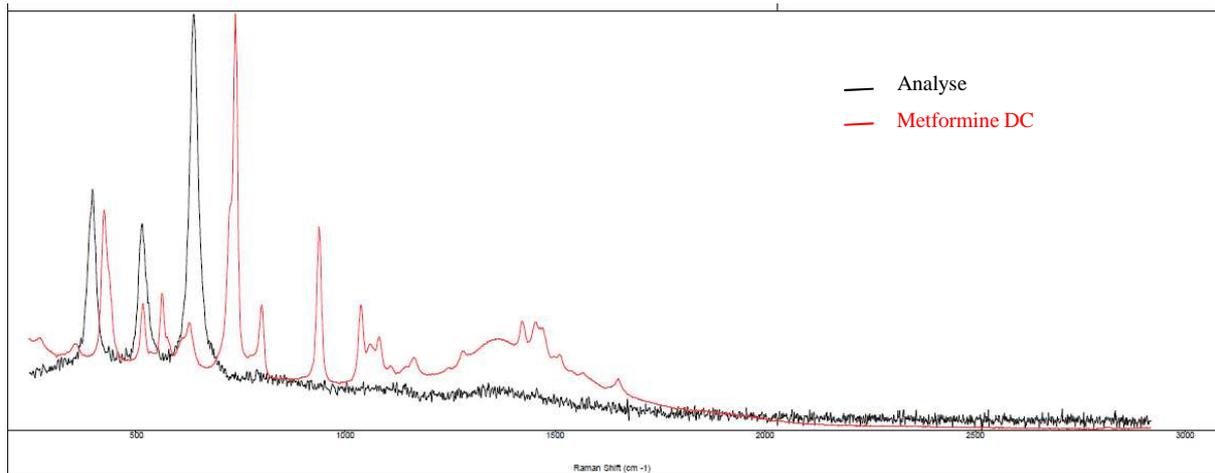


Figure 28 : Spectre de spécificité pour l'opadry avec le Vial holder (Test N°03)

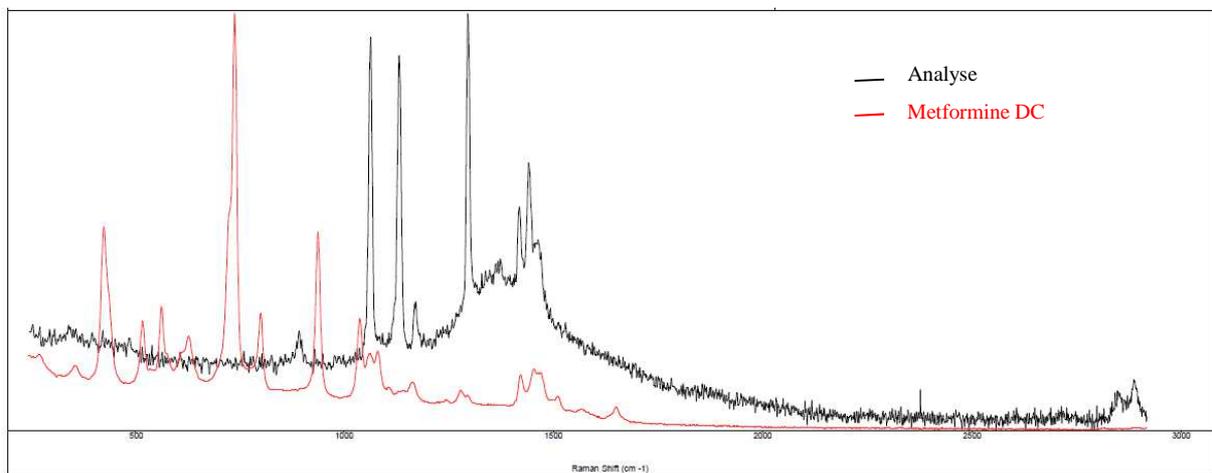


Figure 29 : Spectre de spécificité pour la paraffine avec le Vial holder (Test N°01)

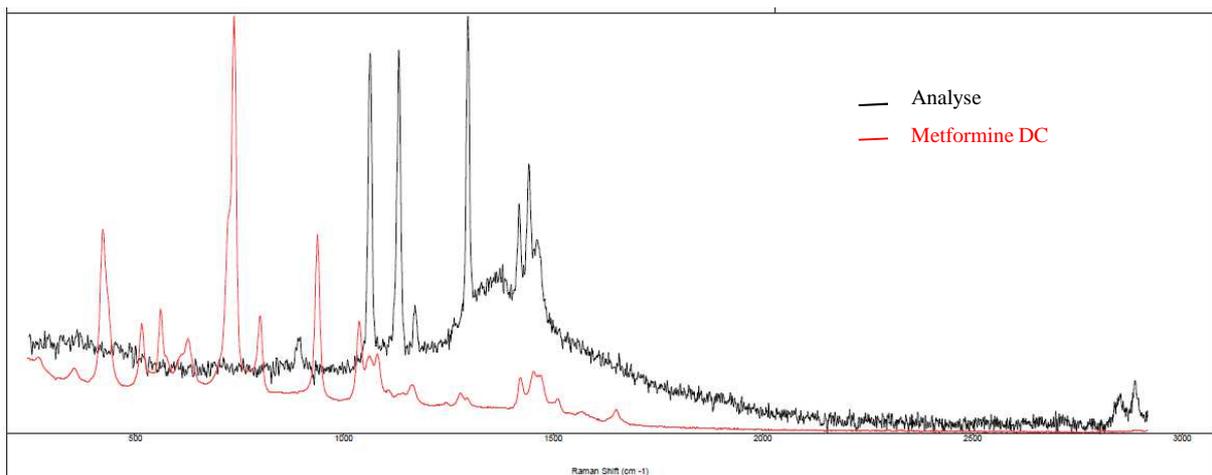


Figure 30 : Spectre de spécificité pour la paraffine avec le Vial holder (Test N°02)

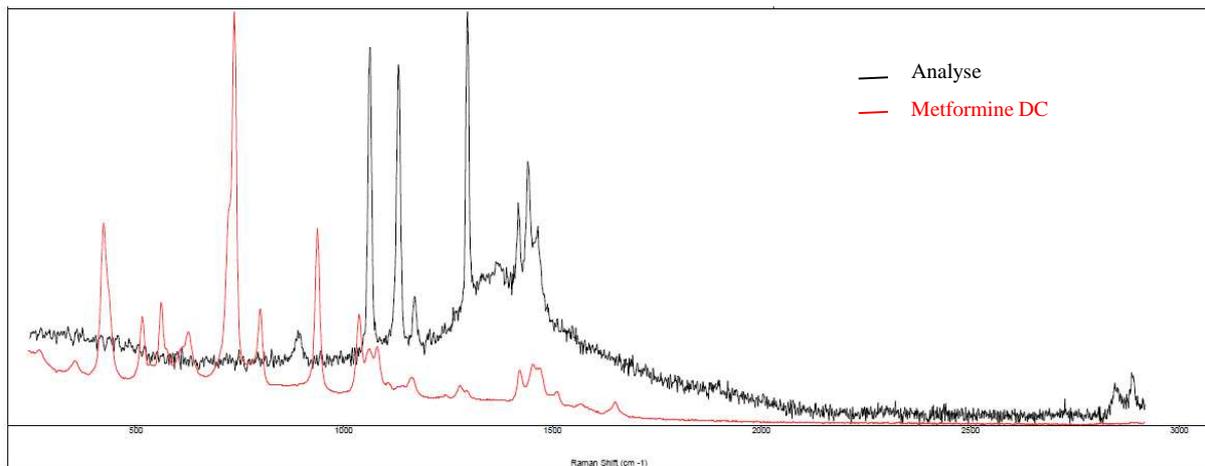


Figure 31 : Spectre de spécificité pour la paraffine avec le Vial holder (Test N°03)

Annexe 5. Résultats des tests de robustesse pour les conditions et recommandation de la méthode du fabricant

