

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI TIZI-OUZOU**



**Faculté des sciences
Département de chimie
Mémoire de Master en Chimie
Spécialité : Chimie Pharmaceutique**

Présenté par :

M^{elle} KEMEL Kamilia

M^{elle} KACI Célia

Thème

Validation analytique d'une méthode de dosage de Dompéridone par spectrophotométrie d'absorption dans l'UV et application au profil de dissolution comparatif du médicament générique Peridium comprimés 10 mg et le princeps Motilium

Soutenu publiquement le 04 / 07 / 2013 devant le jury composé de :

Mr MOUSSAOUI Ramdane	MCA (UMMTO)	Président
Mme FERNANE Farida	MCA (UMMTO)	Examinatrice
Mme BELMAHDI Lila	MAA (UMMTO)	Examinatrice
Mr MAMOU Marzouk	MAHU (UMMTO)	Encadreur
Mr KADAOUI Abdellatif	Directeur du LCQ (GenericLab)	Co-Encadreur

Remerciements

*Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire **GenericLab** sous la direction de Monsieur **M.MAMOU** et la co-direction de Monsieur **A.KADAoui**.*

*Monsieur **M.MAMOU**, Quoiqu'on dise, les mots ne seront jamais à la portée de ce qu'on ressent. Nous tenons à vous remercier chaleureusement d'avoir bien voulu encadrer et suivre avec bienveillance la réalisation de ce travail, toutes nos reconnaissances pour vos précieux conseils, aides et surtout pour tout le temps que vous avez pu consacré à ce mémoire, malgré vos responsabilités.*

*C'est avec une immense reconnaissance, que nous tenons à vous remercier Monsieur **A.KADAoui** de nous avoir intégré au sein de votre équipe et d'avoir mis à notre disposition tout le nécessaire pour réaliser notre travail, sans oublier de remercier Madame **ABBERBACHE Nefissa** de nous avoir mis en contact avec **GenericLab**.*

Nous remercions tout le personnel du Laboratoire Contrôle Qualité et plus particulièrement Nawal, Khadidja et Islem pour l'aide précieuse qu'ils nous ont apporté.

*Nous remercions Madame **F.FERNANE** et Madame **L.BELMAHDI** qui nous ont fait l'honneur de juger notre travail ainsi à Monsieur **R.MOUSSAOUI** d'avoir accepté la présidence de notre jury.*

Dédicace

A la mémoire de mon regrettable père !

A être le plus chère à mon cœur, à ma douce et tendre mère

A mon compagnon de vie

A mes sœurs

A mes neveux

A ma nièce

Kamilia

Dédicace

A mes très chères parents

A mes sœurs

A mes frères

A mon homme

Célia

Liste des figures

Figure 01 : Structure chimique de Domperidone

Figure 02 : Variations des concentrations sanguines de principe actif en fonction de temps après administration d'un médicament de référence et d'un médicament générique

Figure 03 : Représentation de Wagner

Figure 04 : Spectre électromagnétique

Figure 05 : Instrumentation dans l'UV/Visible

Figure 06 : Démarche statistique de l'étude de la linéarité

Figure 07 : Droite d'étalonnage sur principe actif seul (Logiciel Origin 6.0)

Figure 08 : Droite d'étalonnage sur forme pharmaceutique reconstituée (Logiciel Origin 6.0)

Figure 09 : Droite d'étalonnage sur principe actif seul et forme pharmaceutique reconstituée (Logiciel Origin 6.0)

Figure 10 : Profil de dissolution pour le médicament princeps et le générique dans un milieu acide pH=1,2

Figure 11 : Profil de dissolution pour le médicament princeps et le générique dans un milieu acétate pH=4,5

Figure 12 : Profil de dissolution pour le médicament princeps et le générique dans un milieu phosphate pH=6,8

Liste des tableaux

Tableau 01 : Propriétés physicochimiques et organoleptiques de Dompéridone

Tableau 02 : Spécifications et composition de Peridium, produit fini

Tableau 03 : Critères de la validation analytique

Tableau 04 : Essai d'uniformité de masse pour les comprimés non enrobés ou pelliculés

Tableau 05 : Autres équipements employés durant l'étude

Tableau 06 : Verreries et autres

Tableau 07 : Réactifs et matières premières

Tableau 08 : Test de l'existence d'une pente significative

Tableau 09 : Test de validité de la droite de régression

Tableau 10 : Test de validité des moyennes

Tableau 11 : Résultats de l'étude de la spécificité

Tableau 12 : Linéarité : résultats des données brutes principe actif seul

Tableau 13 : linéarité : Résultats des données brutes forme pharmaceutique reconstituée

Tableau 14 : Linéarité : Résultats des données brutes (forme pharmaceutique reconstituée et principe actif seul)

Tableau 15 : Critères des droites de régression D_1 et D_2

Tableau 16 : Résultats des tests de comparaison des ordonnées à l'origine avec zéro

Tableau 17 : Résultats de comparaison des pentes des droites D_1 et D_2

Tableau 18 : Résultats de comparaison des ordonnées à l'origine des droites D_1 et D_2

Tableau 19 : Résultats de test d'homogénéité des variances du principe actif seul

Tableau 20 : Résultats de test d'homogénéité des variances de la forme pharmaceutique reconstituée

Tableau 21 : Résultats de test de l'existence d'une pente significative du principe actif seul

Tableau 22 : Résultats de test de l'existence d'une pente significative de la forme pharmaceutique reconstituée

Tableau 23 : Résultats de test de validité de la droite de régression du principe actif seul

Tableau 24 : Résultats de test de validité de la droite de régression de la forme pharmaceutique reconstituée

Tableau 25 : Tableau récapitulatif des tests de l'étude de linéarité

Tableau 26 : Résultats de système de référence considérée : étalon 100%

Tableau 27 : Résultats de test de vérification de l'homogénéité des variances liées

Tableau 28 : Résultats de test de validité des moyennes

Tableau 29 : Exactitude : Estimation de l'intervalle de confiance du recouvrement moyen

Tableau 30 : Résultats de transformation des données brutes en pourcentage de recouvrement : Système de référence considéré : Etalon 100%

Tableau 31 : Résultats des moyennes des groupes

Tableau 32 : Résultats des dispersions à l'intérieur des groupes de mesures

Tableau 33 : Résultats des Paramètres de fidélité

Tableau 34 : Absorbances du principe actif « Dompéridone » libéré au cours du temps dans le milieu pH 1,2 à partir du princeps

Tableau 35 : Absorbances du principe actif « Dompéridone » libéré au cours du temps dans le milieu pH 1,2 à partir du générique

Tableau 36 : Absorbances du principe actif « Dompéridone » libéré au cours du temps dans le milieu pH 4,5 à partir du princeps

Tableau 37 : Absorbances du principe actif « Dompéridone » libéré au cours du temps dans le milieu pH 4,5 à partir du générique

Tableau 38 : Absorbances du principe actif « Dompéridone » libéré au cours du temps dans le milieu pH 6,8 à partir du princeps

Tableau 39 : Absorbances du principe actif « Dompéridone » libéré au cours du temps dans le milieu pH 6,8 à partir du générique

