

N° d'ordre :

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

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE
FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Thème

Transfert analytique et contrôle physico-chimique du produit fini d'un médicament inhibiteur d'aromatase dans le cancer du sein

Présenté par : **HADJ SAID Dahbia**

MEZIANI Dehbia

Soutenu publiquement, le 13/07/2022, devant le Jury composé de :

| | | | | |
|---------------|---------------------|--|--------------|---------------------|
| KHIAR | CHAHINEZ | MCB | UMMTO | PRESIDENTE |
| IDRIS | IMANE | MCB | UMMTO | PROMOTRICE |
| KRITA | BILLEL | SUPERVISEUR CONTROLE QUALITE | | CO-PROMOTEUR |
| KHELIF | MERIEM SANAA | ASSISTANTE EN PHARMACIE GALENIQUE | UMMTO | EXAMINATRICE |



Remerciements

Nous remercions, en premier lieu, Dieu de nous avoir permis d'accomplir ce travail à temps.

Nous voudrions remercier tout particulièrement Mme IDRIS et Mr KRITA qui ont dirigé ce travail. Ils nous ont incitées à entreprendre ce travail. Ils nous ont ensuite suivies avec rigueur, apportant leur soutien à ce travail.

Remerciements aux membres du jury:

Nous exprimons notre reconnaissance à Mme BELMAHDI qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Notre reconnaissance va aussi à Mme KHIAR, et à Mme KHELIF, qui ont accepté de participer au jury de ce mémoire.

Remerciements à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, nous ont aidés et encouragés à la réalisation de ce modeste travail : Souad, Younes, Abdellah, Belkacem, Sara.

Dahbia et Dehbia



Dédicace

Je dédie ce modeste travail ...

A mes très chers parents

Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte.

Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos encouragements.

Que Dieu vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur!

A mes très chères sœurs et mon cher frère, ainsi que leurs enfants

Pour leur soutien et leurs encouragements tout au long de la réalisation de ce travail. Merci d'être toujours là pour moi, merci de m'avoir supportée.

A ma chère grand-mère paix à son âme

Pour votre présence, votre aide, vos encouragements, votre patience.

A ma chère binôme « Dahbia »

Merci pour votre amitié et tous les bons moments passés. Pour votre présence, et vos bons conseils.

A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer

Dehbia



Dédicace

Je dédie ce travail à :

*La mémoire de ma grand-mère que dieu l'accueil dans son vaste
paradis*

Mes chers parents qui ont toujours étaient là pour moi

Ainsi que

Mes frères & sœurs

Et toute ma famille oncles, tantes

Sans oublier mes très chers amis

Ma binôme « Dehbia »

Dahbia

Liste des abréviations

SERM : Modulateur sélectif des récepteurs d'œstrogènes
CDC : Centre pour le contrôle et le prévention des maladies
NIOSH : Institut national pour la sécurité et la santé au travail
OSHA : Occupational Safety and Health Administration
AGIH : American Conference Of Governmental Industrial Hygienists
OMS : Organisation mondiale de la santé
USP : United States Pharmacopeia
FDA : Food and Drug Administration
ISPE : The International Society for Pharmaceutical Engineering
ICH : International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Human Use
PQS : Système de Qualité Pharmaceutique
SOP : Procédure opératoire standard
ISO : Organisation internationale de normalisation
PVDF : Fluorure de polyvinylidène
WS : Working standard
PTFE : Polytétrafluoroéthylène
PDA : Photodiode Array Detector
RSD : Relative Standard Deviation
nm : Nanomètre
min : Minute
mg : Milligramme
mL : Millilitre
µm : Micromètre
µl : Microlitre
V : Volume
°C : Degré Celsius
PA : Principe Actif
RPM : Tour par minute
Cp : Comprimé
S : Ecart-Type

Chapitre I : Synthèse bibliographique

| | |
|--|----|
| Figure 01 : Mécanisme d'action des inhibiteurs d'aromatase | 3 |
| Figure 02 : Les différents contrôles physico-chimiques du produit fini | 12 |

Chapitre II : Matériels et méthodes

| | |
|--|----|
| Figure 03 : Organisation du laboratoire contrôle qualité PROFAM..... | 15 |
| Figure 04 : Principe de fonctionnement d'une chaîne HPLC | 16 |
| Figure 05 : Schéma simplifié des composants de l'HPLC | 16 |
| Figure 06 : Schéma simplifié du principe d'une pompe | 17 |
| Figure 07 : Injecteur avec une boucle | 18 |
| Figure 08 : Colonne standard et pré colonne de HPLC | 19 |
| Figure 09 : Détecteur de chromatographie HPLC..... | 20 |
| Figure 10 : Les équipements utilisés | 22 |

Chapitre III : Résultats et discussions

| | |
|---|----|
| Figure 11 : Chromatogramme de la solution standard | 43 |
| Figure 12 : Chromatogramme de la solution échantillon | 44 |
| Figure 13 : Spectre de la solution standard | 45 |
| Figure 14 : Spectre de la solution échantillon | 45 |

Chapitre II : Matériels et méthodes

Tableau 01 : Séquence d'injection 24

Tableau 02 : Séquence d'injection 26

Tableau 03 : Critères d'acceptation de la dissolution 27

Tableau 04 : Evaluation des compositions des phases mobile (HPLC)..... 28

Tableau 05 : Critère d'acceptation des impuretés 31

Tableau 06 : Critères d'acceptations (VA) 35

Tableau 07 : Critères d'acceptations des facteurs individuel 36

Chapitre III : Résultats et discussions

Tableau 08 : Système de suitability pour le test de dosage 37

Tableau 09 : Résultats de dosage 38

Tableau 10 : Résultats de calcul de dosage moyen 38

Tableau 11 : Système suitability pour la dissolution 39

Tableau 12 : Résultats de la dissolution..... 40

Tableau 13 : Système de suitability pour l'impureté 41

Tableau 14 : Résultats d'impureté 41

Tableau 15 : Aspect de médicament 42

Tableau 16 : Résultats de poids moyen 46

Tableau 17 : Résultats de dissolution des 6 comprimés (S1)..... 46

Tableau 18 : Résultats de dosage moyen par HPLC 47

Tableau 19 : Résultats d'uniformité des préparations uni doses..... 48

Tableau 20 : Résultats d'impureté 49

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Partie I : Le cancer du sein et les médicaments générique 3

I.1. Présentation du médicament 3

I.1.1. Mécanisme d'action 3

I.2. Cancer du sein..... 4

I.2.1. Inhibiteurs de l'aromatase dans le cancer du sein 4

I.3. Les médicaments génériques 4

I.3.1. Définition 4

I.3.2. La différence entre le princeps et le générique 4

I.3.3. Types de génériques 5

II.3.3.1. Copie-copie..... 5

II.3.3.2. Médicament essentiellement similaires 5

II.3.3.3. Médicament assimilables..... 5

I.3.4. Intérêts d'un médicament générique 5

I.3.5. Qualité d'un médicament générique 6

Partie II : Transfert analytique 7

II.1. Définition 7

II.2. Types de transfert analytique..... 7

II.2.1. Tests Comparatifs 7

II.2.2. Co-validation 7

II.2.3. Vérification de la méthode ou sa revalidation 7

II.2.4. Renonciation au transfert 8

II.3. Réglementations 8

II.4. Mesure de la méthode de transfert analytique 8

| | |
|--|-----------|
| II.5. Procédure du transfert | 9 |
| II.6. Protocole de transfert | 9 |
| II.7. Rapport de transfert | 10 |
| Partie III : Contrôle qualité du produit fini | 11 |
| III.1. Définition | 11 |
| III.2. Qualité | 11 |
| III.3. Produit fini | 11 |
| III.4. Contrôles physico-chimiques | 11 |
| III.4.1. Les différents contrôles physico-chimiques du produit fini..... | 11 |
| III.4.1.1. Aspect..... | 12 |
| III.4.1.2. Identification | 12 |
| III.4.1.3. Poids moyen | 12 |
| III.4.1.4. Dissolution | 12 |
| III.4.1.5. Dosage | 13 |
| III.4.1.6. Uniformité de masse | 13 |
| III.4.1.7. Impureté | 13 |
| III.5. Contrôle microbiologique | 13 |

Chapitre II : Matériels et méthodes

| | |
|--|-----------|
| I. Présentation de l'entreprise | 14 |
| II. Technique d'analyse utilisé : La Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) | 15 |
| II.1. Définition | 15 |
| II.2. Principe | 15 |
| II.3. Appareillage..... | 16 |
| III. Matériels | 21 |
| III.1. Équipements utilisés | 21 |
| III.2. Réactifs utilisés | 22 |
| IV. Méthodes | 22 |
| IV.1. Transfert analytique | 22 |
| IV.1.1. Dosage par HPLC | 23 |
| IV.1.1.1. Conditions opératoire | 23 |
| IV.1.1.2. Préparation des solutions | 23 |

| | |
|--|----|
| IV.1.1.2.1. Solution du Standard | 23 |
| IV.1.1.2.2. Solution d'échantillon | 24 |
| IV.1.1.3. Séquence d'injection | 24 |
| IV.1.2. Dissolution par HPLC | 25 |
| IV.1.2.1. Conditions chromatographiques | 25 |
| IV.1.2.2. Conditions opératoires | 25 |
| IV.1.2.3. Préparation des solutions | 26 |
| IV.1.2.3.1. Solution du Standard | 26 |
| IV.1.2.3.2. Solution d'échantillon | 26 |
| IV.1.2.4. Séquence d'injections | 26 |
| IV.1.3. Impuretés..... | 28 |
| IV.1.3.1. Conditions chromatographiques | 28 |
| IV.1.3.2. Préparation des solutions | 28 |
| IV.1.3.2.1. Solution standard * | 29 |
| IV.1.3.2.2. Solution d'ethyl 4-hydroxybenzoate | 29 |
| IV.1.3.2.3. Solution de système suitability | 29 |
| IV.1.3.2.4. Solution du standard | 29 |
| IV.1.3.2.5. Solutions d'échantillon | 29 |
| IV.1.3.3. Séquence d'injection | 29 |
| IV.1.3.4. Conformité du système | 30 |
| IV.1.3.5. Calcul | 30 |
| IV.2. Contrôle qualité du produit fini..... | 31 |
| IV.2.1. Aspect | 32 |
| IV.2.2. Identification | 32 |
| IV.2.2.1. Identification par HPLC..... | 32 |
| IV.2.2.1.1 Condition opératoires | 32 |
| IV.2.2.1.2. Préparation des solutions | 32 |
| IV.2.2.2. Identification par UV | 33 |
| IV.2.3. Poids moyen..... | 33 |
| IV.2.4. Uniformité des préparations uni doses..... | 33 |
| IV.2.4.1. Condition opératoires..... | 33 |
| IV.2.4.2. Préparation des solutions | 34 |

| | |
|--|----|
| IV.2.4.2.1. Solution échantillon B | 34 |
| IV.2.4.3. Calcul | 34 |
| IV.2.5. Calcul de l'uniformité de dosage | 34 |

Chapitre III : Résultats et discussions

| | |
|---|----|
| Introduction | 37 |
| II.1. Transfert analytique | 37 |
| II.1.1. Dosage | 37 |
| II.1.1.1. Système suitability | 37 |
| II.1.1.2. Résultats | 37 |
| II.1.1.3. Discussion | 39 |
| II.1.2. Dissolution | 39 |
| II.1.2.1. Système suitability | 39 |
| II.1.2.2. Résultats | 39 |
| II.1.2.3. Discussion | 40 |
| II.1.3. Impureté | 41 |
| II.1.3.1. Système de suitability | 41 |
| II.1.3.2. Résultats | 41 |
| II.1.3.3. Discussion | 42 |
| II.1.4. Discussion générale | 42 |
| II.2. Contrôle qualité du produit fini | 42 |
| II.2.1. Aspect | 42 |
| II.2.1.1. Discussion | 43 |
| II.2.2. Identification | 43 |
| II.2.2.1. Identification par HPLC (en même temps que le dosage) | 43 |
| II.2.2.1.1 Discussion | 44 |
| II.2.2.2. Identification par HPLC (détecteur PDA) | 44 |
| II.2.2.2.1 Discussion | 45 |
| II.2.3. Poids moyen | 46 |
| II.2.3.1. Discussion | 46 |
| II.2.4. Dissolution par HPLC | 46 |
| II.2.4.1. Discussion | 47 |
| II.2.5. Dosage moyen par HPLC | 47 |

| | |
|---|-----------|
| II.2.5.1. Discussion | 47 |
| II.2.5.1. Discussion | 47 |
| II.2.6. Uniformité des préparations uni doses | 47 |
| II.2.6.1. Discussion..... | 48 |
| II.3.7. Impureté par HPLC | 49 |
| II.3.7.2. Discussion | 49 |
| II.3.7.3. Discussion générale | 49 |
| Conclusion générale | 50 |

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Introduction générale

L'industrie pharmaceutique est un secteur où l'on conçoit, développe, fabrique, conditionne et commercialise les produits pharmaceutiques à usage humain ou vétérinaire. Ils sont de plus en plus distribués dans le monde, en raison de leur coût allégé par rapport aux médicaments princeps. Cette vulgarisation ne doit cependant pas être faite au détriment de la qualité, au risque de nuire à la santé du patient et du consommateur. Or, l'un des moyens proposés par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), est de contrôler leur qualité avant toute distribution.

L'Algérie a enregistré l'inscription plus de 140 nouveaux projets d'investissements dans le domaine pharmaceutique avec une moyenne de trois à quatre unités de fabrication qui voient le jour annuellement.

Les pouvoirs publics essaient de maîtriser les dépenses en médicaments notamment à travers la promotion d'une industrie pharmaceutique locale dédiée au générique.