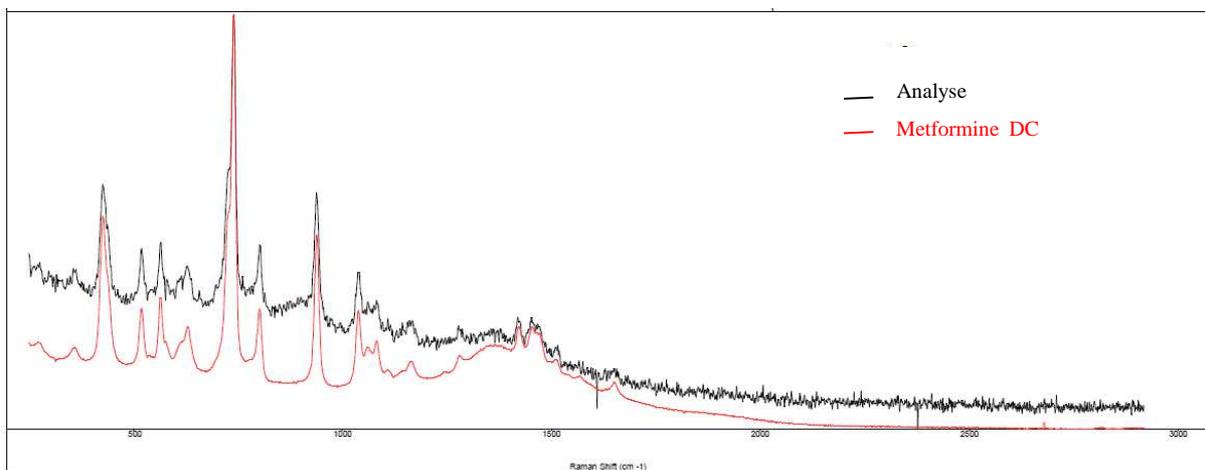


Figure 32 : Spectre de robustesse pour temps nécessaire pour scanner la Metformine DC avec l'unité TruScan (sans accessoires)

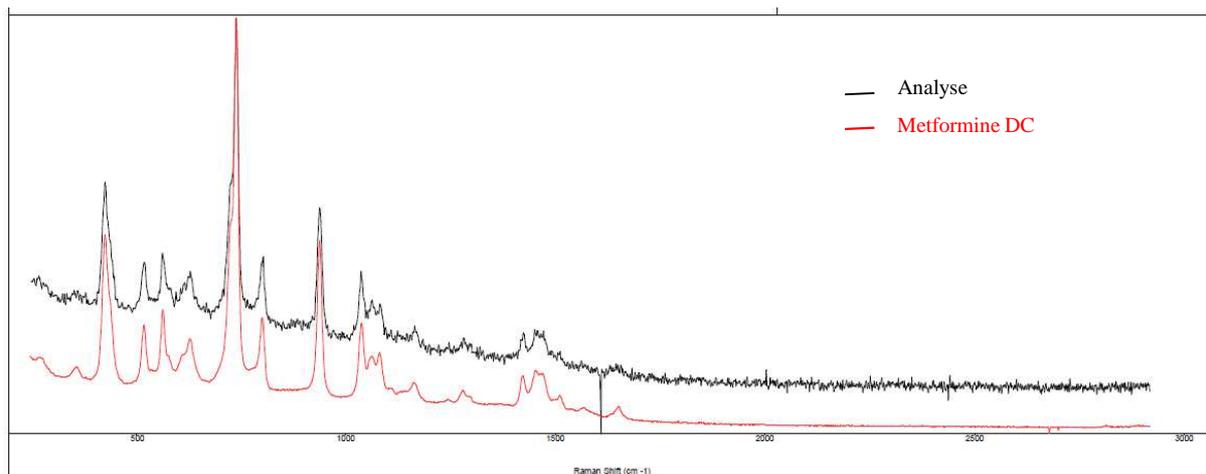


Figure 33 : Spectre de robustesse pour temps nécessaire pour scanner la Metformine DC avec le Nose cone

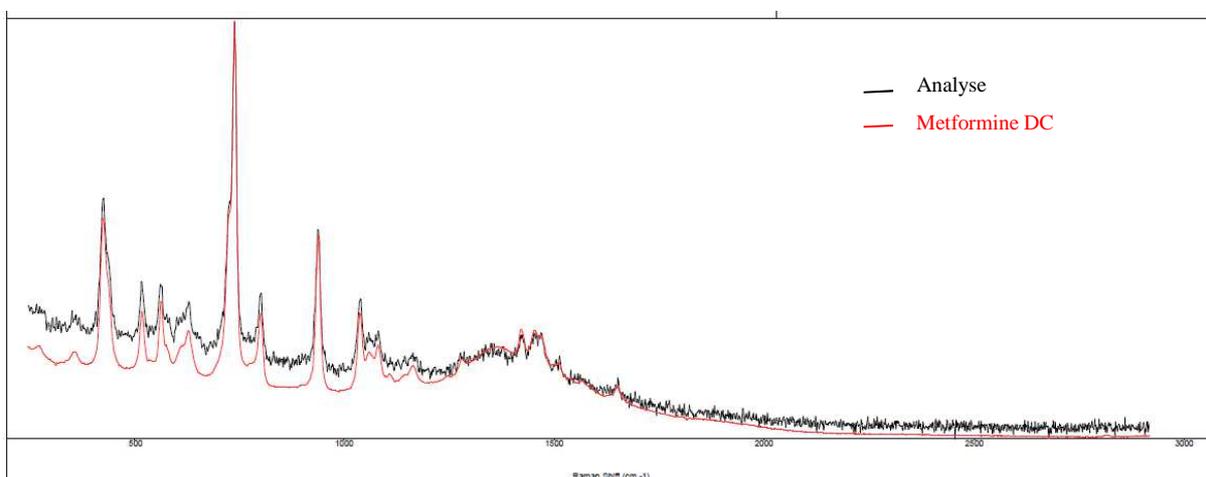


Figure 34 : Spectre de robustesse pour temps nécessaire pour scanner la Metformine DC avec le Vial holder

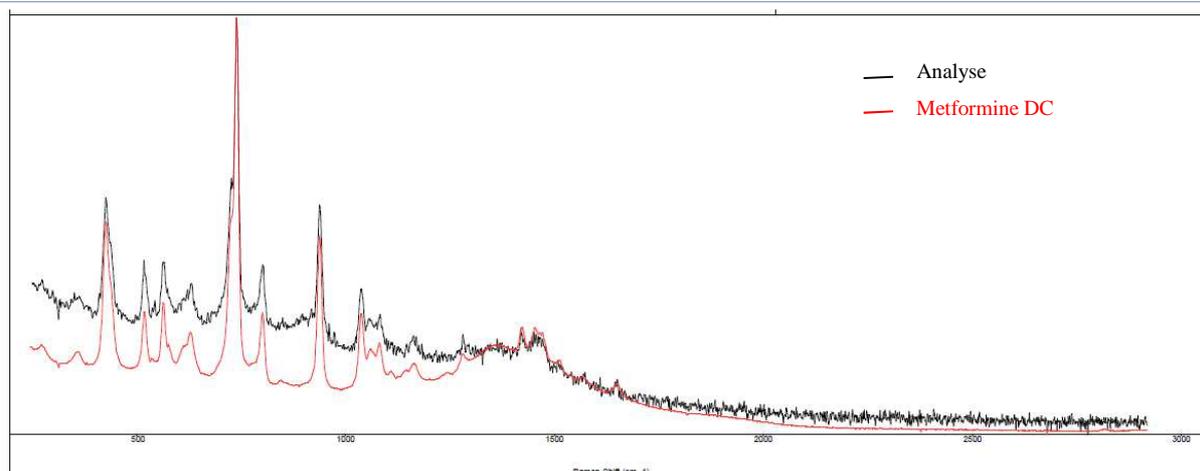
Annexe 6. Résultats des tests de robustesse pour les paramètres pratiques de la méthode

Figure 35 : Spectre de robustesse pour la manipulation des techniciens avec l'unité TruScan (Analyste 01)

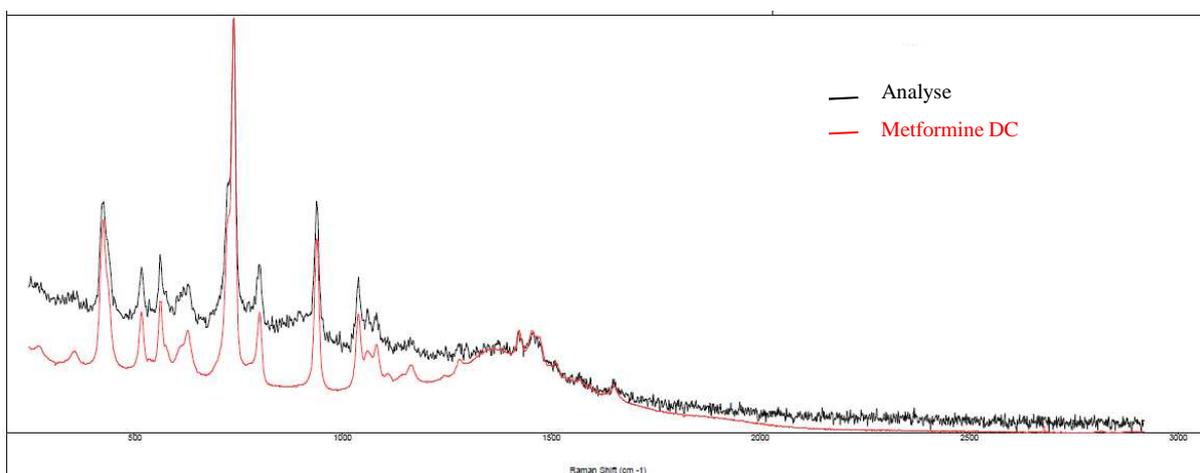


Figure 36 : Spectre de robustesse pour la manipulation des techniciens avec l'unité TruScan (Analyste 02)