Tableau 40 : Informations relatives au « Dompéridone WS » utilisé pour le milieu pH 1,2

Tableau 41 : Taux de dissolution du principe actif « Dompéridone » au cours du temps dans le milieu pH 1,2 à partir du princeps

Tableau 42 : Taux de dissolution du principe actif « Dompéridone » au cours du temps dans le milieu pH 1,2 à partir du générique

Tableau 43 : Informations relatives au « Dompéridone WS » utilisé pour le milieu pH 4,5

Tableau 44 : Taux de dissolution du principe actif « Dompéridone» au cours du temps dans le milieu pH 4,5 à partir du princeps

Tableau 45 : Taux de dissolution du principe actif « Dompéridone» au cours du temps dans le milieu pH 4,5 à partir du générique

Tableau 46 : Informations relatives au « Dompéridone WS » utilisé pour le milieu pH 6,8

Tableau 47 : Taux de dissolution du principe actif « Dompéridone» au cours du temps dans le milieu pH 6,8 à partir du princeps

Tableau 48 : Taux de dissolution du principe actif « Dompéridone» au cours du temps dans le milieu pH 6,8 à partir du générique

Tableau 49 : Valeurs des facteurs de similarité (F_2) et de différence (F_1) dans les trois milieux de dissolution

Tableau 50 : Essais physico-chimiques et pharmacotechniques

Tableau 51 : Résultats des tests : Aspect, masse moyenne et de temps de désintégration

Tableau 52 : Résultat du test de l'uniformité de masse

Tableau 53 : Résultat du test de la dureté

Tableau 54 : Résultats du test de la Friabilité

Tableau 55 : Résultat du test de dosage

Liste des abréviations

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

BPF : Bonne Pratique de Fabrication

DCI : Dénomination Commune Internationale

FDA : Food and Drug Administration

ICH : International Conference on Harmonization

IR : Infra-Rouge

ISO : International Standard Organization

IUPAC : Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée

pH : Potentiel d'Hydrogène

PHDH : Produits d'Hygiène et de Désinfection Hospitalière

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

SFSTP : Société Française des Sciences Techniques et Pharmaceutique.

STD : Standard

USP : United States Pharmacopoeia

UV : UltraViolet

WS : Working Standard

Paramètres statistiques

a : Pente de la droite de régression linéaire

b : Ordonnée à l'origine de la droite de régression

α : Risque

C : Test de Cochran

CV : Coefficient de Variation

D : Droite de régression linéaire

F : Test de Fisher

i : Indice des valeurs individuelles dans le groupe j

I_{R_m} : Intervalle de confiance de recouvrement moyen R_m

j : Indice de groupe

k : Nombre de groupes

m_j : Moyenne de n_j valeurs du groupe j

\bar{m} : Moyenne des moyennes des groupes

n_j : Nombre d'observations du groupe j

\bar{n} : Nombre moyen de valeurs par groupe

N : Nombre total d'observations y_{ij} dans l'ensemble des k groupes

NDL : Nombre de degré de liberté

\bar{NDL}_j : Nombre de degré de liberté du groupe j

p : Seuil de probabilité

r : Coefficient de corrélation

R_m : Taux de recouvrement moyen

S^2 : Variance

S : Ecart type estimé de n valeurs

$S_{x_{ij}}$: Ecart types respectifs des variables x_{ij}

$S_{y_{ij}}$: Ecart types respectifs des variables x_{ij} et y_{ij}

$S_{x_{ij}y_{ij}}$: Covariance des variables x_{ij} et y_{ij}

S_j^2 : Variance du groupe j

S_{\max}^2 : Variance la plus élevée des k groupes j

S_b : Ecart type de l'ordonnée à l'origine de la droite de régression linéaire

S_I^2 : Variation due à la régression

S_R^2 : Variation résiduelle

S_T^2 : Variation totale

S_E^2 : Variation intra-groupe

S_g^2 : Variance inter-groupes

S_r^2 : Variance de répétabilité

S_R^2 : Variance totale

t : t de Student

x_{ij} : Valeur brute indépendante

\bar{X}_j : Moyenne des valeurs x_{ij} du groupe j

\bar{x} : Moyenne des valeurs x_{ij} des k groupes

x_{100} : Pesée à la solution de référence

X_{ij} : Quantité retrouvée

y_{ij} : Valeur brute dépendante

y'_{ij} : Valeurs estimées

\bar{Y}_j : Moyenne des observations Y_{ij} dans chaque groupe j

\bar{y} : Moyenne des observations y_{ij} des k groupes.

y_{100} : Observation à la solution de référence

Y_{ij} : Pourcentages de recouvrement

\bar{Y} : Recouvrement moyen

Sommaire

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Partie théorique

CHAPITRE I : PRESENTATION DE L'ENTREPRISE ET DU MEDICAMENT

1. Présentation de l'entreprise	3
2. Propriétés du principe actif.....	4
3. Présentation du médicament Peridium	5
4. Classe thérapeutique	5
5. Comment agissent les antiémétiques.....	5

CHAPITRE II : VALIDATION ANALYTIQUE

1. Définition de la validation	6
2. Méthode d'analyse.....	6
3. Validation d'une méthode analytique.....	6
4. Pourquoi valider	7
5. Types de méthodes d'analyse à valider	7
6. Critères de validation analytique	
6.1. Spécificité	10
6.1.1. Principe actif.....	10
6.1.2. Produit fini.....	10
6.2. Linéarité.....	10
6.3. Exactitude	11
6.4. Fidélité.....	11
6.4.1. Répétabilité.....	11
6.4.2. Fidélité intermédiaire.....	11
6.4.3. Reproductibilité	11

6.5. Limite de détection	11
6.6. Limite de quantification.....	12
6.7. Intervalle d'utilisation.....	12
6.8. Robustesse	12

CHAPITRE III : CINETIQUE DE DISSOLUTION

1. Médicament de référence.....	13
2. Médicament générique	13
3. Biodisponibilité, bioéquivalence des médicaments génériques	14
4. Démonstration de l'équivalence	15
4.1. Etudes de biodisponibilité comparative chez l'homme.....	15
4.2. Etudes de dissolution in vitro	15
5. Détermination de la cinétique de dissolution	16
6. Les facteurs influençant la dissolution	17
6.1. Solubilité.....	17
6.1.1. Structure chimique.....	17
6.1.2. Température.....	17
6.1.3. pH	18
6.1.4. Polymorphisme.....	18
6.1.5. Substances additives	18
6.2. Vitesse de dissolution	18
7. Réalisation d'un profil de dissolution comparatif	19
7.1. Principe.....	19
7.2. Applications.....	19
7.2.1. En développement	19
7.2.2. Différents dosages	19
7.2.3. Changement post commercialisation.....	19
7.3. Méthodologie.....	20

7.4. Comparaison des profils de dissolution.....	21
7.5. Critères d'acceptation	22
7.6. Appareillage.....	22
7.6.1. Types d'appareils	22
7.6.1.1. Appareil à panier	22
7.6.1.2. Appareil à palette.....	23
7.6.2. Milieu de dissolution	23
7.6.3. Vitesse d'agitation	23
7.7. Tests physicochimiques et pharmacodynamiques.....	24
7.7.1. Aspect.....	24
7.7.2. Uniformité de masse et masse moyenne.....	24
7.7.3. Dureté	24
7.7.4. Friabilité.....	25
7.7.5. Temps de désagrégation ou de délitement.....	25
7.7.6. Dosage	25