Du point de vue de l'impact économique du médicament générique pour notre société l'industrie pharmaceutique nationale se trouve aujourd'hui confrontée à de grands défis, dans le but est de réduire cette lourde facture, le gouvernement a imposé des mesures réglementaires qui ont donné lieu à la naissance de plusieurs infrastructures de production dont la conception et la réalisation sont conformes aux normes techniques en vigueur.

L'Algérie est dans l'obligation de prendre en marche le développement en encourageant la production et la commercialisation des médicaments génériques.

Ayant opté principalement pour la production des médicaments génériques, le secteur pharmaceutique national répondra certainement aux objectifs attendus en termes de disponibilité de produits, de qualité et d'accessibilité.

L'objectif de toute production pharmaceutique est de fabriquer des produits de qualité et d'attributs requis, de façon constante et au coût plus raisonnable. Bien que des études de transfert analytique aient été menées dans l'industrie pharmaceutique depuis longtemps, l'intérêt pour le transfert ne cesse de croître en raison de l'importance accrue accordée par l'industrie, ces dernières années, au programme d'assurance qualité, qui est fondamental pour une opération de production efficace.

Le spécialiste en contrôle qualité effectue des contrôles et des analyses sur des échantillons prélevés à partir de l'approvisionnement et tout au long de la chaîne de fabrication, afin de vérifier que les produits pharmaceutiques soient conformes aux normes et aux règlements imposés.

Le travail qui fait l'objet de ce mémoire commence par une introduction générale, et est scindé en deux parties :

- ✓ La première est un chapitre qui présente la synthèse bibliographique, il est constituée de trois parties : la première présente le médicament qui fait l'objet de notre travail, une définition de cancer du sien et les différents concepts liés au médicament générique, la deuxième concerne le transfert analytique, enfin la troisième partie concerne le contrôle qualité du produit fini.
- ✓ La deuxième partie concerne la partie pratique, elle est constituée de deux chapitres: le premier regroupe les réactifs et tout matériel utilisé pour la mise en œuvre de ce travail. Ainsi que toutes les méthodes adoptées pour le transfert analytique et le contrôle de qualité du produit fini de médicament.

Le deuxième chapitre présente l'ensemble des résultats expérimentaux et leurs interprétations. Enfin nous terminons par une conclusion.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

Partie I : Le cancer du sein et les médicaments générique

I.1. Présentation du médicament

C'est un médicament générique inhibiteur de l'aromatase de troisième génération utilisé dans le cadre du traitement adjuvant du cancer du sein à récepteurs hormonaux positifs du cancer sein.

- **Forme pharmaceutique / Dose :** Comprimé pelliculé / 1mg

I.1.1. Mécanisme d'action

Les inhibiteurs de l'aromatase réduisent la synthèse des œstrogènes en inhibant l'enzyme aromatase. Cette dernière catalyse la conversion de l'androstènedione en estrone, qui à son tour est métabolisée en estradiol par la 17- β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type I. Les inhibiteurs de type I sont des composés stéroïdiens, par exemple l'exémestane ; ces agents forment des liaisons covalentes avec l'aromatase, et ce type d'inhibition est irréversible et ne peut être surmonté que par la synthèse d'une nouvelle enzyme. Les inhibiteurs non stéroïdiens sont des inhibiteurs de type II et sont des inhibiteurs compétitifs de l'aromatase, par exemple l'anastrozole et le létrozole. Plus précisément, l'anastrozole, un dérivé du benzyltriazole, inhibe l'aromatase en se liant de manière compétitive au groupe hém de l'unité CYP de l'enzyme, réduisant ainsi la biosynthèse des œstrogènes dans la périphérie et le sein. L'anastrozole est un inhibiteur sélectif de l'aromatase et a peu ou pas d'effet sur les autres hormones stéroïdes.¹

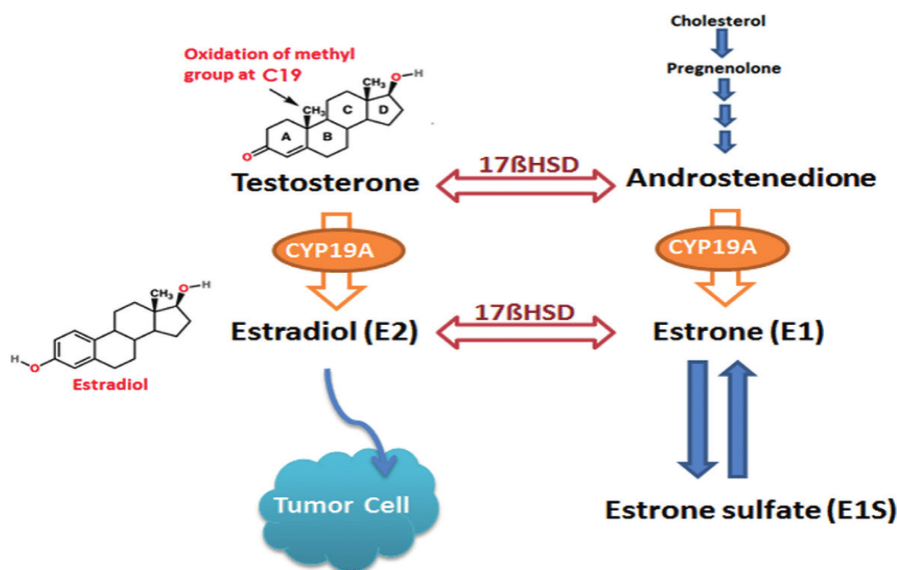


Figure 01: Mécanisme d'action des inhibiteurs d'aromatase

¹ Kelly, C. M., & Buzdar, A. U. (2010). Anastrozole. Expert Opinion on Drug Safety, 9(6), 995–1003.

I.2. Cancer du sein

Selon l'OMS, le cancer est l'apparition rapide de cellules anormales dont la croissance s'étend au-delà de leurs limites habituelles et qui peuvent alors envahir des zones voisines de l'organisme et se propager à d'autres organes. Il est fait référence à ce processus sous le terme de dissémination métastatique.

Le cancer du sein, maladie caractérisée par la croissance de cellules malignes dans les glandes mammaires, peut frapper les hommes et les femmes. Bien que les femmes soient environ 100 fois plus susceptibles de développer la maladie que les hommes. La plupart des cancers du sein chez les femmes se développent avant, pendant ou peu après la ménopause, et les trois quarts de ces cas sont diagnostiqués après 50 ans. En général, plus une femme est âgée, plus elle risque de développer un cancer du sein.²

I.2.1. Inhibiteurs de l'aromatase dans le cancer du sein

Des inhibiteurs efficaces de l'aromatase ont été développés en tant qu'agents thérapeutiques pour contrôler le cancer du sein dépendant des œstrogènes. La recherche sur le développement des inhibiteurs de l'aromatase a commencé dans les années 1970 et s'est considérablement développée depuis.³

I.3. Les médicaments génériques

I.3.1. Définition

Selon le Code de la Santé Publique (art. L. 5121.1-5) un médicament générique d'une spécialité de référence dite princeps, est un médicament qui a la même composition qualitative en principe actif (PA), même composition quantitative, même forme pharmaceutique et qui montre une bioéquivalence avec cette spécialité de référence.⁴

I.3.2. La différence entre le princeps et le générique

La principale différence qui existe entre les médicaments génériques et les princeps est d'ordre budgétaire. En effet, les princeps coûtent plus cher car, pour les mettre au point, des

² Britannica, Les rédacteurs de l'Encyclopédie. "cancer du sein". Encyclopedia Britannica, 12 novembre 2021, <https://www.britannica.com/science/breast-cancer>. Consulté le 1 juin 2022.

³ Brueggemeier, RW (2006). Mise à jour sur l'utilisation des inhibiteurs de l'aromatase dans le cancer du sein. Avis d'expert sur la pharmacothérapie, 7(14), 1919–1930.

⁴ Code de la santé publique - Article L5121 - 1. Code de la santé publique.

recherches, des études et des essais cliniques extrêmement onéreux ont dû être mis en place. Inversement, les médicaments génériques sont bien meilleur marché car après 10 à 15 ans d'exploitation du princeps par un laboratoire, le brevet devient public. Les autres laboratoires peuvent donc à leur tour le produire sous forme de médicament générique et ainsi faire jouer la concurrence afin de baisser les prix. Cela fait des économies aux patients et aux organismes de santé publique.⁵

I.3.3. Types de génériques

II.3.3.1. Copie-copie

Ce type de médicament est conforme au médicament original présentant la même molécule, la même quantité, la même forme galénique et les mêmes excipients. Il est souvent produit par le même laboratoire pharmaceutique.

II.3.3.2. Médicament essentiellement similaires

Pour ce médicament, l'excipient change sans affecter ni le principe actif, ni sa quantité, ni la forme galénique. Ces génériques doivent uniquement prouver leur bioéquivalence avec le médicament original.

II.3.3.3. Médicament assimilables

Pour ce type de médicament la forme galénique change (comprimé au lieu de gélule par exemple) et la forme chimique du principe actif change (sel au lieu de base par exemple). Ces génériques doivent également prouver leur bioéquivalence avec le médicament original.⁶

I.3.4. Intérêts d'un médicament générique

- Economique, c'est le principal avantage des génériques vu leur prix moins cher que les médicaments princeps et sont susceptibles de faire réaliser de substantielles économies à l'assurance maladie.
- Accessibilité financière pour la population.
- Outil permettant la viabilité, l'efficience et la réussite de la couverture médicale de base en cours dans notre pays.

⁵ La Rédaction Médisite, [https:// www.medisite.fr/ d-médicaments-génériques](https://www.medisite.fr/d-medicaments-generiques). 17/02/2015.

⁶ Ouazouaz, M., 2013. Etude d'un produit pharmaceutique, médicament générique à usage humain. Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat. Université Badji Mokhetar-Annaba Faculté des sciences, Département de Biochimie, Option : Biochimie Appliquée.

- Produit de rechange en cas de rupture des médicaments équivalents.
- Permet de casser les situations de monopole détenu par certains laboratoires.
- Création de postes de travail.⁴

I.3.5. Qualité d'un médicament générique

La qualité d'un médicament générique est déterminée par trois critères :

- La qualité de la matière première.
- La stabilité du produit.
- -La bioéquivalence.

Les deux premiers critères sont mis en évidence par des contrôles physicochimiques.

La bioéquivalence se rapporte indirectement à la notion de l'efficacité, c'est l'équivalence des biodisponibilités.⁴

Partie II : Transfert analytique

II.1. Définition

Le transfert de méthode analytique est un processus complet impliquant le transfert de méthodes analytiques validées du laboratoire émetteur (appelé expéditeur) au laboratoire destinataire (appelé récepteur). Le transfert des méthodes du laboratoire au site de fabrication est une étape importante dans le cycle de développement de nouveaux médicaments.

II.2. Types de transfert analytique

Le transfert des méthodes analytiques peut être effectué et démontré par plusieurs méthodes basées sur le chapitre USP <1224> (Voir annexe 1).

II.2.1. Tests Comparatifs

Les deux laboratoires exécutent un protocole approuvé par les deux parties. Les données obtenues seront comparées à un ensemble de critères d'acceptation préétablis. C'est le type de transfert le plus utilisé.⁷

II.2.2. Co-validation

Consiste à impliquer le laboratoire receveur dans la validation de la méthode à transférer. Par définition, un laboratoire ou un site qui réalise la validation de la méthode analytique est qualifiée pour exécuter cette méthode en routine. Pour effectuer un tel transfert, il faut identifier les paramètres clés de validation (conformité du système, fidélité...) et impliquer le laboratoire receveur.

Cette démarche pourra être documentée dans le protocole de validation analytique du laboratoire donneur.⁷

II.2.3. Vérification de la méthode ou sa revalidation

Consiste à revalider la méthode partiellement ou totalement. Le choix des paramètres à revalider dépendra du type de méthode.⁷

⁷ Document interne, Procédure Générale "ETABLISSEMENT DU TRANSFERT DES METHODES ANALYTIQUES", N°03 (PROFAM 06 15, 2020).

II.2.4. Renonciation au transfert

Dans certains cas, il est possible de justifier l'omission d'un transfert analytique conventionnel. Même si la renonciation du transfert est appliquée, le laboratoire receveur doit justifier ce choix. Parmi les raisons qui peuvent justifier ce choix :

- ✓ Le laboratoire receveur analyse déjà le produit et est bien familiarisé avec la procédure.
- ✓ La méthode analytique est identique ou très similaires à une méthode qui est déjà en cours d'utilisation.⁷

II.3. Réglementations

Le chapitre 1224 de l'USP dans l'annexe 1 représente une facette importante du cycle de vie d'une méthode d'analyse, qui va du développement et de la compréhension de la méthode au transfert de la méthode, à l'incorporation dans un compendium et à la vérification ultérieure, en passant par la validation. La FDA a publié un guide officiel sur la façon de conduire et de documenter les méthodes. En outre, la conception de l'ISPE (The International Society for Pharmaceutical Engineering) fournit des probabilités adéquates pour accepter correctement les transferts de méthodes uniquement pour des montants d'erreur relativement faibles. En général, il n'existe pas de directive officielle détaillée pour une méthodologie de transfert dans l'analyse pharmaceutique ou biopharmaceutique, mais selon la directive ICH Q9 (Voir annexe 2) l'analyse et la gestion des risques doivent être intégrée dans un processus de transfert.

L'ICH Q10 (Voir annexe 3) décrit un diagramme qui illustre les principales caractéristiques du modèle de système de qualité pharmaceutique (PQS) de l'ICH Q10. Le PQS couvre l'ensemble du cycle de vie d'un produit, y compris le développement pharmaceutique, le transfert de technologie, la fabrication commerciale et l'abandon du produit.⁸

II.4. Mesure de la méthode de transfert analytique

L'élaboration du protocole de transfert de la méthode d'analyse comprend :

- Le transfert de la documentation scientifique,
- Les échantillons de référence à utiliser,

⁸ QASEM, A. E. (2012). THESE DE DOCTORAT. *Contribution au développement du contrôle de qualité des produits pharmaceutiques: validation et transfert des procédures analytiques selon différentes approches* (p. 25). Rabat: Université Mohammed V- Souissi.