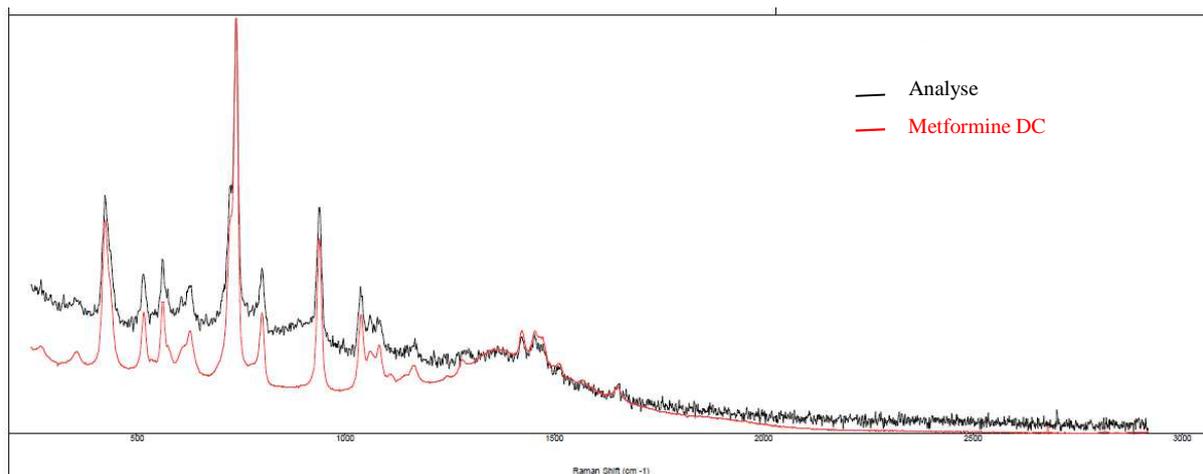


Figure 37 : Spectre de robustesse pour la manipulation des techniciens avec l'unité TruScan
(Analyste 03)

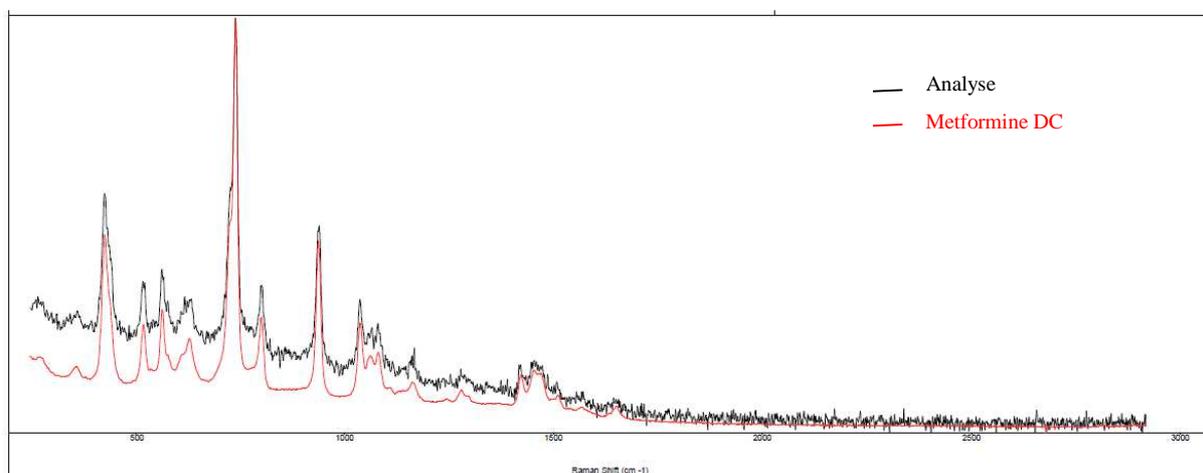


Figure 38 : Spectre de robustesse pour la manipulation des techniciens avec le Nose cone
(Analyste 01)

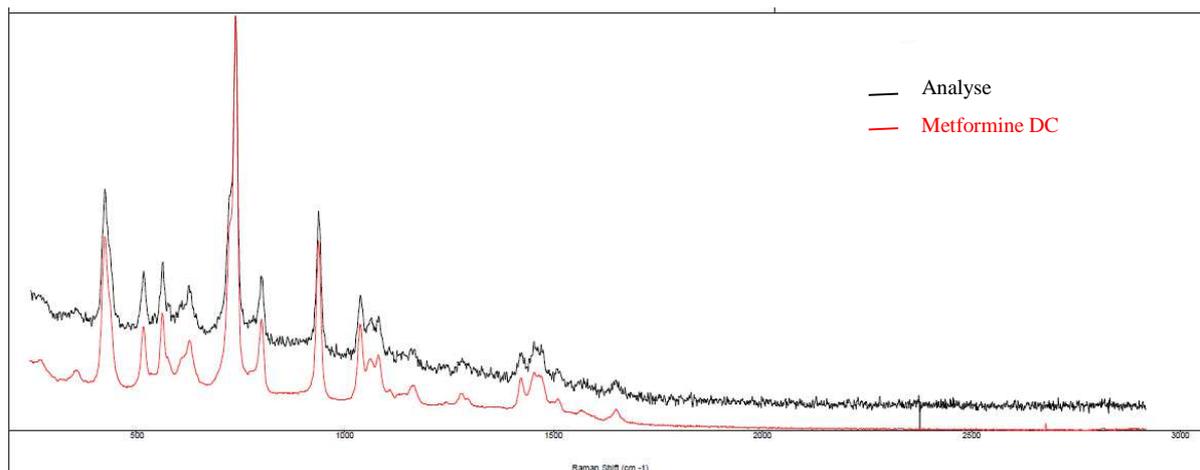


Figure 39 : Spectre de robustesse pour la manipulation des techniciens avec le Nose cone
(Analyste 02)

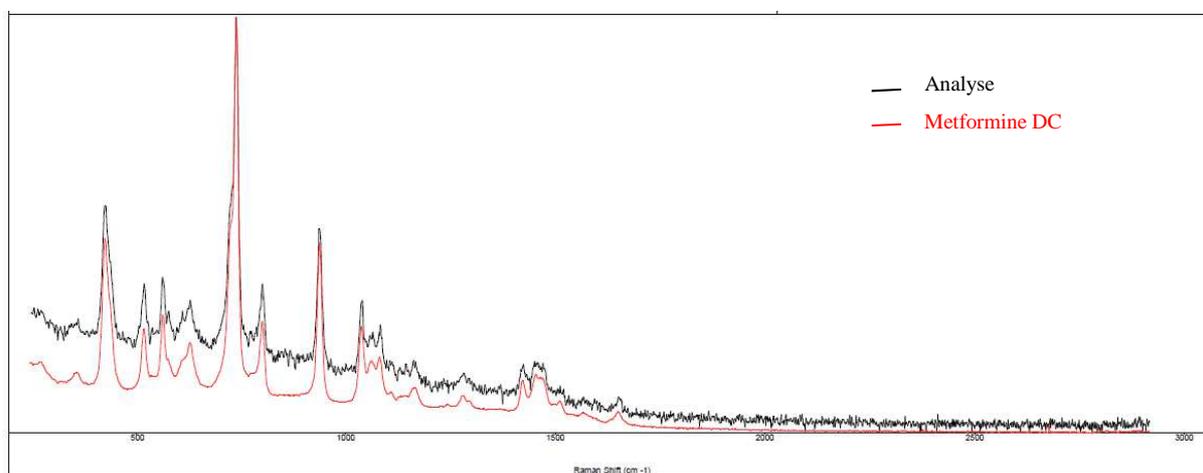


Figure 40 : Spectre de robustesse pour la manipulation des techniciens avec le Nose cone
(Analyste 03)