CHAPITRE IV : SPECTROSCOPHTOMETRIE DANS L'ULTRAT VIOLET ET LE VISIBLE

1. Domaine spectral	26
2. Spectre UV-Visible.....	26
3. Origine d'absorption.....	27
4. Instrumentation dans l'UV/Visible.....	27
4.1. Sources lumineuses.....	27
4.2. Systèmes dispersifs.....	27
4.3. Solution échantillon.....	28
4.4. Cellule de détection	28
5. Applications analytiques de la spectrophotométrie UV-Visible	28
5.1. Analyse qualitative	28
5.1.1. Analyse structurale et identification	28
5.1.2. Contrôle de pureté de matières premières	28
5.2. Analyse quantitative	29

Partie expérimentale

CHAPITRE V : MATERIELES ET METHODES

1. Matériels	31
2. Méthodes	32
2.1. Préparation des milieux de dissolution	32
2.1.1. Milieux à l'acide chlorhydrique HCl 0.1N	32
2.1.2. Milieux à l'acide chlorhydrique pH 1,2.....	33
2.1.3. Milieu tampons acétate pH 4,5	33
2.1.4. Milieu tampons phosphate pH 6,8.....	33
2.2. Protocole de la validation analytique.....	34
2.2.1. Préparation de la solution principe actif seul à 100%	34
2.2.2. Préparation de la solution forme pharmaceutique reconstituée à 100%.....	34
2.2.3. Préparation de la solution placebo.....	35
2.3. Méthodologie de la cinétique de dissolution	35

CHAPITRE VI : VALIDATION ANALYTIQUE DE LA METHODE DE DOSAGE DE DOMPERIDONE COMPRIMES 10mg

1. Protocole de validation de la méthode de dosage de Dompéridone comprimés 10mg	36
1.1. Spécificité	37
1.2. Linéarité	37
1.2.1. Estimation d'une droite de régression linéaire	39
1.2.2. Calcul de la pente (a)	39
1.2.3. Calcul de l'ordonnée à l'origine (b)	3
1.2.4. Calcul du coefficient de corrélation (r)	40
1.2.5. Test de comparaison des ordonnées à l'origine avec zéro	40
1.2.6. Comparaison des pentes des droites D ₁ et D ₂	40
1.2.7. Comparaison des ordonnées à l'origine des droites D ₁ et D ₂	41
1.2.8. Test d'homogénéité des variances	41
1.2.9. Test de l'existence d'une pente significative.....	41

1.2.10. Test de validité de la droite de régression	42
1.3. Exactitude	43
1.3.1. Vérification de l'homogénéité des variances liées	44
1.3.2. Test de validité des moyennes	44
1.3.3. Estimation du recouvrement moyen	45
1.4. Fidélité	45
1.4.1. Transformation des données brutes en pourcentage de recouvrement	45
1.4.2. Moyenne des groupes	46
1.4.3. Dispersion à l'intérieur des groupes de mesures	46
1.4.4. Variance de Répétabilité	46
1.4.5. Variance inter-groupes	47
1.4.6. Variance totale	47
1.4.7. Expression des résultats	48
2. Résultats et discussion	49
2.1. Spécificité	49
2.2. Linéarité	49
2.2.1. Traitement des données brutes	49
2.2.2. Critères des droites de régression D_1 et D_2	53
2.2.3. Tests de comparaison des ordonnées à l'origine avec zéro	53
2.2.4. Comparaison des pentes des droites D_1 et D_2	53
2.2.5. Comparaison des ordonnées à l'origine des droites D_1 et D_2	54
2.2.6. Test d'homogénéité des variances	54
2.2.6.1. Principe actif seul	54
2.2.6.2. Forme pharmaceutique reconstituée	55
2.2.7. Test de l'existence d'une pente significative	56
2.2.7.1. Principe actif seul	56
2.2.7.2. Forme pharmaceutique reconstituée	56
2.2.8. Test de validité de la droite de régression	57
2.2.8.1. Principe actif	57
2.2.8.2. Forme pharmaceutique reconstituée	57

2.2.9. Tableau récapitulatif des tests de l'étude de la linéarité	58
2.3. L'exactitude	59
2.3.1. Système de référence considérée : étalon 100%	59
2.3.2. Vérification de l'homogénéité des variances liées	60
2.3.3. Test de validité des moyennes	60
2.3.4. Estimation du recouvrement moyen	60
2.4. Fidélité	61
2.4.1. Transformation des données brutes en pourcentage de recouvrement	61
2.4.2. Moyenne des groupes	62
2.4.3. Dispersion à l'intérieur des groupes de mesures.....	62
2.4.4. Paramètres de fidélité	62
3. Conclusion	62

**CHAPITRE VII : ETUDE DE LA CINETIQUE DE DISSOLUTION DE
DOMPERIDONE COMPRIMES 10mg**

1. Réalisation d'un profil de dissolution comparatif	63
1.1. Méthodologie	63
1.2. Protocole	63
1.3. Résultats	65
1.3.1. Absorbances mesurées dans les différents milieux pour les deux médicaments, princeps et générique	65
1.3.2. Taux de dissolution calculés dans les différents milieux pour les deux médicaments, princeps et générique	68
1.3.3. Profils de dissolution comparatifs obtenus dans les trois milieux de dissolution	72
1.3.4. Calcul des paramètres d'évaluation des profils de dissolution.....	74
1.3.5. Discussion.....	74
1.4. Conclusion	75
2. Tests physicochimiques et pharmacotechniques	76
2.1. Résultats des différents tests physico-chimiques et pharmacotechniques effectués sur le princeps et le générique	78
2.2. Discussion.....	80

2.3. Conclusion.....	80
Conclusion générale	81

Le marché mondial des médicaments génériques s'est très rapidement montré comme un formidable au niveau des prix de vente, mais inévitablement le problème de la qualité s'est imposé comme un argument essentiel pour ces médicaments, car ces derniers sont spécifiquement élaborés pour agir sur la santé des être humains. En raison de la destination du médicament, son commerce n'est pas libre, il est soumis au contrôle des autorités sanitaires.

Toute la méfiance à l'égard des génériques se résume par une question « s'agit-il vraiment du même médicament ? ».

La législation stipule qu'un médicament générique est un médicament ayant la même composition qualitative et quantitative en principe actif, la même forme pharmaceutique et dont la bioéquivalence avec la spécialité de référence est démontrée par des études de biodisponibilité appropriées.

Quoi qu'il en soit, pour que des médicaments pharmaceutiquement équivalents puissent être considérés comme interchangeable, il faut prouver qu'ils sont équivalents du point de vue thérapeutique. La bioéquivalence est donc un critère de qualité au sens large du terme mais qui, selon les recommandations ICH (International Conference on Harmonization), se rapporte indirectement à la notion d'efficacité.