- La ou les procédures analytiques détaillées qui seront transférées et qui concernent la détermination des impuretés, le contenu du dosage, la dissolution, etc.
- La conception statistique, la taille de l'échantillon, l'analyse des données et les procédures de décision,
- La formation du personnel impliqué sur le site récepteur,
- L'exécution du transfert de la méthode,
- L'analyse des résultats obtenus et la décision sur l'acceptabilité du transfert de la méthode qui est incluse dans un rapport de transfert.⁹

II.5. Procédure du transfert

La procédure doit être rédigée avec suffisamment de détails et d'instructions explicites, de sorte qu'un analyste formé puisse l'exécuter sans difficulté. Une réunion préalable au transfert entre les unités de transfert et de réception est utile pour clarifier tout problème et répondre à toute question concernant le processus de transfert. Si des données de validation complètes ou partielles existent, elles doivent être mises à la disposition de l'unité réceptrice, ainsi que tous les détails techniques nécessaires à la réalisation du test en question. Dans certains cas, il peut être utile que les personnes qui ont participé au développement ou à la validation initiale soient présentes sur place pendant le transfert. Le nombre de répétitions et les séquences d'injection dans le cas de la chromatographie liquide ou gazeuse doivent être clairement exprimés et, dans le cas des tests de dissolution, le nombre d'unités de dosage individuelles doit être stipulé.¹⁰

II.6. Protocol de transfert

Avant de mettre en œuvre une méthode de transfert analytique, il faut mettre en place un document approuvé qui décrit le processus général de transfert, ainsi que les critères d'acceptation. Ce document prend généralement la forme d'une procédure opératoire standard (SOP) qui décrit les détails du protocole ou du plan de test spécifique au produit et à la méthode. Ce document doit clairement définir toutes les responsabilités des laboratoires respectifs, énumérer toutes les méthodes qui seront transférées et fournir une justification pour toute méthode non incluse (c'est-

⁹Rozet, E., Dewé, W., Ziemons, E., Bouklouze, A., Boulanger, B., & Hubert, P. (2009). Methodologies for the transfer of analytical methods: A review. *Journal of Chromatography B*, 877(23), 2214–2223.

¹⁰The United States Pharmacopeia (USP) , Chapter <1224>.

à-dire la renonciation au transfert). Le document doit également inclure la sélection des matériaux et des échantillons à utiliser dans des échantillons représentatifs, homogènes et identiques pour les deux laboratoires.

Le protocole devrait également inclure des certificats d'analyse pour tous les échantillons et les matériaux de référence utilisés, et les instruments et paramètres connexes devraient également être décrits.¹¹

II.7. Rapport de transfert

Lorsque la procédure de transfère analytique est terminée avec succès, l'unité réceptrice doit préparer un rapport de transfert qui décrit les résultats obtenus par rapport aux critères d'acceptation, ainsi que des conclusions qui confirment que l'unité réceptrice est maintenant qualifiée pour exécuter la procédure. Toute déviation doit être soigneusement documentée et justifiée. Si les critères d'acceptation sont respectés, la procédure de transfère analytique est réussie et l'unité réceptrice est qualifiée pour exécuter la procédure. Dans le cas contraire, la procédure ne peut être considérée comme transférée jusqu'à ce que des mesures correctives efficaces soient adoptées afin de répondre aux critères d'acceptation. Une enquête peut fournir des indications sur la nature et l'étendue des mesures correctives, qui peuvent aller d'une formation et d'une clarification supplémentaires à des approches plus complexes, en fonction de la procédure particulière.¹⁰

¹¹ Swartz, M. E., & S.Krull, I. (2012). *Handbook of analytical validation*. Boca Raton London New York: CRC Press is an imprint of the Taylor & Francis Group (p 169).

Partie III : Contrôle qualité du produit fini

III.1. Définition

Le contrôle de la qualité concerne l'échantillonnage, l'établissement de spécifications et l'analyse, ainsi que l'organisation, l'établissement des documents et des procédures de libération qui garantissent que des essais nécessaires et appropriés ont bien été effectués, que les matières premières et les articles de conditionnement ne sont pas libérés pour la fabrication, ni les produits finis libérés en vue de leur vente ou de leur distribution, avant que leur qualité n'ait été jugée satisfaisante.¹²

Sur les produits finis. Il s'agit de rechercher tout ce qui rend le médicament non conforme à sa monographie consignée dans la pharmacopée de référence et qui le rendrait impropre à la consommation.

III.2. Qualité

Selon la norme ISO, la qualité est : « l'ensemble des caractéristiques d'une entité qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites ».¹³

III.3. Produit fini

C'est un produit qui a subi toutes les étapes de fabrication, y compris le conditionnement.

III.4. Contrôles physico-chimiques

La conformité du médicament aux normes et sa validité sont examinées par plusieurs méthodes analytiques qualitatives et quantitatives, telles que les dosages volumétriques, les dosages par spectrophotométrie UV/visible et l'analyse par différentes méthodes chromatographiques en l'occurrence, la technique de chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la spectrophotométrie infrarouge...etc.¹⁴

III.4.1. Les différents contrôles physico-chimiques du produit fini

Pour assurer une meilleure qualité d'un médicament, des différents contrôles physico-chimiques effectués sur le produit fini comme on peut résumer dans le schéma indiqué dans la figure 3 ci-dessous :

¹² Ansm. (2013). Bonnes pratiques de fabrication.

¹³ Willy S. (1996). Le manager, la qualité et les normes ISO, Edition Masson, Paris , page : 148

¹⁴ Pharmacopée européenne 2014

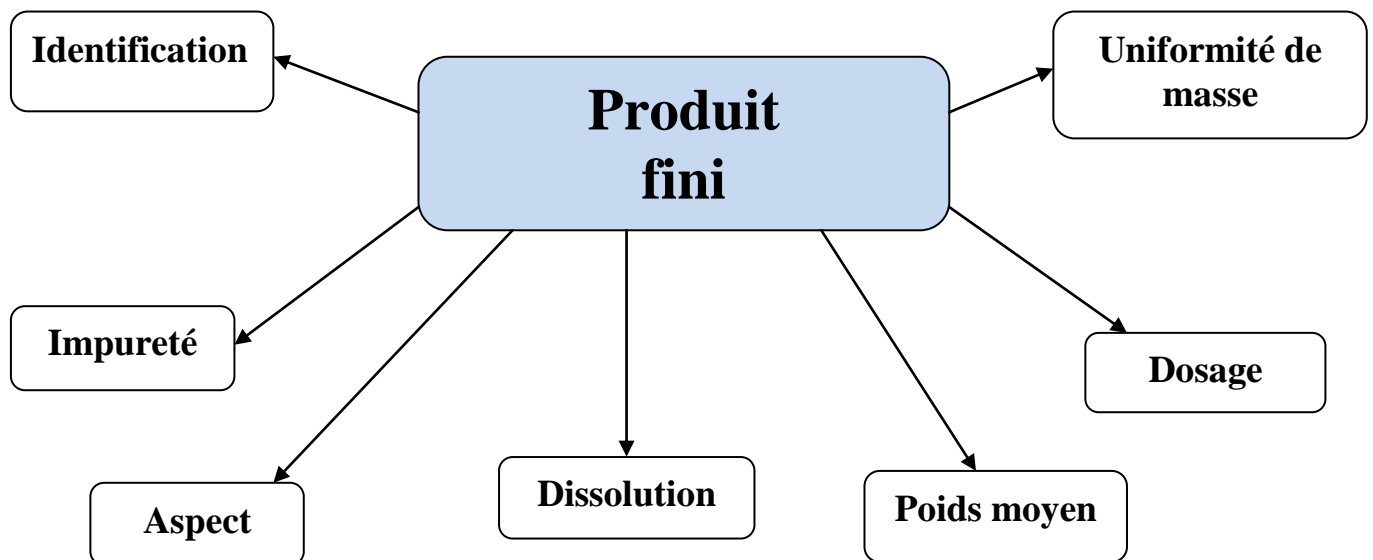


Figure 02 : Les différents contrôles physico-chimiques du produit fini.

III.4.1.1. Aspect

Ce contrôle consiste à évaluer visuellement l'aspect de 20Cp. Les exigences sur l'aspect du comprimé, c'est-à-dire forme, couleur, sécable ou pas, sont fixés lors du développement et doivent être reproduites de façon exacte d'un lot à un autre.

III.4.1.2. Identification

L'identification permet de vérifier l'identité du principe actif, et de confirmer qu'il n'a pas subi d'altération lors des opérations de fabrication.

III.4.1.3. Poids moyen

Consiste à vérifier le poids moyen d'un échantillon de 20 comprimés ; cette phase doit rester entre les limites fixées au départ. Les variations de poids des comprimés peuvent être dues à plusieurs causes. Fonctionnement irrégulière ou mauvais réglage des comprimés. Mauvaise distribution de la poudre dans la matière à la suite de caractéristiques défavorable.¹⁵

III.4.1.4. Dissolution

L'essai de dissolution appliquée aux comprimés est un outil très important pour le développement des médicaments et pour le contrôle de qualité, permet de s'assurer qu'une fois administrés, ces derniers libèreront le PA qu'ils contiennent, pour le mettre à la

¹⁵ LeHir (2001). B Abrégés de pharmacie galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments, 8^{ème} édition. Masson, 2001. p:251-77.

disposition de l'organisme, et ceci dans les limites de concentration et de vitesse déterminées, afin de garantir l'effet thérapeutique désiré.¹⁶

III.4.1.5. Dosage

Le test du dosage du PA s'intéresse à la teneur moyenne du PA dans un nombre spécifié de Cp. La Pharmacopée américaine et la pharmacopée britannique préconisent un nombre optimal de 20Cp pour le dosage du PA.

III.4.1.6. Uniformité de masse

L'essai d'uniformité de masse des Cp permet de s'assurer qu'au cours de la fabrication, la répartition du mélange initial de poudre ou de granulés, en unités de prises (chaque Cp), a été suffisamment précise et uniforme pour garantir une même masse et donc une même teneur en PA pour l'ensemble des Cp d'un même lot.

III.4.1.7. Impureté

Concernant les impuretés dans le produit pharmaceutique, les spécifications doivent inclure une liste de produits de dégradation susceptibles d'être générés lors des étapes de fabrication ou pendant le stockage sous les conditions recommandées, il convient de les rechercher, les identifier et les quantifier lors de l'étape de conception du produit, afin de pouvoir évaluer leur impact sur la stabilité du produit.¹⁷

III.5. Contrôle microbiologique

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

Les essais décrits pour le contrôle microbiologique des produits non stériles (dénommé aussi « dénombrement des germes aérobies viables totaux » – Monographie 2.6.12 de la Pharmacopée européenne) permettent le dénombrement des bactéries mésophiles, des moisissures et levures capables de se développer en aérobiose.¹⁸

¹⁶ A. LeHir (2001) _C, Biodisponibilité des formes orales. I: Abrégés de pharmacie galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments, 8^{ème} édition. Masson, p:290- 304.

¹⁷ MIRI Faïza, ASPECTS TECHNIQUE-RÉGLEMENTAIRES DU CONTRÔLE DE QUALITÉ, Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master en Pharmacie Industrielle, Université Abou Bekr BELKAID de Tlemcen 2014.

¹⁸ Scriban R. (1999). Biotechnologie Tec & Doc. 5^{ème} Edition, Paris, page : 927.

Chapitre II :

Matériels et méthodes

I. Présentation de l'entreprise

BIOPHARM, est un groupe de laboratoire pharmaceutique algérien qui a investi dans le secteur pharmaceutique au début des années 1990 et qui dispose aujourd'hui d'unités de production aux normes internationales et d'un large réseau de distribution aux grossistes et pharmacies qui couvrent tout le territoire algérien.

Dans le cadre du développement de sa production, BIOPHARM a implanté sa première unité de production oncologique depuis 2021, cette dernière est constituée de :

- Ligne de fabrication formes sèches sous isolateurs,
- Laboratoire de contrôle qualité,
- Magasin (Magasin réception, Magasin Stockage Produit fini),
- Système de traitement d'air,
- Système de traitement de l'eau,
- Utilités spécifiques aux produits Oncologies :
- Station de traitement des effluents,
- Scrubber d'isolateur.

Notre stage a eu lieu au laboratoire de contrôle qualité en oncologie du groupe PROFAM – Réghaia. Ce laboratoire dispose de trois unités :

- Unité de contrôle physico-chimique,
- Unité de contrôle microbiologique,
- Unité d'étude de stabilité,

Son organisation est schématisée sur la figure 04.