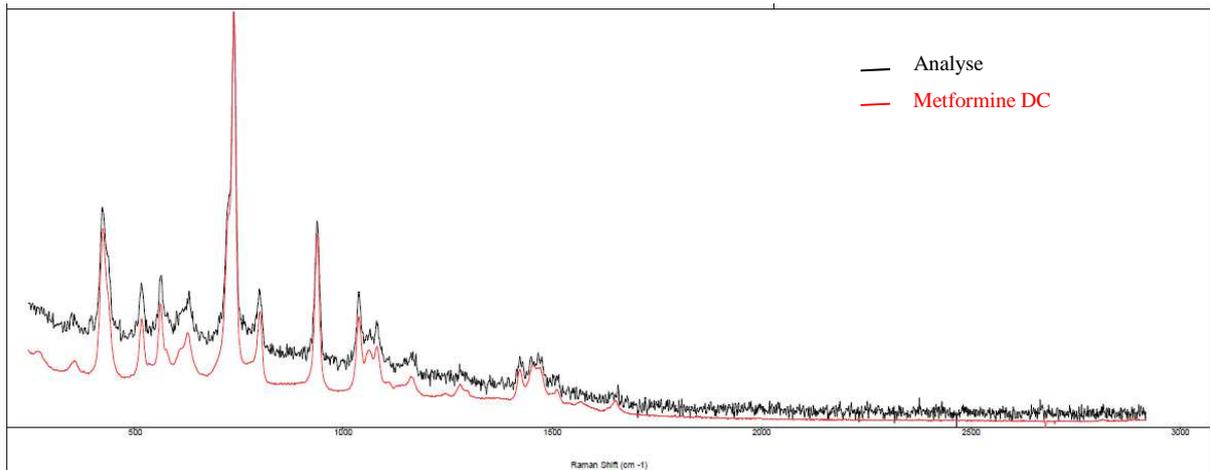


Figure 41 : Spectre de robustesse pour la nature et épaisseur des contenants avec un seul sac en plastique

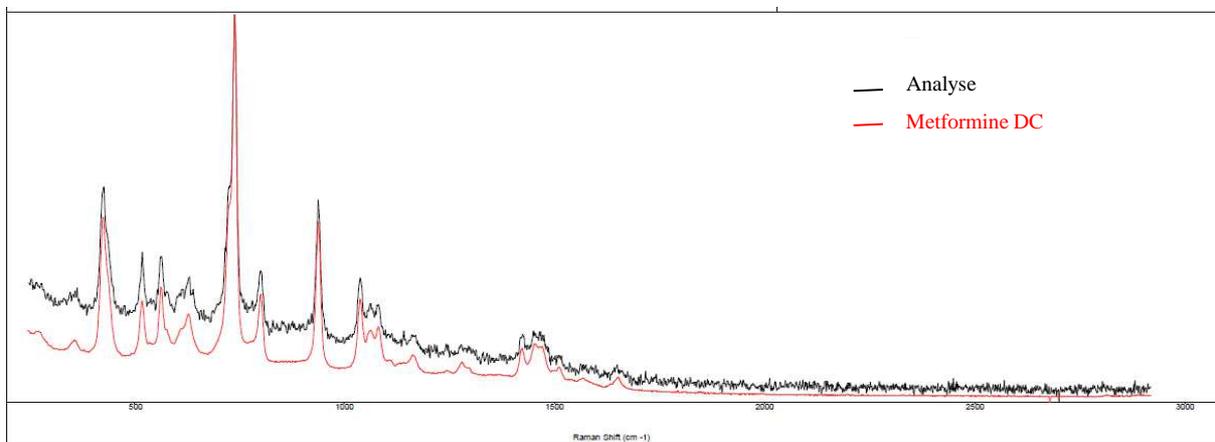


Figure 42 : Spectre de robustesse pour la nature et épaisseur des contenants avec trois sacs en plastique

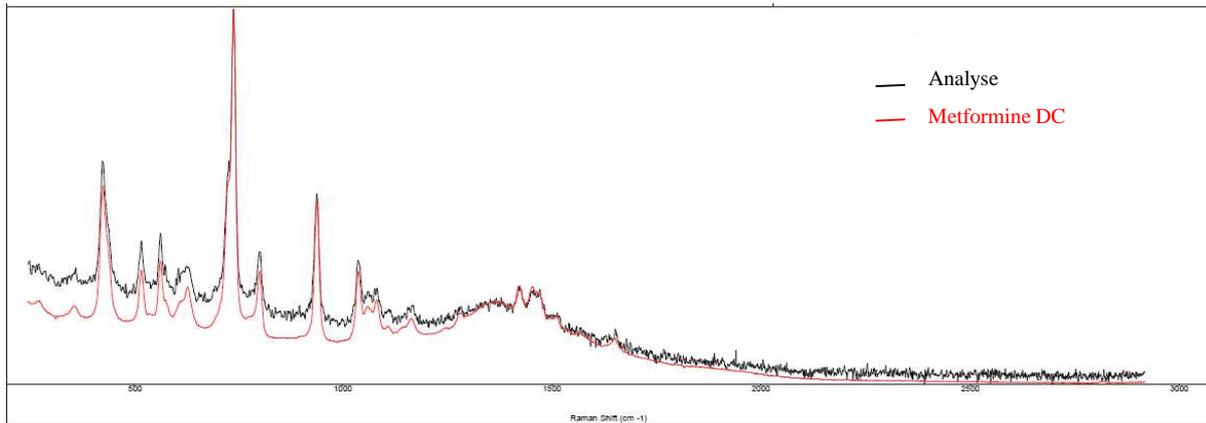


Figure 43 : Spectre de robustesse pour la nature et épaisseur des contenants avec un contenant en verre

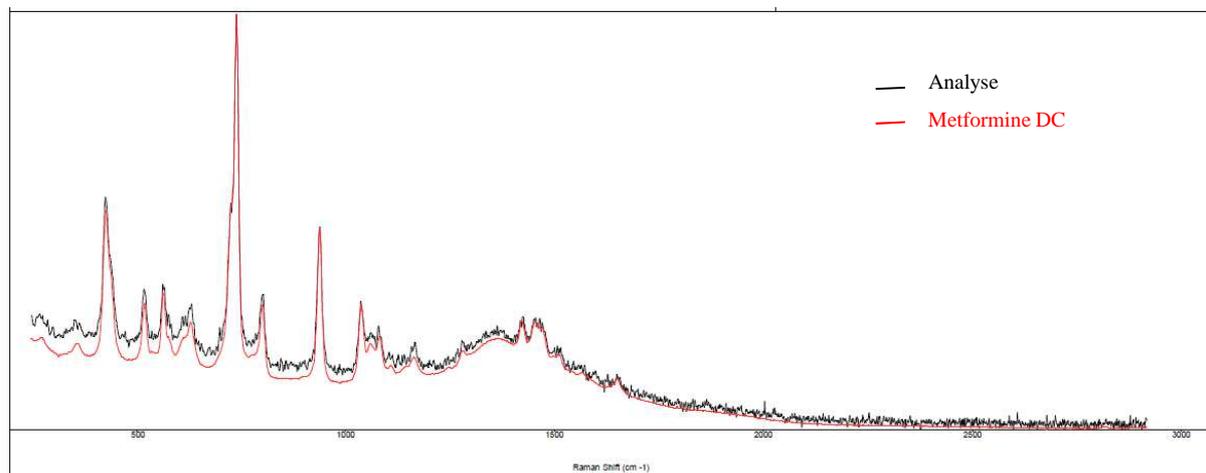


Figure 44 : Spectre de robustesse pour la granulométrie de la Metformine DC sur le granulat écrasé

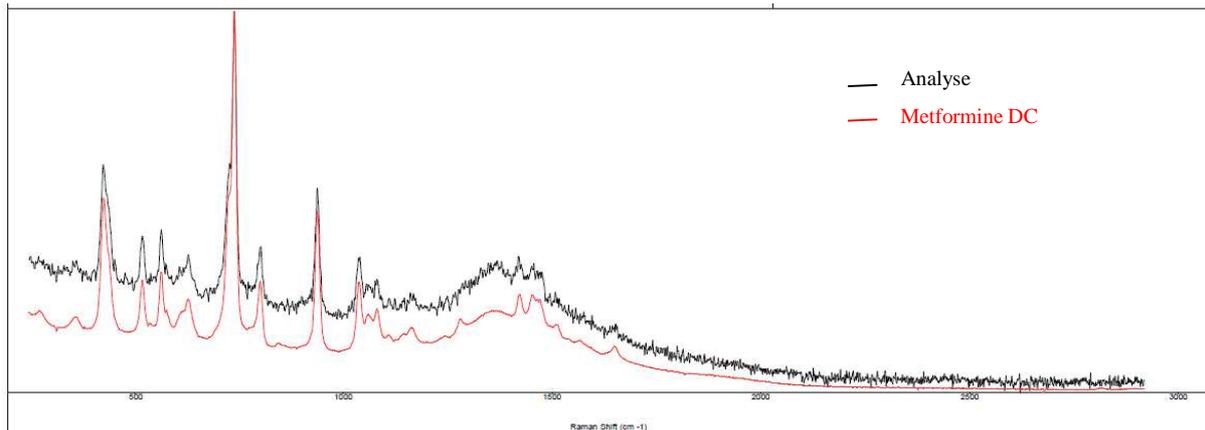


Figure 45 : Spectre de robustesse pour la granulométrie de la Metformine DC sur les morceaux de granulat