L'essai de dissolution in vitro est préconisé, car il permet de préjuger de l'équivalence entre deux médicaments. Mais en s'entourant de plusieurs précautions. L'essai doit être mené dans des conditions analogues à celles existantes au niveau gastro-intestinal.

Notre étude consiste à démontrer l'interchangeabilité du médicament générique **Peridium** avec le médicament princeps **Motilium** dans son aspect qualité et ce en évaluant un paramètre physico-chimique qui est la cinétique de dissolution.

Pour réaliser cette étude la méthode d'analyse employée pour quantifier la libération du principe actif doit être préalablement validée afin de s'assurer de sa fiabilité. Des essais physico-chimiques et pharmacotechniques sont effectués sur les deux produits afin de rendre l'étude comparative plus consistante.

Le présent travail à été réalisé au niveau du Laboratoire de Contrôle Qualité de l'entreprise pharmaceutique nationale GenericLab en collaboration avec le Département de Chimie de l'Université Mouloud MAMMERRI de Tizi Ouzou.

C'est ainsi que notre manuscrit est réparti en deux parties :

➤ La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique, en décrivant les concepts généraux de la validation analytique et de la réalisation d'un profil de dissolution comparatif. Une vue d'ensemble sur la spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'ultraviolet est présentée afin de compléter cette partie théorique.

➤ La seconde partie est dédiée à l'aspect pratique de notre travail, dans laquelle nous définissons les équipements et méthodes utilisées, décrivons les protocoles expérimentaux et présentons les résultats afférant.

Un traitement statistique des résultats de la validation analytique est réalisé afin de vérifier ses critères conformément au protocole préétabli.

Les résultats de la cinétique de dissolution sont traités de telle sorte à prouver l'équivalence ou la non équivalence du médicament générique avec le médicament de référence.

1. Présentation de l'entreprise

GenericLab est une entreprise pharmaceutique algérienne située dans la zone industrielle de Rouïba, spécialisée dans l'importation et la fabrication de produits pharmaceutiques à usage humain.

Initialement créée en 1992 nommée **Sarl PHDH**, sous licence de laboratoire français **PETERS**. Société spécialisée dans la fabrication des produits destinés aux hôpitaux pour la désinfection et la décontamination des instruments chirurgicaux et des salles blanches.

En décembre 2002, la Sarl PHDH a changé de nomination et d'activité, pour devenir la **Sarl GenericLab**, afin d'importer et de fabriquer des médicaments génériques.

En 2003, GenericLab a lancé son premier médicament « **Dompéridone comprimés** » fabriqué en sous-traitance chez **SAIDAL**.

En 2004, GenericLab a entamé la construction d'une unité destinée à la fabrication des collyres et gouttes, nommée **Sarl Gencopharm**, société de droit algérien, dont les associés sont la Sarl GenericLab et son partenaire italien **Cophital**.

En 2010, GenericLab a validé son atelier forme sèche pour une fabrication d'une gamme de 12 produits.

Aujourd'hui GenericLab fabrique une gamme de 20 produits : sirops, comprimés et gélules de plusieurs spécialités confondues (Pédiatrie, cardiologie, gastroentérologie, psychiatrie, médecine générale et oncologie). [7]

2. Propriétés du principe actif

Dompéridone est une molécule de la famille des benzimidazoles et des pipéridines qui possède des propriétés antiémétiques, et donc souvent prescrite dans le cadre d'un traitement de certaines nausées ou vomissements.

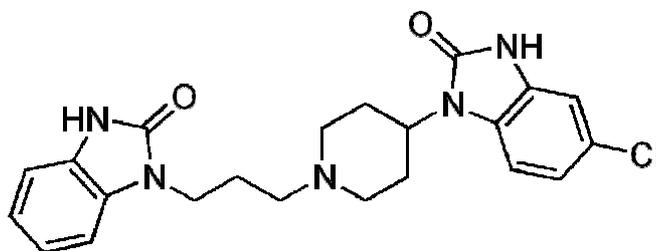


Figure 01 : Structure chimique de Dompéridone. [16]

L'ensemble des propriétés physico-chimiques et organoleptiques de Dompéridone d'après la monographie de la pharmacopée européenne 7^{ème} édition (voir annexe) sont regroupées dans le tableau 01.

Tableau 01 : Propriétés physico-chimiques et organoleptiques de Dompéridone. [16]

Dompéridone	Propriétés physico-chimiques / Organoleptiques
Nomenclature selon l'IUPAC	5-Chloro-1-[1-[3-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-1-yl)propyl]pipéridin-4-yl]-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one
Aspect	Poudre blanche ou sensiblement blanche
Formule brute	C ₂₂ H ₂₄ ClN ₅ O ₂
Masse molaire moléculaire (g/mol)	425,9
Point de fusion (°C)	244 à 248
Teneur (%)	99,0 pour cent à 101,0 pour cent (Substance desséchée)
Solubilité	Pratiquement insoluble dans l'eau, soluble dans le diméthylformamide, peu soluble dans l'éthanol à 96 pour cent et dans le méthanol

3. Présentation du médicament Peridium

Les spécifications de Peridium, produit fini ainsi que sa composition pour un comprimé d'environ 100 mg sont regroupées dans le tableau 02.

Tableau 02 : Spécifications et composition de Peridium, produit fini. [8]

Peridium	Spécifications
DCI (Dénomination Commune Internationale)	Dompéridone
Nom commercial	Peridium
Forme pharmaceutique	Comprimés ronds sécables de couleur blanche
Voie d'administration	Orale
Dosage	10 mg
Excipients	Amidon de maïs, lactose monohydrate, cellulose microcristalline, povidone 25, laurylsulfate de sodium, stéarate de magnésium et glycolate amidon sodique
Présentation	boite de 30 (3 blisters thermoformés en PVC/Aluminium contenant chacun 10 comprimés sécables)
Durée de validité	3 ans à partir de la date de fabrication

4. Classe thérapeutique

Dompéridone est un antagoniste de la dopamine stimulant la motricité intestinale, antiémétique.

Le terme « émétique » signifie « vomir ». Il désigne une substance capable de déclencher des vomissements. Un antiémétique (que l'on appelle également un antivomitif) est donc une substance capable de prévenir ou de supprimer les vomissements.

5. Comment agissent les antiémétiques ?

Ce sont des antagonistes des récepteurs des neurotransmetteurs. Ils excitent le centre du vomissement situé dans le bulbe rachidien. En clair, ils agissent sur les centres nerveux cérébraux qui commandent les vomissements. Ils peuvent également agir en relâchant les muscles de la partie inférieure de l'estomac.

L'industrie pharmaceutique utilise du matériel cher, des installations et des équipements sophistiqués et du personnel qualifié. L'utilisation efficace de ces ressources est nécessaire pour le succès continu de l'industrie, et pour permettre réellement d'atteindre les résultats escomptés en conformité avec les principes de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF). La mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel, matière première, article de conditionnement ou produit, doivent être rationalisés, ainsi les industries pharmaceutiques sont concernées par les validations analytiques de leurs méthodes en vue d'optimiser le nombre de tests réalisés au cours de contrôle de leurs produits et d'éviter les non conformités dues au manque de fiabilité de ces méthodes.