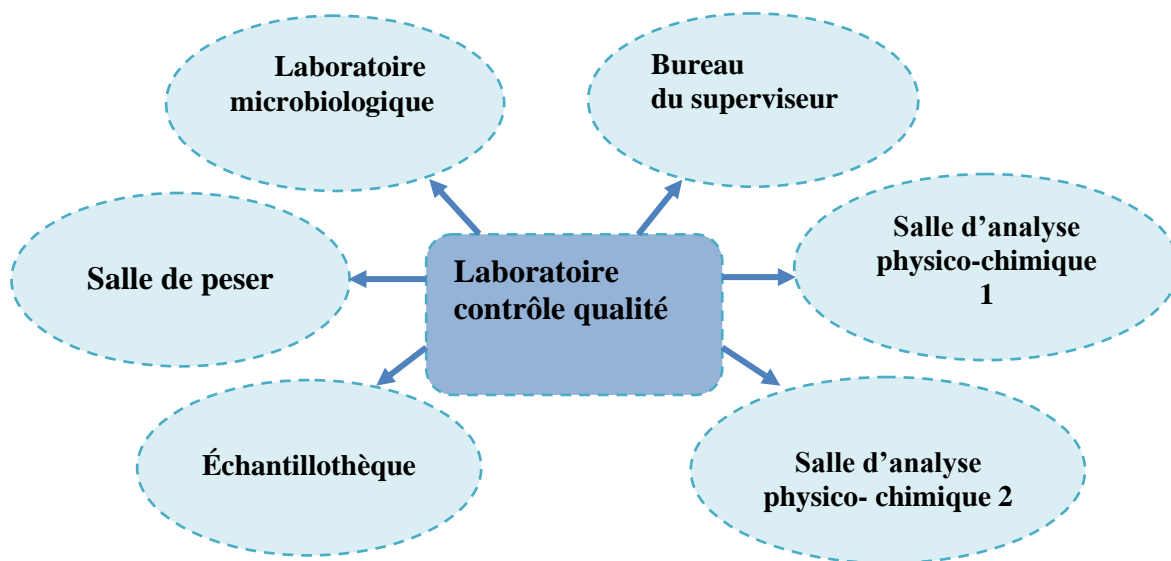


Figure 03 : Organisation du laboratoire contrôle qualité PROFAM.

II. Technique d'analyse utilisé : La Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

II.1. Définition

La chromatographie liquide haute performance, souvent désignée par son abréviation CLHP – HPLC en anglais, constitue une technique analytique très générale d'emploi.

La chromatographie liquide est une technique de séparation chromatographique reposant sur la distribution différentielle des espèces, une phase stationnaire contenue dans une colonne et une phase mobile liquide qui traverse, par percolation, cette phase stationnaire.

II.2. Principe

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique.

Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.

En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme. Ce principe est traduit par le schéma suivant :

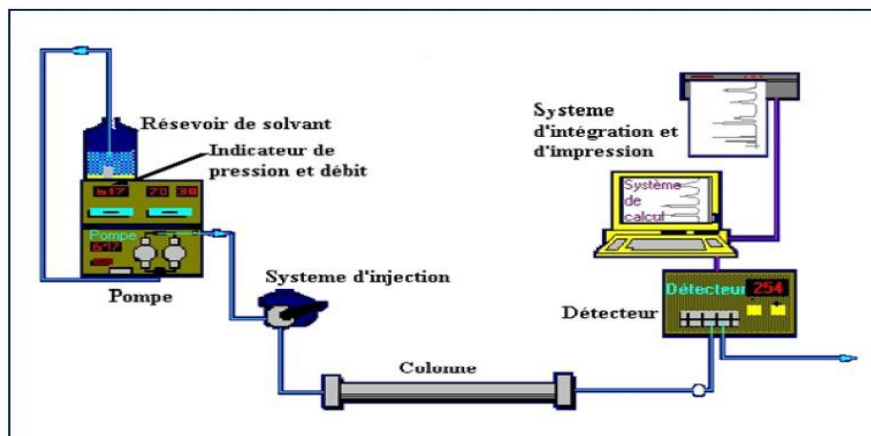


Figure 04 : Principe de fonctionnement d'une chaîne HPLC.

II.3. Appareillage

L'appareillage se compose d'un réservoir contenant la phase mobile, d'un système de pompage, d'un injecteur, d'une colonne chromatographique (éventuellement thermostatée), d'un détecteur et d'un système d'acquisition des données (avec un logiciel pour traiter les signaux).

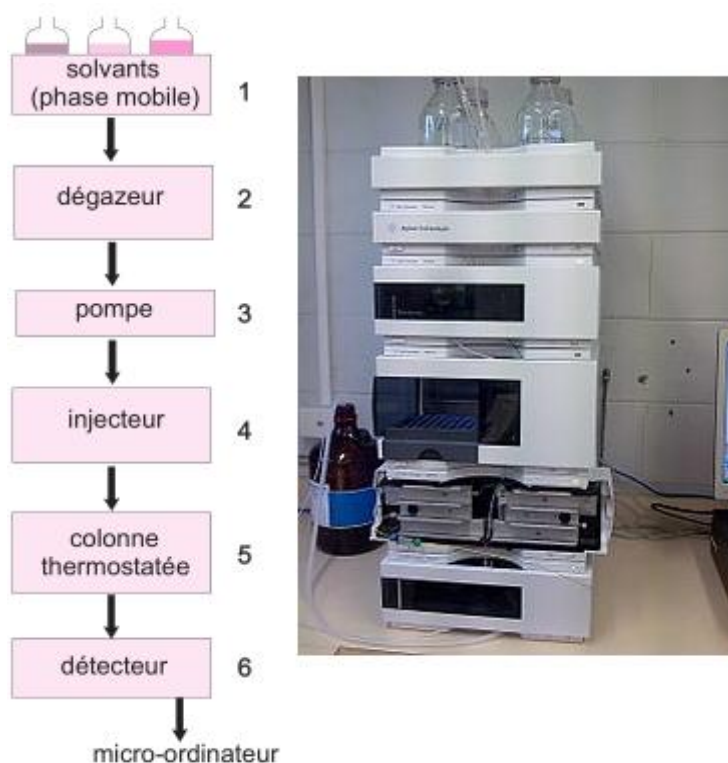


Figure 05 : Schéma simplifié des composants de l'HPLC

➤ Réservoir de la phase mobile (solvant) :

Le plus souvent ce réservoir est une bouteille en verre dans lequel plonge un tube avec une extrémité filtrante en téflon.

On filtre la phase mobile pour éliminer toutes particules en suspension : Car tous les tubes de l'appareil ont un diamètre extrêmement fin et risquent de se boucher.

➤ Pompe :

Elle délivre en continu la phase mobile. Elle est définie par la pression qu'elle permet d'atteindre dans la colonne, son débit, et la stabilité du flux.

Elle permet de travailler soit :

- ✓ En mode isocratique, c'est à dire avec 100% d'un même éluant tout au long de l'analyse.
- ✓ En mode gradient, c'est à dire avec une variation des constituants du mélange d'éluant.

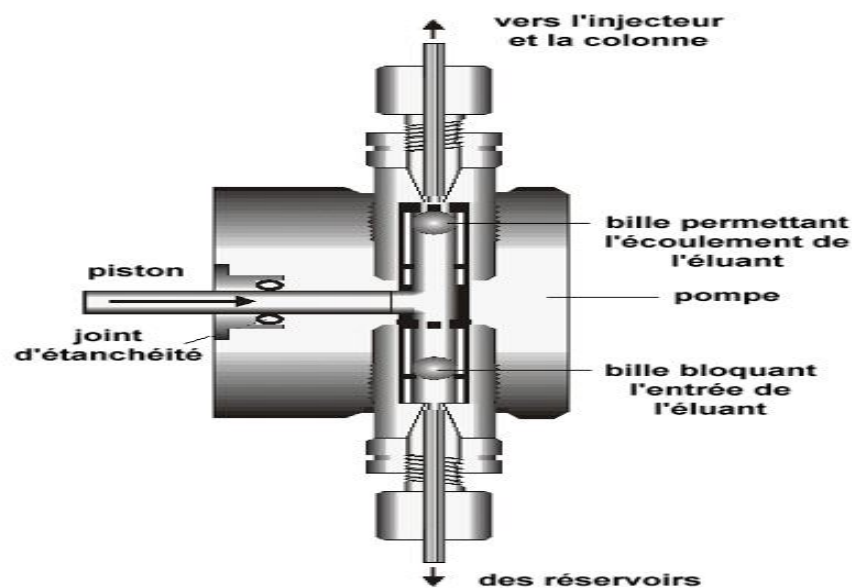


Figure 06 : Schéma simplifié du principe d'une pompe

➤ Injecteur :

La solution à examiner est introduite dans la phase mobile circulante en tête de colonne, ou à proximité de celle-ci, à l'aide d'un système d'injection conçu pour fonctionner à pression élevée. Les injecteurs peuvent être à boucle fixe ou à volume variable, à fonctionnement manuel ou pilotés par un échantillonneur automatique. Le remplissage partiel des boucles, manuellement, peut entraîner une moindre fidélité du volume injecté.

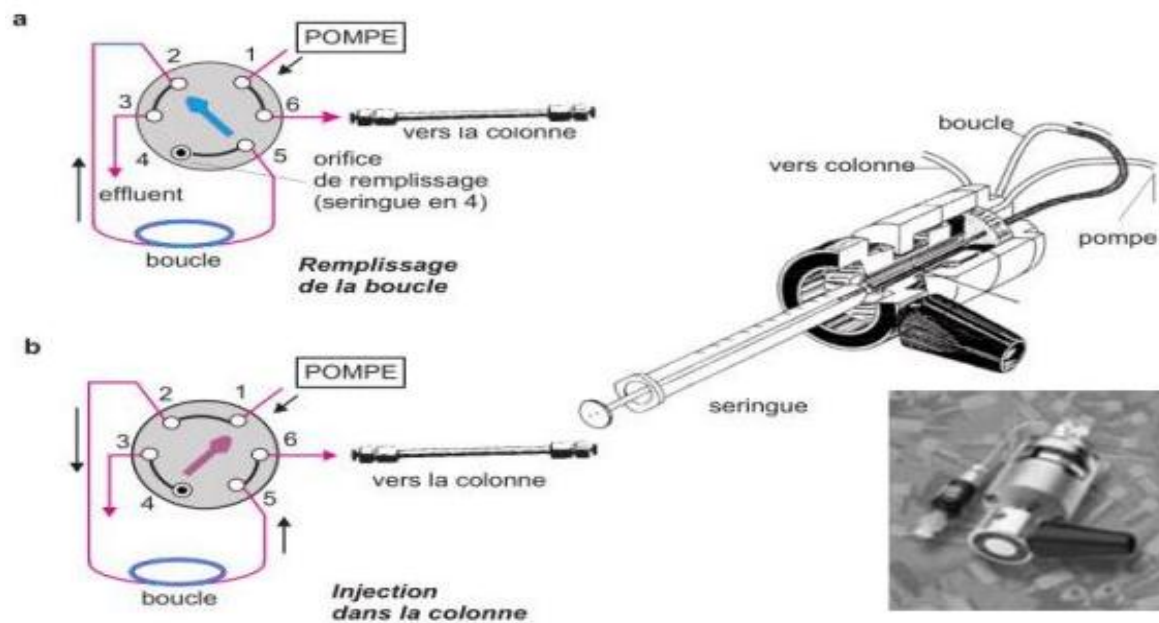


Figure 07 : Injecteur avec une boucle

➤ Colonne

La colonne se présente comme un tube, le plus souvent en acier, dont la longueur et le diamètre présentent des différences selon les modèles. Les colonnes « standard » dont le diamètre interne (DI) est d'environ 4,5 mm et la longueur de 10 cm, sont de plus en plus supplantées par des colonnes de plus faibles diamètres, baptisées narrow-bore (DI 2-4 mm), Micro-bore (DI 1-2 mm), capillaires remplies (DI 0,1-1 mm).

Ces modèles sont apparus suite à l'évolution des phases stationnaires customisées et pour simplifier les problèmes de couplage avec la spectrométrie de masse (technique couplée CLHP/SM).

La colonne est souvent précédée d'une pré colonne, dite colonne de garde, courte (0,4 à 1 cm), remplie de la même phase stationnaire, ce qui sert à retenir certaines impuretés. On augmente ainsi la durée de vie de la colonne principale en préservant ses performances.



Figure 08 : Colonne standard et pré colonne de HPLC

➤ Détecteurs :

Le détecteur suit en continu l'apparition des solutés. Pour détecter, on utilise différents phénomènes physico-chimiques.

Le détecteur le plus utilisé en HPLC est un spectrophotomètre d'absorption UV-visible relié à la sortie de colonne.

Il existe d'autres détecteurs :

- réfractomètre différentiel
- UV à barrette de diodes
- électrochimique
- fluorimétrie...

Ainsi que différents types de couplage :

- Spectrométrie infrarouge
- Spectrométrie de masse
- Résonance Magnétique Nucléaire...



Figure 09 : Détecteur de chromatographie HPLC

➤ Phases stationnaires :

A la recherche d'une bonne résolution chromatographique et donc d'efficacité élevée, a conduit à la création de phases stationnaires de nature et de structures variées. Pour raccourcir les temps d'analyse, il faut tenter d'accélérer dans la colonne les transferts entre les phases mobile et fixe.

De nombreux types de phases stationnaires sont utilisés en HPLC, notamment :

✓ La phase stationnaire normale :

La phase normale est constituée de gel de silice. Ce matériau est très polaire. Il faut donc utiliser un éluant apolaire. Ainsi lors de l'injection d'une solution, les produits polaires sont retenus dans la colonne, contrairement aux produits apolaires qui sortent en tête.

✓ La phase stationnaire inversée :

La phase inverse est majoritairement composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 8 ou 18 atomes de carbones (C8 et C18). Cette phase est apolaire et nécessite donc un éluant polaire tels que l'acétonitrile, le méthanol et l'eau. Dans ce cas, ce sont les composés polaires qui seront élués en premier. Contrairement à une phase normale, il n'y a pas d'évolution de la phase stationnaire au cours du temps, et la qualité de la séparation est donc maintenue constante.

➤ Phases mobiles

Pour la chromatographie en phase normale, les solvants organiques utilisés sont généralement de faible polarité. Un strict contrôle de la teneur en eau résiduelle présente dans les solvants de la phase mobile est nécessaire pour obtenir des résultats reproductibles. Pour la CL en

phase inversée, on utilise des phases mobiles aqueuses, avec ou sans solvants organiques.