Annexe 7. Résultats des tests de robustesse pour les recommandations d'USP et EP

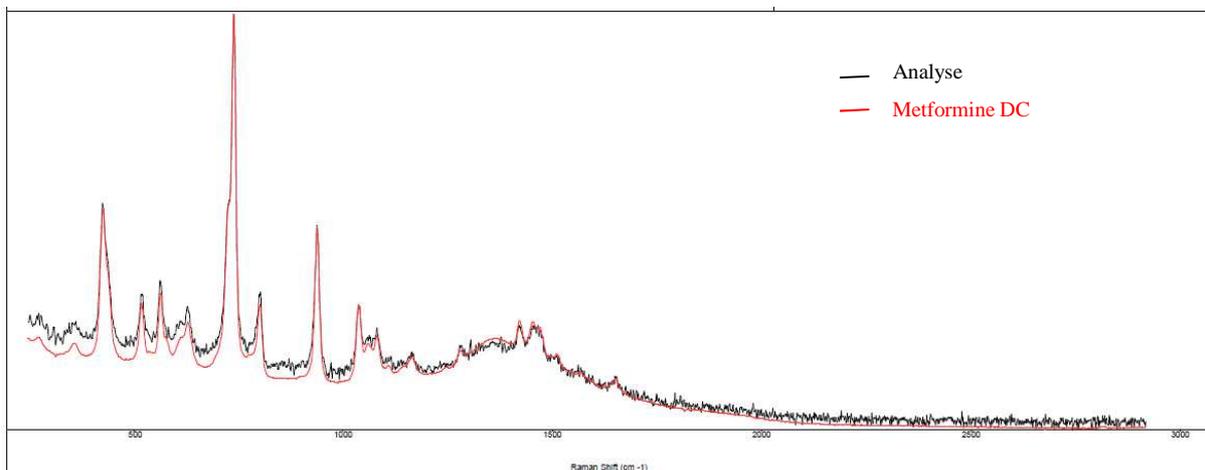


Figure 46 : Spectre de robustesse pour impact du laser sur l'échantillon avec le vial holder

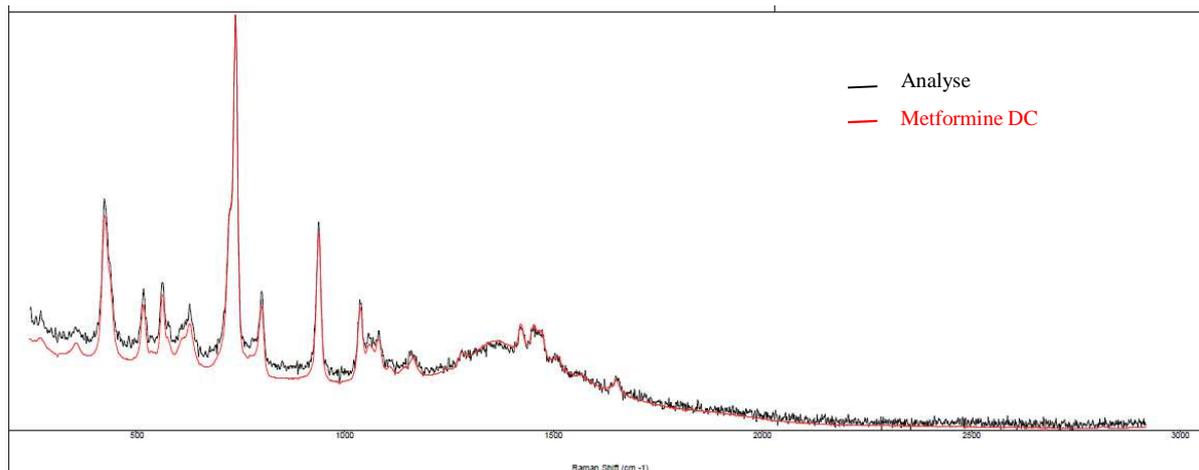


Figure 47 : Spectre de robustesse pour impact du laser sur l'échantillon pour la même face exposée au laser (Test 01)

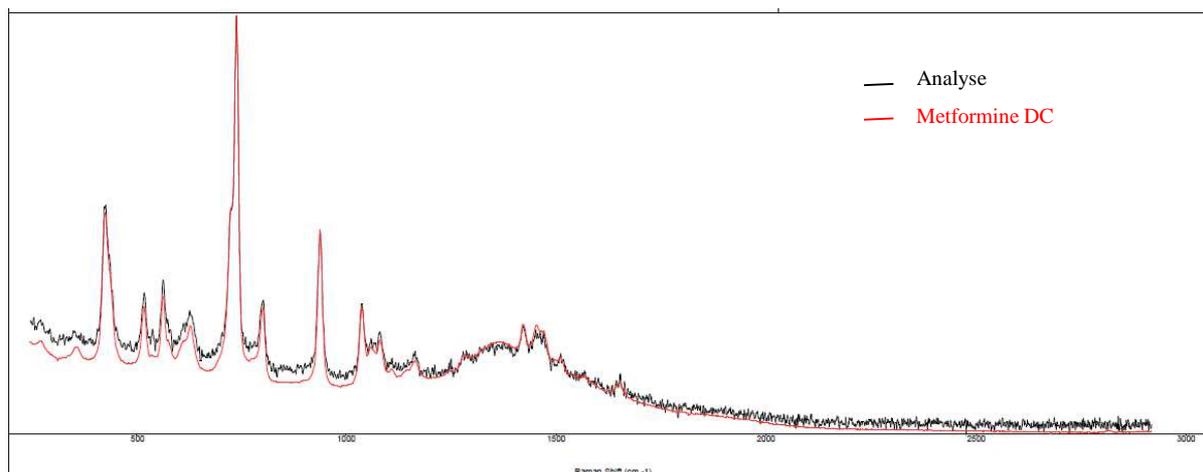


Figure 48 : Spectre de robustesse pour impact du laser sur l'échantillon pour la même face exposée au laser (Test 02)

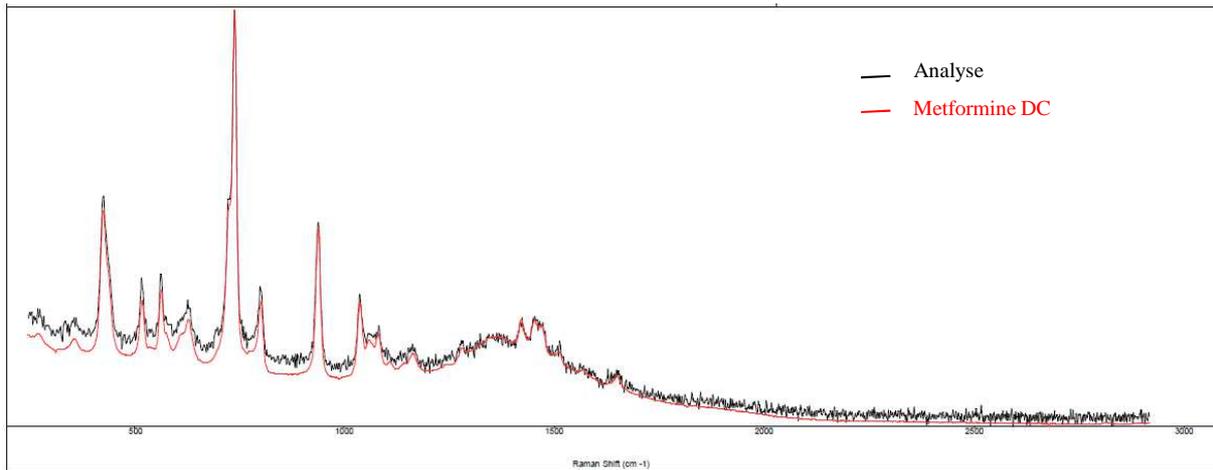


Figure 49 : Spectre de robustesse pour impact du laser sur l'échantillon pour la même face exposée au laser (Test 03)

1. Structure de la Dicyandiamide

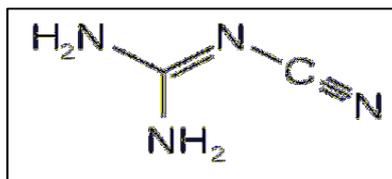


Figure 50 : Structure de la Dicyandiamide

2. Structure de la Mélamine

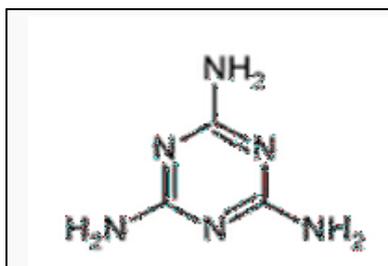


Figure 51 : Structure de la Mélamine

3. Structure de La paraffine

La paraffine est de formule brute C_nH_{2n+2} , On distingue principalement :

- Paraffine solide ($n = 20$ à 40) ;
- Paraffine liquide ($n = 8$ à 19).

Annexe 8. Généralité sur le spectromètre TruScan

1 Spécifications du TruScan

Le TruScan est un équipement robuste et portatif, conçu spécialement pour les tests d'identifications des matières premières et des produits finis de l'industrie pharmaceutique.