1. Définition de la validation

La validation est la confirmation par examen et apport de preuves objectives du fait que les exigences particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies. [14]

2. Méthode d'analyse

Méthode d'analyse est la manière dont une analyse est réalisée. Chaque étape doit être décrite en détail. Il faut décrire notamment, la préparation de l'échantillon, de l'étalon de référence et des réactifs, l'utilisation des appareils, l'établissement de la courbe d'étalonnage, l'application des formules de calcul,... etc. [10]

3. Validation d'une méthode analytique

La validation d'une méthode analytique est l'action de confirmer par examen et apport de preuves tangibles obtenues par des études statistiques que les exigences particulières pour un usage spécifique prévu de la méthode d'analyse sont satisfaites. En général, les exigences particulières portent sur la spécificité, la linéarité, la fidélité, l'exactitude et l'intervalle d'utilisation. [13]

Le champ d'application de la validation analytique s'étend à toute procédure d'analyse utilisée dans le contrôle de la matière première, le développement galénique, le contrôle en cours de fabrication, le contrôle des produits intermédiaires et finis et les essais de stabilité de tous les produits pharmaceutiques.

4. Pourquoi valider ?

Parce que dans un environnement réglementé comme celui du médicament des méthodes d'analyse fiables sont requises pour assurer la conformité avec les réglementations nationales et internationales.

Parce qu'il faut apporter les preuves formelles que la procédure analytique est non seulement appropriée à l'usage auquel elle est destinée mais aussi suffisamment fiable pour que toute décision basée sur le résultat analytique obtenu soit prise en toute confiance :

- Contrôle d'une production industrielle ;
- Établissement de diagnostics et de traitements médicaux ;
- Fixation de normes. [6]

5. Types de méthodes d'analyse à valider

Les méthodes d'analyse les plus couramment utilisées sont:

- Épreuves d'identification ;
- Dosage quantitatif des impuretés ;
- Vérification des teneurs limites des impuretés ;
- Dosage de la partie active ou d'une ou de plusieurs autres composantes de la matière première ou du produit fini.

Les produits finis et les matières premières font l'objet de bien d'autres analyses, comme, par exemple, le test de dissolution dans le cas des produits finis, ou une étude granulométrique dans le cas des matières premières.

Les divers types d'analyses considérés sont:

- Les tests d'identification servent à vérifier l'identité de la substance analysée dans un échantillon par détermination d'une ou de plusieurs de ses caractéristiques (ses propriétés spectrales, ses caractères chromatographiques, sa réactivité chimique ... etc.) avec celle d'un étalon de référence.
- L'analyse des impuretés peut être un dosage quantitatif ou la vérification d'une teneur limite. Les caractéristiques à évaluer diffèrent selon que l'on valide une méthode de dosage ou une méthode de vérification d'une teneur limite.
- Les analyses de teneur servent à mesurer un composé majeur dans un échantillon donné. Dans le cas des produits finis, les analyses visent le principe actif ou d'autres composantes spécifiques, et la validation des méthodes utilisées à cette fin porte sur des

caractéristiques semblables. La validation d'autres méthodes de détermination est également fondée sur ces caractéristiques par exemple : la dissolution. [10]

6. Critères de validation analytique

Il importe de bien comprendre l'objectif de l'analyse, car c'est d'après ce facteur qu'on détermine quelles caractéristiques de validation doivent être évaluées. En général, la validation porte sur les caractéristiques suivantes :

- Spécificité
- Linéarité
- Fidélité
 - Répétabilité
 - Répétabilité intermédiaire
 - Reproductibilité
- Exactitude
- Limite de détection
- Limite de quantification
- Intervalle de mesure

Les caractéristiques les plus importantes à considérer selon le type de méthode à valider sont énumérées dans le tableau 03. Il s'agit des caractéristiques qu'il convient habituellement de valider, mais il y a parfois des exceptions et celles-ci doivent être traitées individuellement. Par ailleurs, même si la robustesse ne figure pas dans ce tableau, il convient de l'évaluer au moment opportun durant la mise au point de la méthode.

Il peut être nécessaire de valider ou de revalider dans les circonstances suivantes :

- Changements du procédé de synthèse du principe actif ;
- Changements dans la composition du produit fini;
- Changements dans la méthode d'analyse ;
- Avant leur utilisation en routine ;
- Quand le contrôle qualité indique qu'une méthode établie change avec le temps ;
- Pour démontrer l'équivalence entre deux méthodes (par exemple, une nouvelle méthode et une méthode standard).

Tableau 03 : Critères de la validation analytique. [10]

Type caractéristique	Identification	Impuretés		-Dosage -Dissolution (mesure seulement) -Teneur/activité
		Quantification	Teneur limite	
Spécificité ⁽²⁾	+	+	+	+
Linéarité	-	+	-	+
Exactitude	-	+	-	+
Fidélité	Répétabilité	-	+	+
	Fidélité intermédiaire	-	+ ⁽¹⁾	+ ⁽¹⁾
Limite de détection	-	- ⁽³⁾	+	-
Limite de quantification	-	+	-	-
Intervalle d'utilisation	-	+	-	+

- : Caractéristique qui n'est normalement pas évaluée.

+ : Caractéristique normalement évaluée.

(1) : Si la reproductibilité est évaluée, il n'est pas nécessaire de déterminer la fidélité intermédiaire.

(2) : Si la méthode est insuffisamment spécifique, cette déficience peut être compensée par la spécificité d'une ou de plusieurs autres épreuves complémentaires aux quelles l'échantillon est soumis.

(3) : Parfois nécessaire.

6.1. Spécificité

Une procédure d'analyse est dite spécifique lorsqu'elle permet de mesurer quantitativement un paramètre physico-chimique ou un groupement fonctionnel d'une ou de plusieurs substances dans un échantillon.

6.1.1. Principe actif

a. Identification

Pour une identification, cela signifie simplement la garantie de l'identité de la substance à analyser.

b. Essai

Lorsqu'il s'agit d'essais, la spécificité représentera la garantie que toutes les procédures d'analyse exécutées permettent une évaluation de la teneur en impuretés de la substance à analyser.

c. Dosage

Pour un dosage, la procédure analytique sera dite spécifique lorsqu'on aura la garantie que le signal mesuré provient seulement de la substance à analyser.

La spécificité peut s'exprimer comme le degré de biais sur les résultats, engendré par l'analyse d'échantillons comportant les impuretés intentionnellement rajoutées, ou des produits de dégradation.

6.1.2. Produit fini

La spécificité représente la mesure du degré d'interférences provenant d'autres substances (principes actifs, autres composants, substances apparentées, produits de dégradation) présentes dans la matrice complexe que peut représenter un produit fini. [11]

6.2. Linéarité

La linéarité d'une méthode d'analyse est sa capacité de donner des résultats qui sont directement (à l'intérieur de certaines limites) proportionnels à la concentration (quantité) de la substance analysée dans un échantillon. [10]

6.3. Exactitude

L'exactitude correspond au degré de concordance entre la valeur de la méthode obtenue et la valeur de référence ou la valeur considérée comme véritable par convention. [10]

6.4. Fidélité

La fidélité d'une méthode correspond au degré d'accord (degré de dispersion) entre les résultats des mesures obtenues par l'analyse individuelle de plusieurs prélèvements d'un même échantillon homogène, prélevés dans des conditions prescrites. La fidélité peut s'évaluer à trois niveaux: Répétabilité, fidélité intermédiaire et reproductibilité.