Les composants de la phase mobile sont généralement filtrés pour éliminer les particules de taille supérieure à 0,45 μ m (ou à 0,2 μ m si la phase stationnaire se compose de particules inférieures à 2 μ m ainsi qu'en cas d'utilisation de détecteurs spéciaux, par exemple à diffusion de lumière).

Les solvants utilisés pour préparer la phase mobile sont normalement exempts d'agents stabilisants, et transparents à la longueur d'onde de détection si l'on utilise un détecteur UV.

Les solvants et autres composants utilisés doivent être de qualité appropriée. L'ajustement du pH, s'il y a lieu, doit être exclusivement effectué sur le composant aqueux de la phase mobile et non sur le mélange.

III. Matériels

III.1. Équipements utilisés

Les équipements utilisés sont illustrés sur la figure suivante :



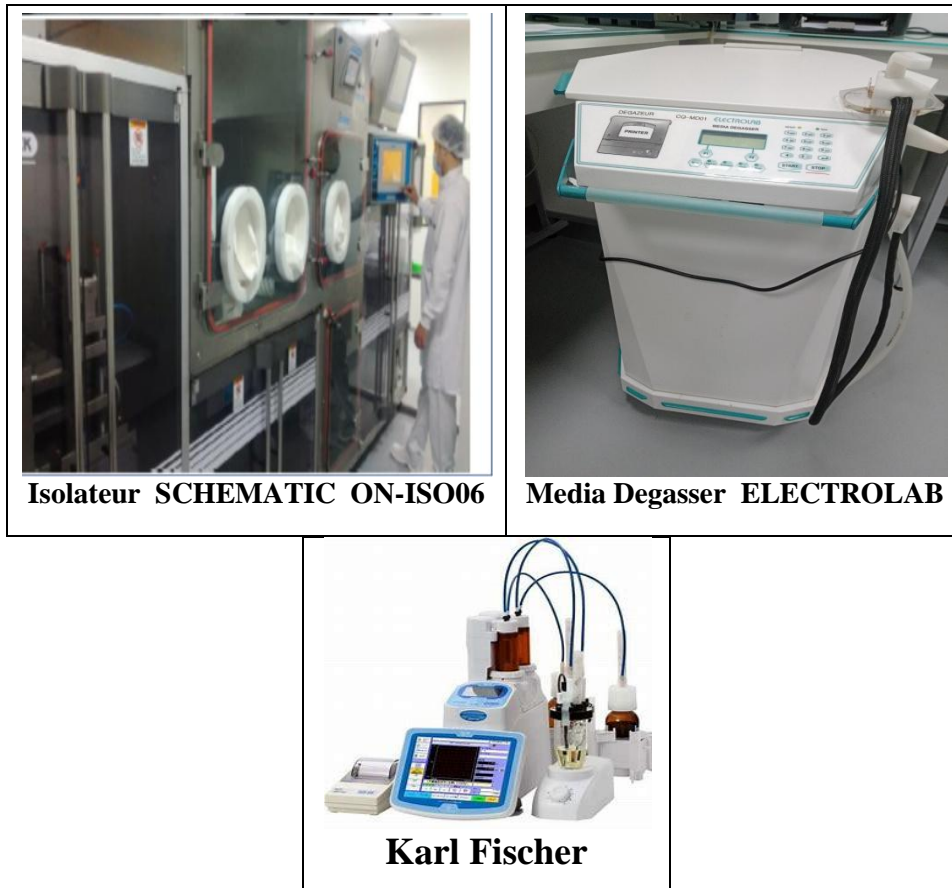


Figure 10 : Les équipements utilisés

III.2. Réactifs utilisés

- Principe actif ;
- L'acétonitrile ;
- Methanol ;
- Acide trifluoroacetic ;
- Ethyl 4-hydroxy benzoate ;
- Eau purifiée.

IV. Méthodes

IV.1. Transfert analytique

Transférer les méthodes de test analytique du département de recherche et de développement analytique d'origine (Celogen) au département de contrôle de la qualité (Biopharm).

Le transfert des méthodes du médicament portera sur les paramètres suivants :

- ✓ Dosage ;
- ✓ Dissolution ;
- ✓ Impuretés.

IV.1.1. Dosage par HPLC

IV.1.1.1. Conditions opératoire

- Colonne : LI (Zorbax SB-C₁₈) 156mm x 4,6 mm, 5µm ou équivalente.
- Débit : 1,0 mL/ min.
- Longueur d'onde: 215nm.
- Volume d'injection : 20µl.
- Température de la colonne : 30°C.
- Temps d'analyse : 15 min ou trois fois le temps de rétention du pic principal du Principe actif.

IV.1.1.2. Préparation des solutions

- **Phase mobile :** Préparé un mélange d'Acétonitrile / Eau purifiée dans la proportion (40/60) V/V. Filtrer à travers un filtre membrane PTFE 0,45µm ou équivalent.
- **Diluant :** Préparé un mélange d'Acétonitrile / Eau purifiée dans la proportion (50/50) V/V.

IV.1.1.2.1. Solution du Standard

Dans une fiole jugée de 100,0 mL. On dissout exactement 50,0 mg du PA WS, dans 70 mL de diluant. On place la fiole dans un bain à ultrason jusqu'à dissolution complète puis on complète au trait de jauge avec le diluant, et on agite.

Dans une fiole 50mL, on dilue 4mL de cette solution avec le diluant, on complète au trait de jauge, et on agite.

IV.1.1.2.2. Solution d'échantillon

Dans une fiole jaugée de 250,0 mL, on introduit exactement 10 comprimés (10 mg de PA) entiers, et on y ajoute environ 100 mL d'eau purifiée puis on agite pendant 10min. Ensuite On Ajoute 100 mL d'acétonitrile. La solution est mise dans un bain à ultrason pendant 15min en agitant de temps en temps et en maintenant la température du bain à 25°C. On complète au trait de jauge avec le diluant puis on centrifuge la solution à 3500 RPM pendant 10min.

IV.1.1.3. Séquence d'injection

Les séquences d'injection sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 01 : Séquence d'injection

| Critère | Norme | Formule de calcul |
|--|--|---|
| Solution standard : 6 fois. | Le %RSD des aires du pic du PA pour les 06 injections de la solution standard, doit être $\leq 2,0\%$. | |
| Solution standard1 (Réinjection): 1 fois | - Le facteur de réinjection de la solution standard 1 doit être compris entre 98% et 102%. - Le facteur de symétrie du pic du PA doit être entre compris 0.8 et 2,0. -Le nombre de plateaux théoriques doit être ≥ 1500 | Réinjection standard = $\frac{\text{Aire Restd}}{\text{Aire std}} \times 100$ |
| -Solution échantillon: 1 fois. | Pour calculer le dosage | % Dosage = $\frac{\text{Aire ech}}{\text{Aire Std}} \times \frac{\text{C std}}{\text{C ech}}$ |

Avec :

Aire Re_{std1} : Aire du pic du PA de la réinjection de la solution standard.

Aire $std1$: Moyenne des aires des pics du PA de la solution standard.

✓ **Limite:** 98 %-102 %.

$$\% \text{ Dosage} = \frac{\text{Aire ech} \times \text{Pe std} \times 250 \times \text{PM} \times \text{P} \times 100}{\text{Aire std} \times 100 \times 50 \times \text{Pe ech} \times \text{LC} \times 100} (\%)$$

Avec :

Aire ech : Aire du pic du PA obtenu dans la solution échantillon.

Aire std : Moyenne des aires du pic du PA obtenu dans la solution standard 1.

C std : Concentration de la solution standard.

C ech : Concentration de la solution échantillon.

Pe_{std}: Prise d'essai du standard (mg).

Pe_{éch}: Prise d'essai de l'échantillon (mg).

PM: Poids moyen de l'échantillon (mg).

P: Pureté du working standard (%).

LC: Dosage théorique de l'échantillon (1 mg).

✓ **Normes:** 90,0% à 110,0%.

IV.1.2. Dissolution par HPLC

IV.1.2.1. Conditions chromatographiques

- Colonne : L1 (Inertsil ODS-3V), 150 mm x 4,6 mm, 5 µm ou équivalente.
- Débit : 1,0 ml/min.
- Longueur d'onde: 215 nm.
- Volume d'injection : 50 µl.
- Température de la colonne : 30°C
- Temps d'analyse: 15min ou 3 fois le temps de rétention du PA.

IV.1.2.2. Conditions opératoires

- Milieu de dissolution: Eau purifiée désaérer
- Volume de dissolution: 900 ml.
- Vitesse de rotation: 50 RPM.
- Température 37°C ± 0,5°C
- Temps de dissolution: 15 min.
- Appareil: Dissolu test à palettes

IV.1.2.3. Préparation des solutions

- **Diluant** : Acétonntrile HPLC/Eau purifiée (50/50) V/V.
- **Phase mobile** : Acétonitrile HPLC/Eau purifiée (40/60) V/V, filtrer à travers un filtre membrane 0,45µm en PTFE ou équivalent, et dégazer.

IV.1.2.3.1. Solution du Standard

Dans une fiole jaugée de 250mL, on dissout exactement 50mg du PA WS avec le diluant et on compléter au trait de jauge, puis on agite.

On fait une dilution 1mL de cette solution à 200mL avec le milieu de dissolution puis on agite la solution.

IV.1.2.3.2. Solution d'échantillon

On Introduit dans chaque vase 900 mL du milieu de dissolution, chauffer à 37° C ± 0,5° C et régler l'agitation à 50RPM, lancer la dissolution. Après le temps spécifié on prélève environ 10ml de chaque vase et on filtre avec un filtre seringue de 0,45µm PTFE ou équivalent.

IV.1.2.4. Séquence d'injections:

Les séquences d'injection sont résumées dans le tableau suivant.

Tableau 02 : Séquences d'injection

| Critère | Norme | Formule de calcul |
|---|--|--|
| Solution standard : 6 fois. | Le %RSD des aires du pic du PA pour les 06 injections de la solution standard 1, doit être ≤2,0%. | % RSD = la moyen / écart type ×100 |
| Solution standard1 (Réinjection): 1 fois | Le facteur de réinjection de la solution standard 1 doit être compris entre 98% et 102%. - Lefacteur de symétrie du pic du PA doit être ≤ 2,0. -Le nombre de plateaux théoriques doit être ≥ 2000. | Facteur de similarité $= \frac{\text{Aire std1} \times \text{Pe std2}}{\text{Aire std2} \times \text{Pe std1}} \times 100$ |
| -Solution échantillon: 1 fois. | Pour calculer la dissolution | % Dissolution = $\frac{\text{Aire ech}}{\text{Aire Std}} \times \frac{\text{C std}}{\text{C ech}}$ |

Avec :

Aire_{std1}: Aire du pic du principe actif dans le standard 1.

Aire_{std2}: Aire du pic du principe actif de la solution standard 2.

Pe_{std1}: Prise d'essai du la solution standard 1 (mg),

Pe_{std2}: Prise d'essai du la solution standard 2 (mg).

✓ **Limites:** 98% à 102 %

Calculer les % en PA dissous après 30 minutes par les formules suivantes :

$$\% D = \frac{\text{Aire ech} \times \text{Pe std} \times 1 \times 900 \times P \times 100}{\text{Aire std} \times 250 \times 200 \times \text{LC} \times 100}$$

Avec :

Aire_{ech}: Aire de pic du PA obtenu dans la solution échantillon.

Aire_{std}: Aires de pic du PA obtenu de la solution standard 1.

Pe_{std}: Prise d'essai du standard (mg).

P: Pureté du working standard (%).

LC: Dosage théorique de l'échantillon (1 mg).

✓ **Normes :** voir le tableau ci-dessous qui résume les critères d'acceptation de la dissolution par rapport au nombre de comprimé testé.

Le tableau suivant représente critères d'acceptation selon le nombre de comprimé effectué à chaque niveau.

Tableau 03 : Critères d'acceptation de la dissolution

| Niveau | Nombre de comprimé testé | Critères d'acceptation |
|--------|--------------------------|---|
| S1 | 6 | Chaque unité doit être ≥85% (Q+5) |
| S2 | 6 | La moyenne de 12 unités (S1+S2) doit être ≥80% (Q) Aucune unité individuelle ne doit être inférieure à 65%(Q-15) |
| S3 | 12 | La moyenne de 24 unités (S1+S2+S3) doit être ≥80%(Q) Au maximum 2 unités peuvent être inférieures à 65%(Q-15) Aucune unités individuelle ne doit être inférieure à 55% (Q-25) |

IV.1.3. Impuretés

IV.1.3.1. Conditions chromatographiques

- Colonne : L42 (HiChrom RPB) 100 mm x 3,2 mm. 5µm ou équivalente.
- Débit: 1,0 ml /min.
- Détecteur: UV à une longueur d'onde de 215nm.
- Injection: 10µl.
- Température de la colonne : 30°C.
- Temps d'analyse: 40 min.

IV.1.3.2. Préparation des solutions

- **Diluant** : Acétonitrile HPLC/Acide trifluoroacétique/Eau purifiée (200/0,8/800) V/V/V.
- **Phase mobile A**:Méthanol HPLC/ Acétonitrile HPLC/ Acide trifluoroacétique / Eau purifiée (200/100/0,7/700) V/V/V/V. Filtrer à travers un filtre membrane 0.45µm en PTFE et dégazer.
- **Phase mobile B**: Méthanol HPLC/ Acétonitrile HPLC/ Acide trifluoroacétique / Eau purifiée (500/250/0,7/250) V/V/V/V. Filtrer à travers un filtre membrane 0.45µm en PTFE et dégazer.

Mode : gradient, faire évoluer la composition des phases mobile au cours de l'analyse comme c'est mentionné dans le tableau ci-dessous.