Le TruScan offre les fonctionnalités et les avantages suivants [22] :

- Facile à transporter : appareil portatif qui pèse moins de 2 Kg.
- Dispositif spectroscopique: utilisant un Laser de 785 nm comme source lumineuse doté d'un logiciel intégré, deux batteries rechargeables et une valise de transport.
- Robustesse : conçue pour résister aux rigueurs d'une utilisation sur le terrain.

- Facilité d'échantillonnage : l'analyse se fait sans contact avec le produit ce qui accélère le processus d'échantillonnage ; améliore la sécurité des opérateurs et réduit le risque de contamination.

- Mise en œuvre rapide : élaboration et validation rapide de la méthode.
- Facilité d'utilisation : exploitation facile par du personnel non technique ;
- Conformité : conforme à toutes les exigences règlementaires de sécurité et de qualité.

2 Bonnes pratiques pour effectuer une analyse avec le Truscan

La clé pour obtenir un bon scan avec le TruScan est de positionner avec précision le point focal du laser sur la substance inconnue. Le point focal est l'endroit dont le faisceau laser est plus intense et l'échantillon produit le plus grand signal moléculaire. Les Régions du faisceau avant et après ce point sont moins intenses et peuvent ne pas produire assez de signal pour l'identification. Pour l'utilisation, le point focal du laser est positionné de façon permanente à environ 3/4 pouce (18 mm) de l'ouverture du laser dans le nose de l'unité. Le Nose cone ne change pas la position du point focal, Son seul but est d'aider à positionner manuellement l'unité de sorte que le point focal soit au bon endroit pendant l'analyse [19].

- **Sans le Nose cone :** Le point focal est à 3/4 pouce (18 mm) du nose de l'unité.
- **Avec le Nose cone :** Le point focal est un peu moins de 1/4 pouce (5 mm) au-delà de la pointe du Nose cone [19].

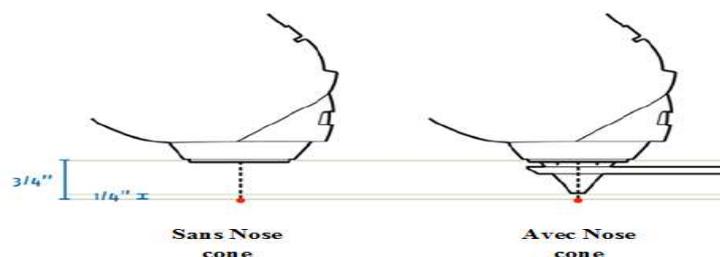


Figure 52 : Point focal et Nose cone [19]

L'appareil affiche généralement des résultats en moins de 30 secondes. Si l'unité affiche un temps de scan estimé de plusieurs minutes, il faut refaire l'analyse en plaçant l'échantillon dans un Vial. Cette situation peut se produire lorsque :

- Le point focal n'est pas correctement positionnée, car la technique du scan utilisée est fautive ou l'analyse s'effectue de façon incorrecte.
- La substance analysée n'a pas de signal moléculaire ou un signal très faible ou fortement fluorescent [19].

Tableau 18 : Récipient à parois minces [19]

Situation	Raisonnement
<p>Récipient en verre ou en plastique translucide ayant une épaisseur de 1/8 pouce (3mm) ou moins.</p>	<div data-bbox="831 584 1209 745" style="text-align: center;"> </div> <p>Le mur est assez fin que le point focal est placé à l'intérieur du récipient. Le contenu est liquide, ainsi le laser peut le pénétrer.</p>

Tableau 19 : Récipient à parois épaisses [19]

Situation	Raisonnement
<p>Récipient en verre ou en plastique translucide ayant une épaisseur plus de 1/8 pouce (3mm).</p>	<div data-bbox="820 1084 1201 1238" style="text-align: center;"> </div> <p>Le Nose cone étant enlevé, le point focal est à environ 3/4 pouce du nose, fournissant assez de distance pour que le point focal soit placé au-delà du mur de récipient</p>

Tableau 20 : Récipients opaques [19]

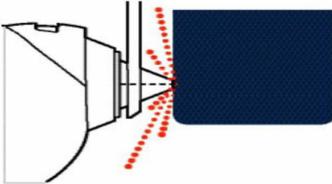
Recommandation	Raisonnement
<p>Le matériel ne peut pas être scanné dans ce type de récipient.</p> <p>Il faut Placer un échantillon dans un Vial.</p> 	 <p>Le laser ne peut pas pénétrer ce type de récipient.</p>

Tableau 21 : Scan dans un Vial [19]

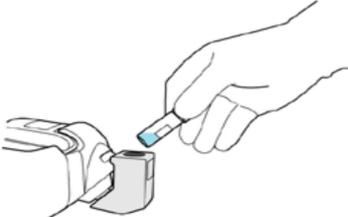
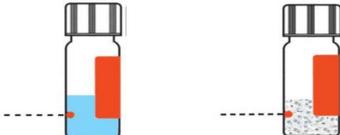
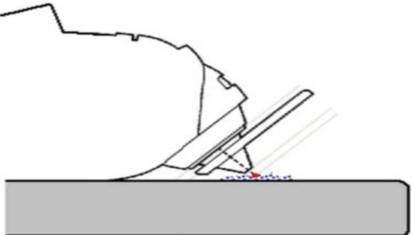
Situation	Raisonnement
<p>Échantillon liquide ou en poudre</p> 	<p>le volume d'échantillon assure que le point focal est correctement positionné quand le Vial est placée dans le support.</p> 

Tableau 22: Scan d'une Poudre exposée sur une surface [19]

Situation	Raisonnement
<p>Échantillon en poudre</p> 	<p>Quand TruScan se trouve à plat sur une surface, le point focal est juste au-dessus de la surface.</p>

1.1.1 Création d'une méthode dans le TruScan

La méthode consiste à rassembler un ou plusieurs spectres " spectres de référence Raman " d'un matériel, et les activer en employant le logiciel " DecisionEngine " de

l'équipement. Ces spectres constituent la bibliothèque de référence liés à la méthode pour un matériel spécifique [19].

Pour vérifier l'identité d'un matériel, il faut d'abord effectuer un autotest permettant à l'équipement de vérifier sa convenance opérationnelle en utilisant un des standards suivants (Acetaminophen, Benzonitrile, Cyclohexane, Toluène, Polystyrène) [19].

Ensuite, spécifier la méthode pour le matériel concerné par l'étude et lancer le test d'identification. DecisionEngine exécute donc l'analyse des données, en les comparant aux données de la méthode (chacun des spectres de référence est lié à la méthode) [19].

- S'il n'y a aucune anomalie significative entre les données mesurées et les données de la méthode (signifie que le spectre mesuré des matériaux peut être considéré équivalent à un des spectres de référence liés à la méthode). DecisionEngine renvoie un résultat de " PASS " [19].
- S'il y a une anomalie significative entre les données mesurées et les données de la méthode. DecisionEngine renvoie un résultat de " FAIL " de la méthode [21].

L'analyse effectuée par le TruScan en temps réel compare le spectre Raman de la mesure du matériel au spectre de la documentation de référence. Les spectres sont considérés conformes si le spectre mesuré fait partie des limites statistiques multi variables définies par l'incertitude de la mesure. L'incertitude de la mesure est déterminée en temps réel basé sur les propriétés connues de l'instrument et les propriétés mesurées de l'environnement telles que les niveaux lumineux ambiants. Le résultat de l'évaluation statistique est une p-value [19].

Si le p-value est en-dessous de 0.05, le matériel d'essai est considéré statistiquement différent de la documentation de référence [19].



Figure 53 : Spectromètre TruScan [19]

Annexe 9. Terminologies

1 Définition du diabète sucré

Le diabète se définit par l'existence d'une hyperglycémie chronique. Le taux normal de la glycémie chez l'adulte se situe entre 0.80g/l et 1.10g/l à jeun (soit 4.3 à 6.1 mmol/l).

Le diagnostic du diabète sucré est simple et repose sur le dosage de la glycémie à jeun (Après 8 à 12 heures de jeûne) [23].

- Si la glycémie est supérieure à 1.26 g/l (7mmol/l), le sujet est diabétique. Pour les valeurs limites comprise entre 1.20 et g/l, il est nécessaire de confirmer le résultat par un second dosage [23] ;
- Si la glycémie est comprise entre 1.10 et 1.26 g/l, le sujet est dit atteint d'hyperglycémie à jeun. S'il n'est pas encore diabétique, il risque de le devenir en l'absence de prise en charge (après amaigrissement, la glycémie peu revenir à une valeur normale) [23].

1.1 Type de diabète et traitement

Il existe différent type de diabète:

1.1.1 Diabète insulino dépendant ou diabète de type 1

Il touche surtout les enfants et les adolescents et ferait partie des maladies auto-immunes. Ce type de diabète est traité par l'injection d'insuline.