6.4.1. Répétabilité

La répétabilité est une expression de la précision de l'analyse lorsque celle-ci est reprise dans les mêmes conditions de réalisation, après un court intervalle de temps. La répétabilité est aussi désignée fidélité intra-analyse.

6.4.2. Fidélité intermédiaire

La fidélité intermédiaire correspond aux variations survenant dans un même laboratoire : Analyses effectuées dans des jours différents, par des personnes différentes, au moyen d'appareils différents, ...etc.

6.4.3. Reproductibilité

La reproductibilité correspond à la concordance entre laboratoires (travaux de collaboration visant généralement l'uniformisation de la méthodologie). [10]

6.5. Limite de détection

La limite de détection d'une méthode d'analyse individuelle correspond à la plus faible quantité de la substance analysée que la méthode permet de détecter, sans nécessairement fournir la valeur exacte. [10]

6.6. Limite de quantification

La limite de quantification d'une méthode d'analyse individuelle correspond à la plus faible quantité de la substance analysée que la méthode permet de doser avec un degré acceptable de précision et d'exactitude. La limite de quantification est un paramètre des analyses quantitatives des composés présents en faibles quantités dans les matrices d'échantillon, elle est plus particulièrement utilisée dans le dosage des impuretés et/ou des produits de dégradation. [10]

6.7. Intervalle de mesure

Le domaine d'utilisation d'une méthode d'analyse est l'intervalle entre la concentration la plus élevée et la concentration la plus faible (quantités) de la substance analysée dont on a démontré qu'elles pouvaient être déterminées avec un degré acceptable de fidélité, d'exactitude et de linéarité. [10]

6.8. Robustesse

La robustesse d'une méthode d'analyse est une mesure de sa capacité à supporter sans conséquences de petites variations apportées délibérément aux paramètres de la méthode, elle donne une idée de la fiabilité de la méthode aux conditions normales d'utilisation. [10]

La possibilité d'utiliser une spécialité générique à la place d'une spécialité de référence repose sur le principe d'équivalence thérapeutique. Les premières spécialités contenant le même principe actif, au même dosage et sous la même forme étaient considérées comme thérapeutiquement équivalentes.

En pratique, il s'est avéré que cette équivalence n'était pas systématique, les deux spécialités pouvant avoir une efficacité et/ou une toxicité différente selon le mode de synthèse des principes actifs, selon la nature et la qualité des excipients, selon la formulation galénique. L'étude de la biodisponibilité et de la bioéquivalence de deux spécialités est préconisée pour éviter d'avoir recours à de nouveaux essais cliniques sur des principes actifs déjà bien connus.

1. Médicament de référence

Un médicament de référence est un médicament avec lequel le nouveau produit est censé être interchangeable dans la pratique clinique. Le médicament de référence est le médicament innovant c'est-à-dire celui qui a bénéficié de l'autorisation de mise sur le marché (AMM) dans le pays d'origine, dont l'efficacité, l'innocuité et la qualité ont été établies. [3]

2. Médicament générique

Un générique peut être défini comme la copie d'un médicament original, dont la production et la commercialisation sont rendues possible par l'expiration de la protection, conférée par le brevet couvrant le médicament princeps. [4]

On entend par spécialité générique, une spécialité qui a la même teneur en principe actif (la composition qualitative et quantitative en excipients peut ne pas être la même), la même forme pharmaceutique et dont la bioéquivalence avec la spécialité de référence a été démontrée par des études appropriées de biodisponibilité. [2]

Dès lors qu'une spécialité entre dans la catégorie des génériques, elle peut bénéficier d'une procédure allégée d'enregistrement, qui doit garantir toute fois le même degré de sécurité, d'innocuité, et d'efficacité que le produit novateur. [4]

3. Biodisponibilité, bioéquivalence des médicaments génériques

Du point de vue thérapeutique, la biodisponibilité est la propriété la plus importante du médicament.

La connaissance de cette propriété permet d'établir la posologie et aussi de prévoir l'efficacité, la toxicité en fonction de la forme pharmaceutique choisie. La biodisponibilité est un concept qui fait intervenir deux caractéristiques à la fois :

- ✓ La **quantité** du principe actif atteignant réellement la circulation sanguine ;
- ✓ La **vitesse** avec laquelle le principe actif entre dans la circulation sanguine.

La vitesse d'absorption est d'autre part un facteur déterminant pour le succès du traitement. Si la vitesse est trop grande, des effets indésirés peuvent se produire dans l'organisme, au-dessus de certaines concentrations, la toxicité du médicament s'exprime.

Par contre si la vitesse est très faible, les taux sanguins augmenteront très lentement et pourront même ne pas atteindre les concentrations minimum efficaces. C'est l'inefficacité thérapeutique. [4]

On parle ainsi de **bioéquivalence** si les deux médicaments sont absorbés dans la circulation sanguine à la même vitesse et dans la même proportion, les courbes de variation de leurs concentrations plasmatiques en fonction du temps sont superposables.

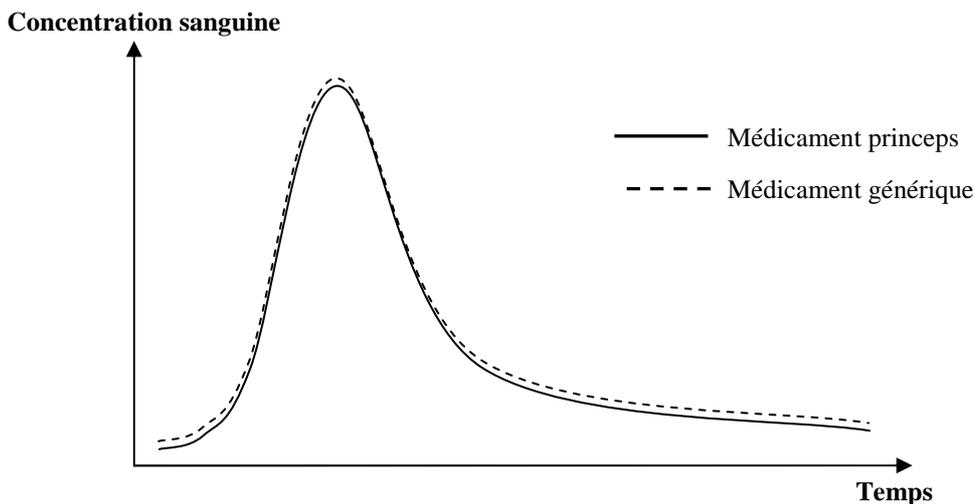


Figure 02 : Variations des concentrations sanguines de principe actif en fonction de temps après administration d'un médicament de référence et d'un médicament générique

4. Démonstration de l'équivalence

Pour que des médicaments génériques pharmaceutiquement équivalents puissent être considérés comme interchangeables, il faut prouver qu'ils sont équivalents du point de vue thérapeutique. Différentes méthodes sont utilisées à cette fin, notamment :

- Des études de biodisponibilité comparative (bioéquivalence) chez l'homme consistant à doser le principe actif ou un ou plusieurs de ses métabolites dans un liquide biologique accessible, comme le plasma, le sang ou l'urine ;
- Des études de dissolution in vitro. [3]

4.1. Etudes de biodisponibilité comparative chez l'homme

De telles études de bioéquivalence sont réalisées le plus souvent chez des sujets volontaires sains (dont le nombre à inclure doit être préalablement déterminé et suffisant pour permettre une conclusion statistiquement valide) afin de s'affranchir de tous les facteurs de variabilité autres que ceux liés à la forme galénique (pathologies, interactions médicamenteuses,...etc.) et de démontrer que la performance biopharmaceutique du médicament générique est identique à celle du médicament de référence.