Tableau 04 : Évaluation des compositions des phases mobile (HPLC)

| Temps (min) | Phase mobile A (%) | Phase mobile B (%) |
|-------------|--------------------|--------------------|
| 0 | 100 | 0 |
| 25 | 100 | 0 |
| 25,1 | 0 | 100 |
| 30 | 0 | 100 |
| 31 | 100 | 0 |
| 40 | 100 | 0 |

IV.1.3.2.1. Solution standard *

Dans une fiole jaugée de 100,0ml, on dissout environ 50,0 mg du PA WS dans 50 ml de diluant, on place la fiole dans un bain ultrason jusqu'à dissolutions complètes puis on le complète au trait de jauge avec le même solvant. Puis on agite.

IV.1.3.2.2. Solution d'éthyl 4-hydroxybenzoate

Dans une fiole jaugée de 50,0ml, on dissout 15mg d'éthyl 4-hydroxybenzoate dans 25ml de diluant, on place la fiole dans un bain ultrason en agitant de temps en temps jusqu'à dissolution complète en suite on complète au volume avec le même solvant. Puis on agite.

IV.1.3.2.3. Solution de système suitability

Dans une fiole jaugée de 100,0ml, on transfère 2.0 ml de la solution standard* et 2,0ml de solution éthyl 4-hydroxybenzoate préparé, puis on complète au volume avec le diluant. Plus une agitation.

IV.1.3.2.4. Solution du standard

Dans une fiole jaugée de 100,0ml, on transfère 2 ml de la solution standard* puis la compléter au volume avec le diluant et on agite.

IV.1.3.2.5. Solutions d'échantillon

On broie finement 25 comprimés prélevés au hasard.

Dans une fiole jaugée de 10.0ml, on dissout l'équivalent de 10 mg du PA (soit 1030 mg du broyat) dans 10ml de diluant. On place la fiole dans un bain ultrason en agitant de temps en temps pendant 30 min, et le laisser refroidir puis le filtrer à travers un filtre seringue 0,45µm (PVDF) ou équivalent. Si le filtrat n'est pas clair, filtrer à nouveau l'échantillon à travers un filtre seringue 0.2µm (PVDF) ou équivalent.

IV.1.3.3. Séquence d'injection

- Blanc (Diluant): 01 fois.
- Solution système suitability : 01 fois.
- Solution standard : 06 fois.
- Solution échantillon : 01 fois.

IV.1.3.4. Conformité du système :

- La résolution entre le pic d'éthyl 4- hydroxybenzoate et celui du PA obtenue dans la solution système suitability doit être $\geq 4,0$.
- Le nombre de plateaux théoriques du pic principal obtenu dans la solution standard doit être ≥ 1500 .
- Le facteur de symétrie du pic principal obtenu dans la solution standard doit être compris entre 0,9 et 1,3.
- Le % RSD des aires du pic principal obtenu dans les 6 injections successives de la solution standard doit être $\leq 5,0\%$.

IV.1.3.5. Calcul

$$\% \text{ Impuretés individuelles} = \frac{\text{Aire éch} \times \text{Pe std} \times 2 \times 10 \times \text{PM} \times \text{P} \times 100}{\text{Aire std} \times 100 \times 100 \times \text{Pe ech} \times \text{LC} \times 100}$$

$$\% \text{ Total des impuretés} = \Sigma (\% \text{ impuretés connus}) + \Sigma (\% \text{ impuretés inconnus}).$$

Avec :

Aire éch: Aire du pic de l'impureté obtenu dans la solution échantillon.

Aire std: Moyenne des aires du pic du PA obtenu dans la solution standard.

Pe std: Prise d'essai du standard du PA (mg).

Pe ech: Prise d'essai de l'échantillon (mg).

PM: Poids moyen (mg).

P: Pureté du principe actif Working standard (%).

LC: Dosage théorique du PA (soit 1 mg).

- ✓ **Norme:** Voir tableau ci-dessous les critères d'acceptation des impuretés.

Tableau 05 : Critère d'acceptation des impuretés

| Nom | Temps de rétention relatif (RRT) | Critère d'acceptation |
|-------------------------|----------------------------------|-----------------------|
| Impureté 1 | 0,11 | 0,5% |
| Impureté 2 | 0,26 | 0,5% |
| Impureté 3 | 0,30 | 0,5% |
| Impureté 4 | 0,51 | — |
| Impureté 5 | 0,71 | 0,5% |
| Impureté 6 | 0,87 | 0,5% |
| PA | 1,00 | — |
| Autre impureté inconnue | — | ≤0,5% |
| Total des impuretés | — | ≤1,0% |

IV.2. Contrôle qualité du produit fini

- **Solution standard A**

Dans une fiole jaugée de 50,0ml, on dissout 25mg du PA WS dans 35ml de diluant. On place la fiole dans un bain ultrason jusqu'à dissolution complète puis on le complète au trait de jauge, et on agite.

On dilue 4 ml de cette solution avec 50 ml de diluant et on agite.

- **Solution échantillon A**

Dans une fiole jaugée de 250,0ml on introduit 1 g de granulé du PA puis ajouter 10ml d'eau purifié et on agite pendant 10 mn.

Après agitation on ajoute 100ml d'acétonitrile et on place la fiole dans un bain ultrason jusqu'à dissolution complète pendant 15mn. La solution est centrifugée pendant 10 mn à 3500 RPM, ensuite on complète avec le diluant jusqu'au trait de jauge, et on agite.

IV.2.1. Aspect

Comprimé pelliculé de couleur jaune rond et biconvexe avec gravure (B) sur une face

IV.2.2. Identification

IV.2.2.1. Identification par HPLC

Dans le test du dosage, le temps de rétention du pic principal de la solution échantillon doit correspondre à celui du pic principal obtenu avec la solution standard. (Réaliser en même temps que le dosage moyen).

IV.2.2.1.1 Condition opératoires

- Colonne : LI (Zorbax SB-C₁₈) 156mm x 4,6 mm, 5µm ou équivalente.
- Débit : 1,0ml/min
- Détecteur : UV
- Température de la colonne : 30 C°
- Température de l'injection : ambiante
- Volume d'injection : 20µl
- Longueur d'onde : 210nm

IV.2.2.1.2. Préparation des solutions

- **Phase mobile** : Acétonitrile HPLC / Eau purifiée (40/60) V/V. Filtrer à travers un filtre membrane PTFE 0,45µm ou équivalent.
- **Diluant** : Acétonitrile HPLC / Eau purifiée (50/50) V/V.

La solution standard et échantillon comme décrite on avant

Injection solution standard A et la solution échantillon A.

IV.2.2.2. Identification par UV

On fait balayage de la solution standard et de la solution échantillon UV PDA (détecteur diode) dans un intervalle 210 – 400nm

- ✓ **Norme :** Le spectre UV obtenue avec le pic principal de la solution échantillon doit correspondre à celui obtenue avec la solution standard dans l'intervalle de 210 nm à 400 nm (Un maximum d'absorption apparait à environ 261,7 nm).

IV.2.3. Poids moyen

Prélever 20 comprimés au hasard et déterminer le poids moyen.

- ✓ **Norme :** Le poids moyen doit être compris entre 97.9mg et 108,2mg

IV.2.4. Uniformité des préparations uni doses

Lors de l'essai de dosage, le temps de rétention du pic principal de la solution d'échantillon doit être identique à celui du pic principal obtenu avec la solution étalon.

IV.2.4.1. Condition opératoires

- Colonne : LI (Zozbax SB-C₁₈) 156mm x 4,6 mm, 5µm ou équivalente.
 - Débit : 1,0ml/min
 - Détecteur : UV
 - Température de la colonne : 30 C°
 - Température de l'injection : ambiante
 - Volume d'injection : 20µl
 - Longueur d'onde : 210nm
- **Phase mobile :** Acétonitrile HPLC / Eau purifiée (40/60) V/V. Filtrer à travers un filtre membrane PTFE 0,45µm ou équivalent.
- **Diluant :** Acétonitrile HPLC / Eau purifiée (50/50) V/V.

IV.2.4.2. Préparation des solutions

IV.2.4.2.1. Solution échantillon B

Pour vérifier le dosage des 10 comprimés séparément.

Dans une fiole jaugée de 25,0 ml, après une pesée et une transformation d'un comprimé entiers, on ajoutant environ 10 ml d'eau purifiée en agitant 10min. puis on joutant 10 ml d'acétonitrile et le mettre dans un bain à ultrason pendant 15min en agitant de temps en temps (maintien de la température du bain à 25°C) puis on complète au trait de jauge avec le diluant et le centrifuger à 3500 RPM pendant 10min.

Note : Cette solution est stable 48h à température ambiante.

IV.2.4.3. Calcul

Calculer la quantité en % PA en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ Dosage} = \frac{\text{Aire ech} \times \text{pe std} \times 4 \times p \times 100}{\text{Aire std} \times 250 \times 50 \times \text{LC} \times 100} \%$$

Avec :

Aire ech: Aire du pic de PA obtenu dans la solution échantillon.

Aire std: Moyenne des aires du pic de PA obtenu dans la solution standard1.

Pe std: Prise d'essai du standard (mg).

P: Pureté du working standard (%).

LC: Dosage théorique de l'échantillon (1 mg).

✓ **Norme :** $VA \leq 15,0$

IV.2.5. Calcul de l'uniformité de dosage

Détermination de la moyenne X des dosages individuels:

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Détermination de la déviation standard (s)-écart type- des dosages individuels

$$S = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (xi - \bar{X})^2}}{n - 1}$$

➤ **Calcul de la valeur d'acceptation VA:**

$$VA = M - \bar{X} + KS$$

Avec :

K: constante d'acceptation

M: valeur de référence

n: nombre d'unités analysées

$$K = \begin{cases} 2,4 & \text{si } n = 10 \\ 2,0 & \text{si } n = 30 \end{cases} \quad M = \begin{cases} 98,5\% & \text{si } \bar{X} \leq 98,5\% \\ 101,5\% & \text{si } \bar{X} \geq 101,5\% \\ \bar{X} & \text{si } 98,5\% \leq \bar{X} \leq 101,5\% \end{cases}$$

➤ **Critères d'acceptation :**

Si n=10, les critères d'acceptation mentionnés dans le tableau ci-dessous

Tableau 06 : Critères d'acceptations (VA)

| n | VA | Action |
|----|------|--|
| 10 | ≤15 | Conforme |
| | > 15 | Élargie test sur 20 sachets supplémentaire |

Si n = 30, un facteur individuel "Yi" doit être calculé:

$$Y = \frac{Xi \times 100}{\bar{X}}$$

Les critères d'acceptations sont mentionnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 07 : Critères d'acceptations des facteurs individuel

| n | VA | Y _I | Action |
|----|------|---|----------|
| 30 | ≤15 | Aucune valeur ne se trouve en dehors de 0,75-1,25 de M | Conforme |
| | > 15 | Au minimum une valeur se trouve en dehors de 0,75-1.25 de M | Conforme |

Remarque :

- La même procédure de contrôle qualité pour les 03 lots de validation.
- La méthode effectuer pour le contrôle de dosage, dissolution et impureté est celle valider dans le transfère analytique.

Chapitre III :

Résultats et discussions

Introduction

Les résultats de transfert analytique et contrôle qualité physico-chimique du produit fini, médicament inhibiteurs aromatase dans le cancer du sein comprimé à 1 mg, obtenus dans le laboratoire BIOPHARM ont été comparés aux normes de la pharmacopée européen et aux résultats obtenus avec le laboratoire émetteur (Celogen).

II.1. Transfert analytique

Après application des formules de calcul les résultats sont résumés dans les tableaux ci-dessous.

II.1.1. Dosage

II.1.1.1. Système suitability

Les résultats obtenus pour le système suitability pour laboratoire émetteur et le laboratoire receveur sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 08 : Système de suitability pour le test de dosage

| Spécification | Critères d'acceptation | Valeurs obtenue | |
|--|------------------------|-----------------|-------------|
| | | Celogen | Biopharm |
| Le % RSD pour l'aire de pic du PA à partir des réinjections de la solution standard. | $\leq 2,0\%$ | 0,30 | 0,1 |
| Facteur de symétrie de pic du PA dans la solution standard. | $\leq 2,0\%$ | 1,32 | 1,05 |

II.1.1.2. Résultats

Les résultats de dosage du médicament sont montrés dans le tableau 09 et tableau 10 ci-dessous.

Tableau 09 : Résultats de dosage

| Essais | Résultats | |
|--|-------------|----------|
| | Celogen lab | Biopharm |
| 1 | 107,6 | 101,6 |
| 2 | 101,6 | 101,6 |
| % Dosage moyen (Limite : 90-110 %) | 104,6 | 101,6 |
| % La différences absolues entre les deux laboratoires (Limite : $\leq 3\%$) | 3 | |

Tableau 10 : Résultats de calcul de dosage moyen

| Echantillons | BIOPHARM | | CELOGEN | |
|----------------------|----------|---------|---------|---------|
| | Essai 1 | Essai 2 | Essai 1 | Essai 2 |
| Aire du pic de std | 1611774 | 1611774 | / | / |
| Aire du pic de l'ech | 1649727 | 1649784 | / | / |
| Teneur % | 101,6 | 101,6 | 107,6 | 101,6 |
| Dosage moyen | 101,6 | | 104,6 | |
| Ecart type | 0 | | 4,2 | |
| RSD (%) | 0 | | 0,04 | |

La différence entre les deux laboratoires (%) = $|| 104,6 - 101,6 || = 3 \%$

✓ Normes :

- % Dosage moyen (Limite : 90-110 %)
- % La différences absolues entre les deux laboratoires (Limite : $\leq 3\%$)

I.1.1.3. Discussion

Le RSD des deux laboratoires émetteur et receveur sont inférieurs à 2.0% ($RSD \leq 2.0\%$). La différence relative inter laboratoires est quant à elle inférieure à 3 %.