1.1.2 Diabète non insulino dépendant (DNID) ou diabète de type 2

Appelé également diabète gras, se rencontre généralement chez des personnes de plus de quarante ans et son évolution est lente. On n'observe très souvent aucun symptôme clinique et seul des taux de glucose élevés dans le sang et les urines permettent de détecter la maladie. Le diabète de type 2 est une maladie qui, dans la majorité des cas, est associée à l'obésité.

Le traitement du diabète du type II se fait avec deux sortes de médicaments :

- Médicaments qui aident à sécréter de l'insuline.
- Médicaments qui améliorent la sensibilité des cellules à l'insuline.

Parmi les hypoglycémiantes oraux, on distingue :

- Les sulfamides hypoglycémiantes ;
- Les biguanides (Metformine) ;

- Les inhibiteurs des alphas glucosides.

2 Médicament

On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique...)[23].

3 Principe actif (substance active)

Tout composant d'un médicament, qui est destiné à exercer une action pharmacologique ou un autre effet direct en rapport avec le diagnostic, le traitement la prévention d'une maladie, ou à agir sur la structure, les fonctions de l'organisme humain ou animal par des moyens pharmacologiques. Un médicament peut contenir plusieurs principes actifs. Terme équivalent : substance active [23].

4 Excipient

Tout composant, autre que le principe actif, qui est présent dans un médicament ou utilisé pour sa fabrication. La fonction d'un excipient est de servir de vecteur au principe actif, ou d'entrer dans la composition du vecteur, contribuant ainsi à certaines propriétés du produit, telles que la stabilité, le profil biopharmaceutique, l'aspect et l'acceptabilité pour le patient, la facilité de fabrication. La formulation d'un médicament comprend généralement plusieurs excipients [23].

5 Comprimé

Les comprimés sont des préparations solides, contenant une unité de prise d'un ou plusieurs principes actifs. Ils sont généralement obtenus en agglomérant par compression, un volume constant de particules. Ils sont destinés à la voie orale [24].

6 Matière première

Toute substance utilisée dans la fabrication d'un médicament, à l'exclusion des articles de conditionnements [24].

7 Article de conditionnement (ADC)

Tout élément utilisé lors du conditionnement des médicaments, à l'exclusion de l'emballage destiné au transport ou à l'expédition. Les articles de conditionnement sont appelés primaires ou secondaires selon qu'ils sont respectivement destinés ou non à être en contact direct avec le médicament [24].

8 Lot

Quantité définit d'une matière première, d'un article de conditionnement ou d'un produit fabriqué en une opération ou en une série d'opération, telle qu'elle puisse être considérée comme homogène [24].

9 Zone contrôlée

Zone construite et utilisée de manière à limiter l'introduction de contaminations éventuelles, ainsi que les conséquences d'une fuite accidentelle d'organismes vivants. Le degré de contrôle exercé doit refléter la nature de l'organisme utilisé. Cette zone doit, au minimum, être maintenue en dépression par rapport à son environnement immédiat et permettre une élimination efficace des contaminations de l'air [24].

10 Produit Fini

Médicament qui a subi tous les stades de fabrication y compris le conditionnement[24].

11 Produit Vrac

Produit qui a subi toute les étapes de la fabrication à l'exclusion du conditionnement final [24].

12 Photon

Particule élémentaire, de masse et de charge nulle, le photon est l'aspect corpusculaire de la lumière [25].

13 Longueur d'onde, Nombre d'onde, Fréquence

Les radiations électromagnétiques peuvent être caractérisées par l'un ou l'autre des paramètres suivants [11] :

- Longueur d'onde (λ) : longueur d'une onde ;
- Nombre d'onde ($\bar{\nu}$) : nombre d'ondes par unité de longueur ;
- Fréquence (ν) : nombre de vibrations par unité de temps.

Ces paramètres sont liés entre eux par la relation :

$$\bar{v} = \frac{v}{C} = \frac{1}{\lambda}$$

Avec, C : vitesse de la lumière (3×10^8 m. s⁻¹).

14 Laser

Les lasers sont des dispositifs qui amplifient ou augmentent l'intensité de la lumière pour produire un faisceau fortement directionnel et à haute intensité qui a typiquement une fréquence ou une longueur d'onde très pure.

Le mot " laser " est l'acronyme de l'anglais " Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation " (" amplification de la lumière par émission stimulée de radiations ") [26].

Les lasers sont généralement classés selon le risque posé par la quantité et le type de la lumière qu'ils émettent, des lasers les non dangereux aux lasers les plus dangereux comme suit [27]:

- Classe I : où le rayonnement laser est habituellement contenu dans le produit, comme les imprimantes à laser et les lecteurs de CD.
- Classe II et IIa : produits incluent des lecteurs de code à barres.
- Classe IIIa : produits incluent des indicateurs de laser.
- Classe IIIb et IV : produits incluent des expositions au laser, lasers industriels, lasers de recherche.

15 Spectre

Graphique obtenu expérimentalement donnant la répartition dans l'espace d'une grandeur physique, champ électrostatique, ou la composition d'un rayonnement en fonction de la longueur d'onde(ou fréquence) de ces constituants [28].

16 Raie

Partie d'une courbe représentant un spectre, en forme de pic ou de creux de faible largeur [29].

17 Filtres notch

Les filtres notch holographiques en transmission, mettent à profit la diffraction par un hologramme de grande épaisseur pour extraire d'un rayonnement polychromatique incident,

une bande spectrale très étroite avec un taux de réjection très élevée sans pratiquement altérer le reste du rayonnement transmis par le filtre, ce qui procure aux dispositifs auxquels ils sont associés une luminosité très élevée [10].

18 Fluorescence

La fluorescence est une luminescence qui se produit où l'énergie est assurée par un rayonnement électromagnétique. Lorsque l'électron d'un atome absorbe de l'énergie, il passe d'un état d'énergie inférieure à un état excité, il libère une énergie sous forme de lumière (luminescence) quand il retombe à un état d'énergie inférieure [30].

- [1] Intra web: NNAPP.
- [2] Document interne à NNAPP : Suivie journalier de température et d'humidité relative en zone contrôlée à NNAPP.2011.
- [3] Document interne à NNAPP : Production de la Metformine 1000 mg, 850 mg et 500 mg.
- [4] Pharmacopée européenne, édition 7.2008.
- [5] Document interne à NNAPP : Spécifications techniques du granulat de la Metformine.2012.
- [6] Module 2 du dossier d'AMM de la Metformine HCl.
- [7] Document interne à NNAPP : Méthode de contrôle du granulat de la Metformine .2012.
- [8] Philippe COLOMBAN. Imagerie Raman de matériaux et dispositifs hétérogènes. Techniques de l'ingénieur.2002.re5.
- [9] Jean-Pierre GALAUP. Spectroscopie Raman. Master « Optique et photonique, laser et applications ». Colombia : Université d'Antioquia, 2006, p11.
- [10] Jacques BARBILLAT, Daniel BOUGERARD, Guy BUNTNX, et al. Spectrométrie Raman. Techniques de l'ingénieur. 1999. p2865.
- [11] D.R. BROWNING. Méthodes spectroscopiques. Masson et C^{ie} Editeurs, Paris : 1974, p49.
- [12] K.S. KRISHNAM, A. ANDERSON .The Raman effect. Marcel Dekker. New York. 1971.
- [13] René POILBLANC, François CRANSIER. Spectroscopies Infrarouge et Raman. EDP sciences, 2006, p317.
- [14] United State Pharmacopeia (USP). 2013.
- [15] Michel DELHAYE, Jacques CORSET, Michel BRIDOUX, Marie-Hélène BARON Spectrométrie Raman. Techniques de l'ingénieur. 1986. p2865.
- [16] Marianne RAYNAUD. Validation du procédé de fabrication dans l'industrie pharmaceutique, appliquée aux formes solides orales. Thèse de doctorat. Limoge : Université de limoge, faculté de pharmacie, 2011, p11.
- [17] Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, bonnes pratiques de fabrication, Bulletin officiel N°2011/8 bis.
- [18] ICH Harmonised Tripartite Guideline.2005.
- [19] TruScan User Manual. Ahura Scientific.1992.
- [20] Manuel d'utilisation du micromètre.
- [21] Document interne à NNAPP: Laboratory Equipment, Analytical Procedures and Method Validation.