Les études sont réalisées de sorte que chaque sujet reçoit les deux formulations avec une période de latence entre les deux administrations. Après administration du médicament testé, le sujet subit plusieurs prélèvements sanguins (ou urinaires selon les caractéristiques pharmacocinétiques du principe actif) pendant une période variant de quelques heures jusqu'à 72 heures (selon la demi-vie connue du principe actif) afin de mesurer, par une méthode de dosage validée pour sa limite de détection, sa spécificité et sensibilité, les concentrations en principe actif et décrire la courbe cinétique d'évolution du principe actif. [17]

4.2. Etudes de dissolution in vitro

Les études de bioéquivalence réalisées in vivo, engendrent un coût très élevé pour un petit laboratoire producteur de génériques. De ce fait, lorsqu'un générique présente la même forme, le même dosage, les essais in vivo ne sont pas toujours effectués. [4]

Or la qualité des composants, leur provenance, leur origine, le mode de fabrication peuvent influencer de façon non négligeable sur des paramètres essentiels de la biodisponibilité, sur la vitesse de dissolution.

C'est pourquoi, aux vues de toutes ces contraintes, il est intéressant de travailler sur les cinétiques de dissolution afin, d'évaluer la qualité biopharmaceutique du médicament générique.

5. Détermination de la cinétique de dissolution

L'étude cinétique des médicaments solides destinés à la voie orale, est fondée sur le principe de Wagner, qui montre que leur principe actif ne peut être absorbé et apparaître dans la circulation sanguine que s'il est dissout dans les liquides du tractus gastro-intestinal.

La connaissance de la cinétique de dissolution est donc indispensable pour évaluer sa capacité d'absorption, comme cela est démontré dans la représentation de Wagner. [4]

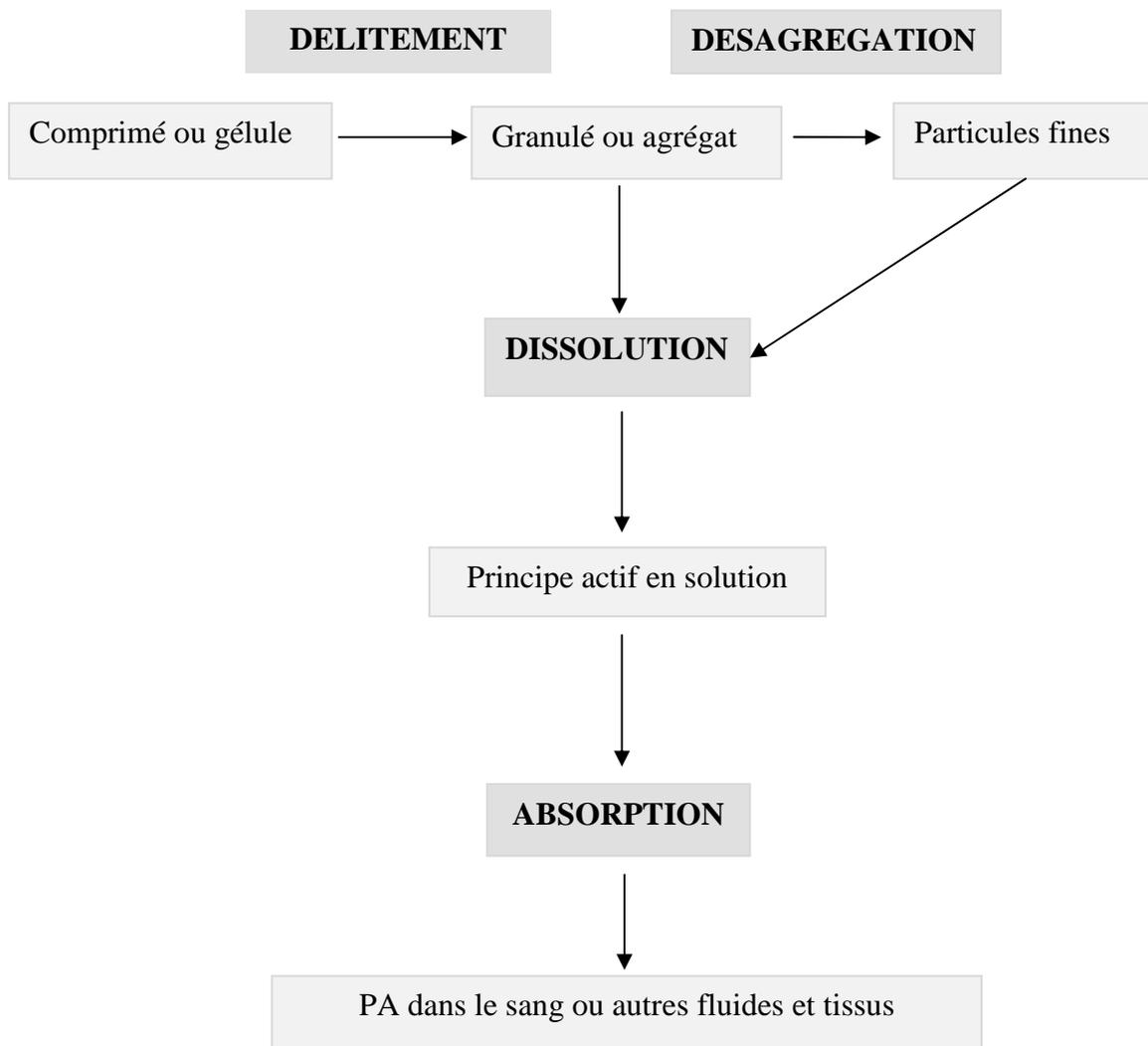


Figure 03 : Représentation de Wagner ⁽⁴⁾

La dissolution est une réaction hétérogène qui consiste en un transfert de matières d'un solide vers une phase liquide. **L'essai de dissolution** des principes actifs solides dans la majorité des pharmacopées, et particulièrement dans l'USP (United states pharmacopoeia), consiste à mesurer avec précision, dans des conditions standardisées en fonction du temps, la quantité de substance active libérée par la forme médicamenteuse, passant en solution après immersion dans un milieu liquide approprié. [4]

6. Les facteurs influençant la dissolution

On distingue les facteurs qui interviennent sur la solubilité et ceux qui modifient la vitesse de dissolution. [1]

6.1. Solubilité

La solubilité est la quantité maximale d'une substance que l'on peut dissoudre dans un volume de solvant approprié.