Les résultats du dosage sont conformes selon les critères d'acceptation.

- **Observation :**

- Voir fiche de calcul et chromatogrammes (Annexe 4)

II.1.2. Dissolution

II.1.2.1. Système suitability

Les résultats obtenus pour le système suitability pour laboratoire émetteur et le laboratoire receveur (HPLC) sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 11 : Système suitability pour la dissolution

| Spécification | Critère d'acceptation | Valeurs observés | |
|---|-----------------------|------------------|-------------|
| | | Celogen | Biopharm |
| Le % RSD pour l'aire du pic de PA à partir réinjection de la solution standard. | $\leq 2,0\%$ | 0,30 | 0,1 |
| Facteur de symétrie de pic du PA dans la solution standard. | $\leq 2,0\%$ | 1,03 | 1,06 |

I.1.2.2. Résultats

Les résultats de la dissolution de médicament sont montrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 12 : Résultats de la dissolution

| N° Cp | BIOPHARM | | | | | | Celogen | | | |
|-------|----------------|---------|---------------|-----------|-----|------|---------------|-----------|-----|-------|
| | Aires des pics | | Dissolution % | Résultats | | | Dissolution % | Résultats | | |
| | Sol éch | Sol std | | MOY | S | RSD% | | MOY | S | RSD % |
| 1 | 114823 | 107600 | 94,6 | 95,5 | 3,0 | 3,2 | 103,6 | 100,3 | 2,5 | 2,5 |
| 2 | 113780 | 107600 | 93,7 | | | | 97,8 | | | |
| 3 | 120744 | 107600 | 99,5 | | | | 101,2 | | | |
| 4 | 111446 | 107600 | 91,8 | | | | 96,8 | | | |
| 5 | 114193 | 107600 | 94,1 | | | | 100,3 | | | |
| 6 | 119910 | 107600 | 98,8 | | | | 101,3 | | | |

S : Ecart-type

| |
|---|
| <p>La différence entre les deux laboratoires (%) = $\ 100,3 - 95,5 \ = 4,9\%$</p> |
|---|

✓ Normes :

- Chaque unité doit être $\geq 85\%$
- % RSD $\leq 5\%$ entre les deux laboratoires

I.2.3. Discussion

Les coefficients de variation relatifs à la méthode d'analyse de dissolution des deux laboratoires, émetteur et receveur, sont inférieurs à 5% (RSD $\leq 5\%$).

Les résultats d'analyse de dissolution sont conformes selon les critères d'acceptation.

- **Observation :**

- Voir fiche de calcul et chromatogrammes (Annexe 5).

II.1.3. Impureté

II.1.3.1. Système de suitability

Les résultats obtenus pour le système suitability pour laboratoire émetteur et le laboratoire receveur (HPLC) sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 13 : Système de suitability pour l'impureté

| Spécification | Critères d'acceptation | Valeurs observe | |
|---|--------------------------|-----------------|-------------|
| | | Celogen | Biopharm |
| La résolution entre les pics dus à éthyl-4 hydroxybenzoate et au PA | Supérieur à 4 | 6,07 | 5,97 |
| l'écart-type relatif pour l'aire de pic du PA à partir de réinjection de la solution standard | $\leq 5,0\%$ | 3,10 | 0,4 |
| Facteur de symétrie de pic du PA | $\leq 0,9$ et $\leq 1,3$ | 1,05 | 1,02 |

II.1.3.2. Résultats

Les résultats des impuretés de médicament sont montrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 14 : Résultats d'impureté

| Nom d'impureté | Limite | Résultats | | Différence cumulée en % |
|---|--------------|-------------|-------------|-------------------------|
| | | Celogen | Biopharm | |
| Impureté 1 | $\leq 0,5\%$ | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Impureté 2 | $\leq 0,5\%$ | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Impureté 3 | $\leq 0,5\%$ | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Impureté 4 | ----- | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Impureté 5 | $\leq 0,5\%$ | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Impureté 6 | $\leq 0,5\%$ | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Toute impureté individuelle non spécifiée | $\leq 0,5\%$ | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Impuretés totales | $\leq 1,0\%$ | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Cumul des différences en % pour les impuretés individuelles ($\leq 15\%$) | $\leq 15\%$ | 0,00 | | |
| Cumul des différences en % pour les impuretés totales ($\leq 15\%$) | $\leq 15\%$ | 0,00 | | |

✓ Normes :

- Toute impureté individuelle $\leq 0,5\%$
- Impuretés totales $\leq 1,0\%$
- Cumul des différences en % pour les impuretés totales ($\leq 15\%$)

I.3.3. Discussion

Comparant les résultats obtenus par Celogen et BIOPHARM, le taux des impuretés totale est inférieure à 1 ainsi le taux de cumul pour les impuretés totales est inférieur à 15%.

Les résultats d'analyse d'impureté sont conformes selon les critères d'acceptation.

• Observation :

- Voir fiche de calcul et chromatogrammes (Annexe 6)

II.1.4. Discussion générale

Pour cette étude inter laboratoires, l'ensemble des critères d'acceptation définis dans le protocole sont respectés. Les résultats obtenus permettent de valider le transfert des méthodes de dosage des principes actifs, de dissolution et d'impureté par HPLC de ce médicament au laboratoire CQ de PROFAM.

II.2. Contrôle qualité du produit fini**II.2.1. Aspect**

Les résultats d'une analyse visuelle de l'apparence sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 15 : Aspect de médicament

| Norme | Résultat |
|--|--|
| Comprime pellicule de couleur jaune, rond et biconvexe avec gravure B sur une face | Comprime pellicule de couleur jaune, rond et biconvexe avec gravure B sur une face |

II.2.1.1. Discussion

Selon la norme l'aspect est conforme

II.2.2. Identification

Ce médicament a été identifié par 2 tests pour confirmer sa conformité par rapport aux normes de la pharmacopée européenne.

II.2.2.1. Identification par HPLC (en même temps que le dosage)

Dans l'identification par HPLC on a obtenu 2 chromatogrammes, la figure 11 correspond au chromatogramme résultant d'analyse de la solution standard et la figure 12 correspond au chromatogramme résultant d'analyse de la solution échantillon.

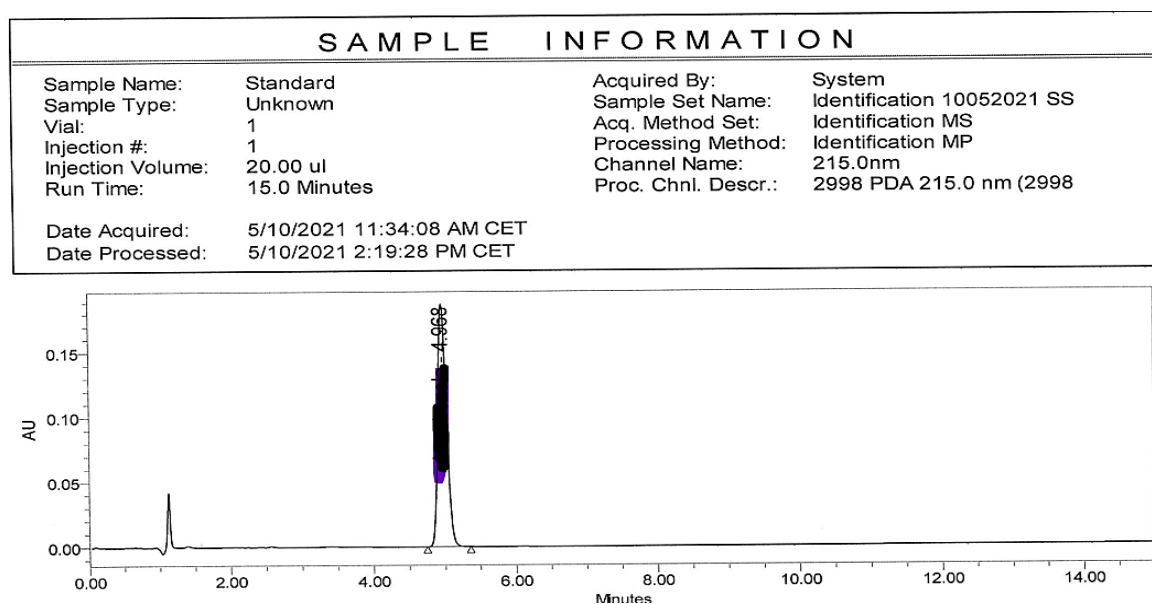


Figure 11 : Chromatogramme de la solution standard

| | | | |
|-------------------|----------------------------|---------------------|----------------------------|
| Sample Name: | [REDACTED] 1mg lot 002 | Acquired By: | System |
| Sample Type: | Unknown | Sample Set Name: | Identification 10052021 SS |
| Vial: | 3 | Acq. Method Set: | Identification MS |
| Injection #: | 1 | Processing Method: | Identification MP |
| Injection Volume: | 20.00 ul | Channel Name: | 215.0nm |
| Run Time: | 15.0 Minutes | Proc. Chnl. Descr.: | 2998 PDA 215.0 nm (2998) |
| Date Acquired: | [REDACTED] 12:05:36 PM CET | | |
| Date Processed: | [REDACTED] 12:23:58 PM CET | | |

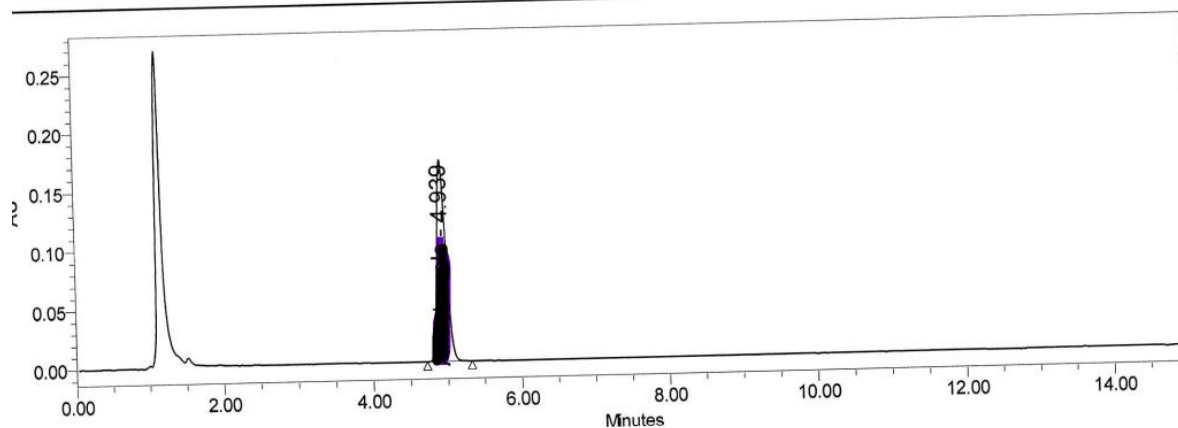


Figure 12 : Chromatogramme de la solution échantillon

- **Observation :**

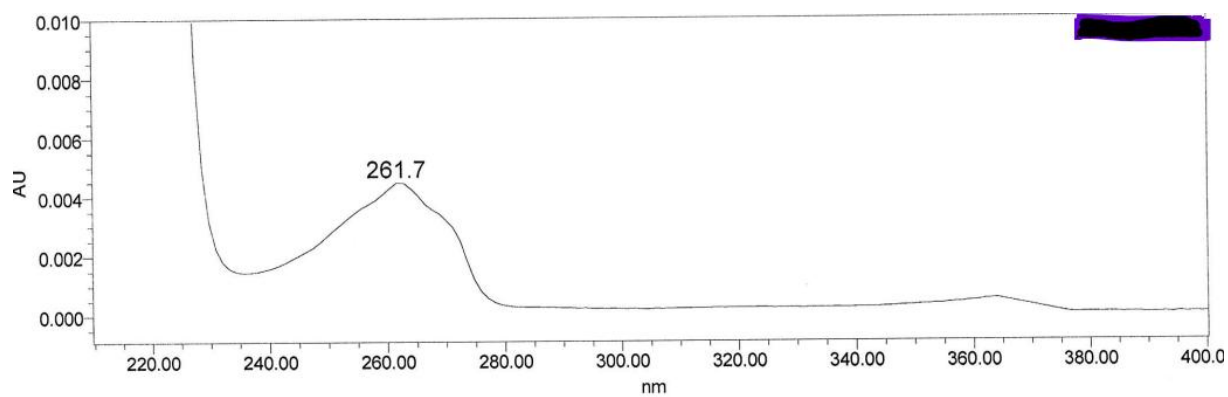
- Voir chromatogrammes (Annexe 7)

II.2.2.1.1 Discussion

D'après les chromatogrammes obtenus, on remarque que les 2 pics sont semblable, même allure et le temps de rétention du pic principal de la solution échantillon doit correspondre à celui du pic principal obtenu avec la solution standard. Selon la norme, l'identification par HPLC est conforme.