- [22] Document interne à NNAPP : Utilisation et maintenance du spectromètre Raman TruScan.
- [23] J.-M. AIACHE, E.BEYSSAC, J.-M. CARDOT, V. HOFFART, R. RENOUX. Initiation à la connaissance du médicament (cours et exercices corrigés). MASSON. 2008. 405p.
- [24] Pharmacopée européenne.2011.
- [25] Centre national de la recherche scientifique. Définition d'un photon [En ligne]. Disponible sur : <<http://www.cnrs.fr>>.
- [26] William T. Silfvast. Fundamentals of Photonics (COURS). University of Central Florida, Florida.
- [27] Important Information for Laser Pointer Manufacturers [En ligne]. Disponible sur : <<http://www.FDA.gov>>.
- [28] Centre national de ressources textuelles et lexicales. Définition d'un spectre [En ligne]. Disponible sur <<http://www.CNRTL.fr>>
- [29] Définition d'une raie [En ligne]. Disponible sur : <<http://www.Larousse.fr>>
- [30] Chemistry glossary. Definition of fluorescence [En ligne]. Disponible sur : <<http://chemistry.about.com>>.

Figure 1 : Structure de la Metformine HCl	5
Figure 2 : Interaction entre un photon et la matière caractérisée par des niveaux d'énergie vibrationnelle.....	9
Figure 3 : Dispositif d'un spectromètre Raman	9
Figure 4 : Vue avant et arrière de l'équipement TruScan	18
Figure 5 : Accessoires du TruScan.....	19
Figure 6 : Nose et configuration du Nose cone.....	19
Figure 7 : Vial holder	20
Figure 8 : Support de comprimé.....	20
Figure 9 : Micromètre	20
Figure 10 : Spectre de l'autotest.....	38
Figure 11 : Spectre de spécificité pour le lot N° 01 avec l'unité TruScan (sans accessoires)	37
Figure 12 : Spectre de spécificité pour le lot N°01 avec le Nose cone	37
Figure 13 : Spectre de spécificité pour le lot N°01 avec le Vial holder.....	38
Figure 14 : Spectre de spécificité pour le lot N°02 avec l'unité TruScan (sans accessoires).....	38
Figure 15 : Spectre de spécificité pour le lot N° 02 avec le Nose cone	38
Figure 16 : Spectre de spécificité pour le lot N° 02 avec le Vial holder.....	39
Figure 17 : Spectre de spécificité pour le lot N° 03 avec l'unité TruScan (sans accessoires)	39
Figure 18 : Spectre de spécificité pour le lot N°03 avec l'unité TruScan (sans accessoires)	40
Figure 19 : Spectre de spécificité pour le lot N° 03 avec le Nose cone	40
Figure 20 : Spectre de spécificité pour la dicyandiamid avec le Vial holder (Test N°01).....	41
Figure 21 : Spectre de spécificité pour la dicyandiamid avec le Vial holder (Test N°02).....	41
Figure 22 : Spectre de spécificité pour la dicyandiamid avec le Vial holder (Test N°03).....	42
Figure 23 : Spectre de spécificité pour la Mélamine avec le Vial holder (Test N°01)	42

Figure 24 : Spectre de spécificité pour la Mélamine avec le Vial holder (Test N°02)	42
Figure 25 : Spectre de spécificité pour la Mélamine avec le Vial holder (Test N°03)	43
Figure 26 : Spectre de spécificité pour l’opadry avec le Vial holder (Test N°01).....	43
Figure 27 : Spectre de spécificité pour l’opadry avec le Vial holder (Test N°02).....	43
Figure 28 : Spectre de spécificité pour l’opadry avec le Vial holder (Test N°03).....	44
Figure 29 : Spectre de spécificité pour la paraffine avec le Vial holder (Test N°01).....	44
Figure 30 : Spectre de spécificité pour la paraffine avec le Vial holder (Test N°02).....	44
Figure 31 : Spectre de spécificité pour la paraffine avec le Vial holder (Test N°03).....	45
Figure 32 : Spectre de robustesse pour temps nécessaire pour scanner la Metformine granulat avec l’unité TruScan (sans accessoires)	45
Figure 33 : Spectre de robustesse pour temps nécessaire pour scanner la Metformine granulat avec le Nose cone.....	46
Figure 34 : Spectre de robustesse pour temps nécessaire pour scanner la Metformine granulat avec le Vial holder.....	46
Figure 35 : Spectre de robustesse pour la manipulation des techniciens avec l’unité TruScan (Analyste 01).....	47
Figure 36 : Spectre de robustesse pour la manipulation des techniciens avec l’unité TruScan (Analyste 02).....	47
Figure 37 : Spectre de robustesse pour la manipulation des techniciens avec l’unité TruScan (Analyste 03).....	48
Figure 38 : Spectre de robustesse pour la manipulation des techniciens avec le Nose cone (Analyste 01).....	48
Figure 39 : Spectre de robustesse pour la manipulation des techniciens avec le Nose cone (Analyste 02).....	49
Figure 40 : Spectre de robustesse pour la manipulation des techniciens avec le Nose cone (Analyste 03).....	49

Figure 41 : Spectre de robustesse pour la nature et épaisseur des contenants avec un seul sac en plastique.....	50
Figure 42 : Spectre de robustesse pour la nature et épaisseur des contenants avec trois sacs en plastique	50
Figure 43 : Spectre de robustesse pour la nature et épaisseur des contenants avec un contenant en verre	51
Figure 44 : Spectre de robustesse pour la granulométrie de la Metformine granulat sur le granulat écrasé.....	51
Figure 45 : Spectre de robustesse pour la granulométrie de la Metformine granulat sur les morceaux de granulat	52
Figure 46 : Spectre de robustesse pour impact du laser sur l'échantillon avec le vial holder	52
Figure 47 : Spectre de robustesse pour impact du laser sur l'échantillon pour la même face exposée au laser (Test 01)	53
Figure 48 : Spectre de robustesse pour impact du laser sur l'échantillon pour la même face exposée au laser (Test 02)	53
Figure 49 : Spectre de robustesse pour impact du laser sur l'échantillon pour la même face exposée au laser (Test 03)	54
Figure 50 : Structure de la dicyandiamid	55
Figure 51 : Structure de la Mélamine.....	55
Figure 52 : Point focal et Nose cone	56
Figure 53 : Spectromètre TruScan	60

Tableau 1 : Propriétés physicochimiques et organoleptiques du chlorhydrate de Metformine..	5
Tableau 2 : Composition qualitative de la Metformine DC en principe actif et en excipients...	6
Tableau 3 : Lasers utilisés dans des applications pharmaceutiques.....	36
Tableau 4 : Tests de validation recommandés par les ICH.....	15
Tableau 5 : Résultats de l'autotest	26
Tableau 6 : Résultats des tests de spécificité pour la Metformine granulat.....	26
Tableau 7 : Caractérisation de quelques liaisons de la Metformine HCl.....	27
Tableau 8 : Résultats des tests de spécificité pour la dicyandiamid, Mélamine, opadry et paraffine	28
Tableau 9 : Résultats des tests de robustesse pour temps nécessaire pour scanner la Metformine granulat.....	29
Tableau 10 : Résultats des tests de robustesse pour la qualité du spectre Raman	29
Tableau 11 : Résultats des tests de robustesse pour la manipulation des techniciens	30
Tableau 12 : Résultats des tests de robustesse pour la nature et épaisseur des contenants.....	31
Tableau 13 : Résultats des tests de robustesse pour la granulométrie de la metformine granulat.....	31
Tableau 14 : Résultats des tests de robustesse pour l'impact de la fluorescence du matériel	32
Tableau 15 : Résultats des tests de robustesse pour l'impact du laser sur l'échantillon avant l'acquisition des spectres.....	33
Tableau 16 : Résultats des tests de robustesse pour l'aspect visuel de la metforine granulat après l'acquisition des spectres	33
Tableau 17 : Résultats des tests de robustesse des spectres acquis pour la face exposée au laser	33
Tableau 18 : Récipient à parois minces	57
Tableau 19 : Récipient à parois épaisses.....	57

Tableau 20 : Récipients opaques..... 58

Tableau 21 : Scan dans un Vial..... 58

Tableau 22 : Scan d'une Poudre exposée sur une surface 58

Résumé

Le test d'identification de la matière première "Metformine DC" est réalisé par la technique d'analyse "spectroscopie Raman", vu que les autres techniques (HPLC ou NIR) nécessitent des préparations préalables d'échantillon et un temps d'analyse lent.

L'objectif principal de notre travail est d'étudier la validation analytique de la méthode d'identification de la Metformine DC par spectroscopie Raman, en se référant aux conditions et recommandations des ICH, des pharmacopées et de la méthode du fabricant du spectromètre Raman "TruScan" utilisé dans notre travail.

Tous les résultats obtenus par l'étude des deux paramètres de validation spécificité et robustesse de la méthode d'identification de la Metformine DC sont conformes et dans les limites de spécification. La méthode "Metformine granulat" utilisée par l'équipement "TruScan" est spécifique à la Metformine DC, Robuste et fiable selon les trois études d'évaluations (conditions et recommandations du fabricant du spectromètre "TruScan", paramètres pratiques de la méthode et conditions d'USP et d'EP).

Mots clés : Validation, Metformine DC, identification, spectroscopie Raman, TruScan.