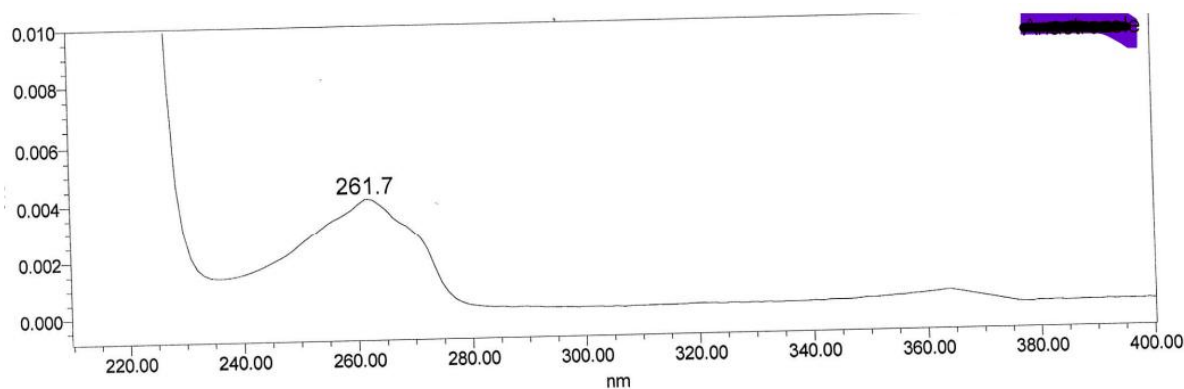
II.2.2.2. Identification par HPLC (détecteur PDA)

Le teste d'identification effectuée par HPLC (détecteur PDA) nous donne les deux spectres, suivant, où la figure 13 représente le spectre de la solution standard et la figure 14 représente le spectre de la solution échantillon.



| | Peak Name | RT | Area | % Area | Height |
|---|-----------|-------|---------|--------|--------|
| 1 | | 4.968 | 1574892 | 100.00 | 188208 |

Figure 13 : Spectre de la solution standard



| | Peak Name | RT | Area | % Area | Height |
|---|-----------|-------|---------|--------|--------|
| 1 | | 4.939 | 1404445 | 100.00 | 170485 |

Figure 14 : Spectre de la solution échantillon

- **Observation :**

- Voir chromatogramme (Annexe 7)

II.2.2.2.1 Discussion

Le spectre UV obtenue avec le pic principal de la solution échantillon doit correspondre à celui obtenue avec la solution standard avec une absorbance maximal apparait à 261,7nm. Selon la norme est conforme.

II.2.3. Poids moyen

Le tableau ci-dessous représente le teste effectuer sur les 20 comprimé pour déterminer le poids moyen ainsi le résultat obtenu est dans les normes.

Tableau 16 : Résultats de poids moyen

| Norme | Résultat |
|----------------------------------|----------|
| 103,0mg± 5% (97,9 mg à 108,2 mg) | 103,3 mg |

II.2.3.1. Discussion

Selon la norme le résultat du poids moyen est conforme

II.2.4. Dissolution par HPLC

Résultat de la dissolution niveau S1 (si le résultat du niveau S1 n'est pas satisfait passer au niveau S2, S3 et reporter les résultats au verso) indiqué dans le tableau 18 ci-dessous.

Tableau 17 : Résultats de dissolution des 6 comprimés (S1)

| N° Cp | Aires des pics | | Dissolution % | Résultats | | |
|-------|----------------|--------------|---------------|-----------|------|------|
| | Solution éch | Solution std | | MOY | MIN | MAX |
| 1 | 108176 | 109757 | 89,8 | 98,3 | 85,4 | 95,0 |
| 2 | 108742 | 109757 | 90,3 | | | |
| 3 | 102875 | 109757 | 95,4 | | | |
| 4 | 114441 | 109757 | 85 | | | |
| 5 | 108414 | 109757 | 90 | | | |
| 6 | 102825 | 109757 | 85,4 | | | |

- **Observation :**

- Voir la fiche de calcul et chromatogrammes (Annexe 9)

II.4.2.1. Discussion

La méthode de la dissolution est validée par la méthode de transfert analytique, selon les normes les résultats sont conformes.

II.2.5. Dosage moyen par HPLC

Le tableau ci-dessous présente les résultats de dosage moyen

Tableau 18 : Résultats de dosage moyen par HPLC

| Norme | Résultat (Dosage moyen) |
|------------|-------------------------|
| 90% à 110% | 98,4% |

II.2.5.1. Discussion

Le résultat de dosage moyen est conforme

- **Observation :**

- Voir la fiche de calcul et chromatogrammes (Annexe 10)

II.2.5.1. Discussion

La méthode de dosage moyen est validée par la méthode de transfert analytique, selon les normes d'acceptation est conforme.

II.2.6. Uniformité des préparations uni doses

Les résultats sont résumés dans le tableau 20.

Tableau 19 : Résultats d'uniformité des préparations uni doses

| N° d'échantillon | Aires des pics | | Teneur (%) |
|-------------------|----------------|---------|------------|
| | Sol éch | Sol std | |
| 1 | 1643743 | 1670548 | 97,59 |
| 2 | 1686036 | 1670548 | 100,1 |
| 3 | 1671798 | 1670548 | 99,25 |
| 4 | 1608261 | 1670548 | 95,48 |
| 5 | 1707977 | 1670548 | 101,4 |
| 6 | 1642337 | 1670548 | 97,5 |
| 7 | 1604013 | 1670548 | 95,23 |
| 8 | 1612406 | 1670548 | 95,73 |
| 9 | 1695754 | 1670548 | 100,68 |
| 10 | 1606694 | 1670548 | 95,39 |
| Moyenne | | | 97,8 |
| Ecart-type | | | 2,4 |
| % RSD | | | 2,4 |
| VA | | | 6,4 |

II.2.6.1. Discussion

La valeur d'acceptation (VA) est inférieure à 15, selon les normes le test est conforme.

- **Observation :**

- Voir fiche de calcul et chromatogrammes (Annexe 8)

II.3.7. Impureté par HPLC

Le tableau suivant présente les résultats d'impureté.

Tableau 20 : Résultats d'impureté

| Nom | Critère d'acceptation | Résultat |
|-------------------------|-----------------------|--------------|
| Impureté 1 | $\leq 0,5\%$ | Non Détecter |
| Impureté 2 | $\leq 0,5\%$ | Non Détecter |
| Impureté 3 | $\leq 0,5\%$ | Non Détecter |
| Impureté 4 | $\leq 0,5\%$ | Non Détecter |
| Impureté 5 | $\leq 0,5\%$ | Non Détecter |
| Impureté | $\leq 0,5\%$ | Non Détecter |
| PA | $\leq 0,5\%$ | Non Détecter |
| Autre impureté inconnue | $\leq 0,5\%$ | Non Détecter |
| Total des impuretés | $\leq 0,1\%$ | Non Détecter |

II.3.7.2. Discussion

Aucune impureté n'est détectée, d'après les normes l'analyse d'impureté est conforme.

- **Observation :**

- Voir fiche de calcul et chromatogrammes (Annexe 11).

II.3.7.3. Discussion générale

Les résultats de toutes les identifications et les essais sont appropriés aux normes données dans les pharmacopées européennes et montrent que le produit fini est conforme et adéquat pour la production.

Conclusion générale

Le transfert des méthodes analytiques est désormais totalement intégré au cycle de la mise au point des nouveaux produits pharmaceutiques. En effet, les transferts des méthodes sont de plus en plus utilisés à cause de la pression économique exercée par la rationalisation des sites de production, l'externalisation analytique et le regroupement/fusion de groupes pharmaceutiques.

Dans notre travail nous avons réalisés un transfert analytique utilisant l'approche de test comparatif. En effet, la méthode suivie et qui fait référence aux documents internes PROFAM se base sur l'approche descriptive en comparant les résultats du laboratoire émetteur (Celogen Pharma Pvt. Ltd) et du laboratoire receveur (BIOPHARM). L'analyse des résultats obtenus par les deux laboratoires (émetteur et receveur) démontre qu'ils sont conformes aux critères d'acceptation prédéfinis.

Différentes analyses physico-chimiques pour contrôler la qualité du produit fini au sein du laboratoire PROFAM ont été réalisés. Plusieurs techniques d'analyse considérable permettent de veiller à ce que la qualité du produit fini soit respectée conformément aux prescriptions de la pharmacopée européenne et du certificat du fournisseur pour garantir la conformité réglementaire des produits afin d'en assurer la qualité, sécurité et l'efficacité.

En conclusion, le transfert des méthodes de dosage, de dissolution et d'impureté par HPLC dans le médicament étudié est accepté. Les méthodes de contrôle peuvent à présent être utilisées pour le contrôle de routine au niveau du site receveur. Les résultats de toutes les identifications et les essais sont apte aux normes données dans les pharmacopées européennes et le certificat du fournisseur et montrent que le produit fini est conforme et adéquat pour la production.

Références bibliographiques

- ¹ Kelly, C. M., & Buzdar, A. U. (2010). Anastrozole. Expert Opinion on Drug Safety, 9(6), 995–1003.
- ² Britannica, Les rédacteurs de l'Encyclopédie. "Cancer du sein". Encyclopedia Britannica, 12 novembre 2021, <https://www.britannica.com/science/breast-cancer>. Consulté le 1 juin 2022.
- ³ Brueggemeier, RW (2006). Mise à jour sur l'utilisation des inhibiteurs de l'aromatase dans le cancer du sein. Avis d'expert sur la pharmacothérapie, 7(14), 1919–1930.
- ⁴ Code de la santé publique - Article L5121 - 1. Code de la santé publique.
- ⁵ La Rédaction Médisite, <https://www.medisite.fr/d-medicaments-generiques>. 17/02/2015.
- ⁶ Ouazouaz, M., 2013. Etude d'un produit pharmaceutique, médicament générique à usage humain. Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat. Université Badji Mokhetar-Annaba Faculté des sciences, Département de Biochimie, Option : Biochimie Appliquée.
- ⁷ Document interne, Procédure Générale "ETABLISSEMENT DU TRANSFERT DES METHODES ANALYTIQUES", N°03 (PROFAM 06 15, 2020).
- ⁸ QASEM, A. E. (2012). THESE DE DOCTORAT. *Contribution au développement du contrôle de qualité des produits pharmaceutiques: validation et transfert des procédures analytiques selon différentes approches* (p. 25). Rabat: Université Mohammed V- Souissi.
- ⁹ Rozet, E., Dewé, W., Ziemons, E., Bouklouze, A., Boulanger, B., & Hubert, P. (2009). Methodologies for the transfer of analytical methods: A review. Journal of Chromatography B, 877(23), 2214–2223.
- ¹⁰ The United States Pharmacopeia (USP), Chapter <1224>.
- ¹¹ Swartz, M. E., & S.Krull, I. (2012). *Handbook of analytical validation*. Boca Raton London New York: CRC Press is an imprint of the Taylor & Francis Group (p 169) .
- ¹² Ansm. (2013). Bonnes pratiques de fabrication.
- ¹³ Willyla S. (1996). Le manager, la qualité et les normes ISO, Edition Masson, Paris, page : 148.
- ¹⁴ Pharmacopée européenne 2014.
- ¹⁵ LeHir (2001)_B Abrégés de pharmacie galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments, 8^{ème} édition. Masson, 2001. p: 251-77.

Références bibliographiques

¹⁶ A. LeHir (2001) _C, Biodisponibilité des formes orales. I: Abrégés de pharmacie galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments, 8^{ème} édition. Masson, p: 290- 304.

¹⁷ MIRI Faïza, ASPECTS TECHNIQUE-RÉGLEMENTAIRES DU CONTRÔLE DE QUALITÉ, Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master en Pharmacie Industrielle, Université Abou Bekr BELKAID de Tlemcen 2014.

¹⁸ Scriban R. (1999). Biotechnologie Tec & Doc. 5^{ème} Edition, Paris, page : 927.

Annexes

Résumé

La conformité des produits finis à usage pharmaceutique permet d'avoir une vue précise et détaillée du niveau de qualité, ce qui renforce la fiabilité d'un médicament.

Notre travail consiste à réaliser un transfert analytique utilisant l'approche comparatif qui se base sur l'approche descriptive en comparant les résultats du laboratoire émetteur (Celogen) et du laboratoire receveur (BIOPHARM) et un contrôle physico-chimique du produit fini d'un médicament anticancéreux d'inhibiteur d'aromatase dans le cancer du sein à fin d'étudier, d'apprécier et d'évaluer les résultats pour assurer que ce médicament produit est bien maîtrisé. En effet, la méthodologie suivie et qui a pour référence à la fois le document interne PROFAM ainsi que les normes de pharmacopée européenne.

Le transfert des méthodes de dosage, de dissolution et d'impureté par HPLC ainsi les différentes analyses de contrôle physico-chimique ont été réalisés : un contrôle visuel pour vérifier l'aspect, l'identification par HPLC et par UV, poids moyen, Uniformité des préparations uni doses et l'uniformité de dosage.

Les résultats obtenus par les deux laboratoires (émetteur et receveur) démontrent qu'ils sont conformes aux critères d'acceptation prédéfinis ainsi les résultats de contrôle physico-chimique sont conforme et similaires aux normes données dans la pharmacopée européenne et le certificat de fournisseur, Le médicament est de bonne qualité physico-chimique.

Mots clés : Cancer du sein, inhibiteurs d'aromatase, transfert analytique, contrôle qualité physico-chimique.

Summary

The conformity of finished products for pharmaceutical use allows to have an accurate and detailed view of the quality level, which reinforces the reliability of a drug.

Our work consists in carrying out an analytical transfer using the comparative approach which is based on the descriptive approach by comparing the results of the issuing laboratory (Celogen) and the receiving laboratory (BIOPHARM) and a physico-chemical control of the finished product of an aromatase inhibitor anticancer drug in breast cancer in order to study, assess and evaluate the results to ensure that this drug produced is well controlled. Indeed, the methodology followed and which has for reference both the internal document PROFAM as well as the European pharmacopoeia standards.

The transfer of the methods of dosage, dissolution and impurity by HPLC as well as the various analyses of physico-chemical control were carried out: a visual control to check the aspect, the identification by HPLC and by UV, average weight, uniformity of the single-dose preparations and the uniformity of dosage.

The results obtained by the two laboratories (issuer and receiver) show that they are in conformity with the predefined acceptance criteria. The results of physicochemical control are in conformity and similar to the standards given in the European pharmacopoeia and the supplier's certificate, the drug is of good physicochemical quality.

Key words: Breast cancer, aromatase inhibitors, analytical transfer, physicochemical quality control.