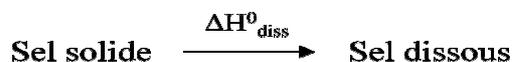
6.1.1. Structure chimique

La solubilité est fonction de la nature chimique du corps à dissoudre et de celle du solvant. On distingue la solubilité par ionisation (dissociation en ions) et la solubilité par polarité (affinités entre groupements fonctionnels du solvant et ceux du corps à dissoudre). Les substances riches en groupements hydrophiles se dissolvent surtout dans les solvants polaires et les substances hydrophobes dans les solvants apolaires.

6.1.2. Température

La dissolution s'accompagne d'un effet thermique qui peut être un dégagement ou une absorption de chaleur.

L'effet de la température dépend de l'enthalpie de la réaction



- Si : $\Delta H_{\text{diss}}^0 > 0$ (Processus endothermique) : La dissolution est favorisée par l'élévation de la température, la solubilité augmente.
- Si : $\Delta H_{\text{diss}}^0 < 0$ (Processus exothermique) : La chaleur de dissolution est positive, la solubilité diminue avec la température.
- Si : $\Delta H_{\text{diss}}^0 = 0$: La température n'influence pas la solubilité. (Exemple NaCl)

Pour la plupart des composés solides, la solubilité augmente lorsque la température de la solution augmente.

6.1.3. pH

Le pH modifie la solubilité des molécules pourvues de propriétés acides ou basiques faibles, l'influence de pH s'exprime par le biais d'ionisation de la molécule :

- La solubilité des molécules acides faibles augmente avec le pH, car la fraction ionisée augmente.
- La solubilité des molécules bases faibles diminue lorsque le pH augmente car la fraction ionisée diminue.

Le pH n'a aucune influence sur les substances dépourvues de propriétés acido-basique.

6.1.4. Polymorphisme

A une température donnée, c'est la forme cristalline la moins stable qui est la plus soluble. Un produit est plus soluble à l'état amorphe qu'à l'état cristallisé.

6.1.5. Substances additives

Les substances ajoutées à un solvant peuvent modifier la solubilité de certains produits.

6.2. Vitesse de dissolution

Les principaux facteurs intervenant dans la vitesse de dissolution sont :

- La granulométrie (surface de contact solide-liquide) : La vitesse de dissolution croît avec le degré de division (plus les particules sont fines plus la dissolution est facilité) ;
- La viscosité qui diminue la vitesse de dissolution en réduisant la diffusion ;
- L'agitation qui accélère la dissolution en renouvelant le liquide à l'interface.

7. Réalisation d'un profil de dissolution comparatif

7.1. Principe

La réalisation d'un profil de dissolution comparatif consiste à comparer la libération du principe actif entre deux spécialités, déterminer le pourcentage (T%) du principe actif libéré à partir du médicament générique et du princeps et la comparaison de leurs profils de dissolution dans des intervalles de temps déterminés et dans des conditions opératoires bien déterminées.

7.2. Applications

7.2.1. En développement

- Comparer une formulation avec la référence
- Maximiser les chances de bioéquivalence
- Etablir les spécifications du test de dissolution pour la libération des lots et pour les études de stabilité sur la base d'une corrélation in vivo/in vitro

7.2.2. Différents dosages

Différents dosages d'une même formulation produite par le même fabricant dans le même établissement :

- Même composition qualitative ;
- Rapport principe actif/excipients est le même ;
- Etude effectuée sur au moins un dosage ;
- Démontrer que la pharmacocinétique est linéaire pour les principes actifs à action systémique.

Comparer les profils de dissolution :

- Dosage utilisé pour l'étude in vivo avec les autres dosages ;
- Pour les autres dosages : Comparer le test et la référence.

7.2.3. Changement post commercialisation

- Changement de la formulation
- Changement du site de fabrication
- Changement dans le procédé de fabrication
- Changement dans les équipements
- Changement de l'échelle. Plus grande ou plus petite.
- Comparaison des profils de dissolution de la nouvelle formulation avec l'ancienne
- Test de dissolution in vitro dans le cas où il y'a une corrélation in vivo/in vitro. ⁽¹⁸⁾

7.3. Méthodologie [18]

- Essai sur 12 comprimés test et 12 comprimés référence ;
- Appareil de dissolution : Panier ou palette (système de quantification on line ou système off line) ;
- Milieu de dissolution : Trois milieux différents :
 - pH 1,2 : Solution à l'acide chlorhydrique ;
 - pH 4,5 : Solution tampon acétate ;
 - pH 6,8 : Solution tampon phosphate.
- Vérification du pH et de température ($37 \pm 0,5^\circ\text{C}$) à l'intérieur des récipients avant de lancer.
- Temps de prélèvement : Au minimum trois points, l'intervalle entre deux prélèvements au maximum 15 min jusqu'à dépasser 90% de taux de dissolution ou obtention d'une asymptote.

Le volume à prélever est de 10 ml avec ou sans restitution de milieu, filtrer et diluer si nécessaire.

- Méthode d'analyse à utiliser peut être la spectrophotométrie UV /Visible ou la chromatographie liquide à haute performance (HPLC).
- Résultats exprimés en pourcentage de principe actif dissout en fonction du temps, calculé par la formule suivante :

$$T\% = \frac{V \times C_{\text{std}} \times A_{\text{ech}}}{A_{\text{std}} \times m_0} \times 100$$

Afin de tenir compte des quantités de principe actif éliminées du milieu de dissolution par les prélèvements antérieurs il est impératif de corriger la formule de calcul de la dissolution comme suit :

$$T_n\% = \frac{(V - (n - 1)v) \times C_{\text{std}} \times A_{\text{ech}}}{A_{\text{std}} \times m_0} \times 100 + \sum_{p=1}^{n-1} T_{n-p} \frac{v}{V - ((n - p - 1)v)}$$

T_n : Pourcentage de dissolution à n prélèvements

V : Volume initial du milieu de dissolution

v : Volume prélevé à chaque instant t

n : Nombre de prélèvements à l'instant t

A_{ech} : Absorbance de la solution échantillon

A_{std} : Absorbance de la solution standard

m_0 : Masse théorique du principe actif dans un comprimé

C_{std} : Concentration de la solution standard, calculée par la formule suivante :

$$C_{std} = \frac{P \times F \times P_e}{v'}$$

P_e : Prise d'essai du standard en unité de masse (g ou mg)

F : Facteur de dilution si une dilution a lieu

P : Pureté du standard en pourcentage

v' : Volume de la solution mère

7.4. Comparaison des profils de dissolution

- Si les données propres aux produits soumis à l'essai et aux produits de référence montrent une dissolution de plus de 85% en 15 minutes, les profils sont considérés similaires, aucun calcul n'est nécessaire.
- Si non, on doit comparer les deux profils de dissolution par une méthode mathématique en calculant le coefficient de variation (CV), le facteur de similarité (F_2) et le facteur de différence (F_1). [18]

Coefficient de variation

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{X}} \times 100$$

σ : Ecart type des taux de dissolution, calculé comme suit :

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n=12} (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

X_i : Valeur du taux de dissolution de l'échantillon i

\bar{X} : Moyenne des valeurs des taux de dissolution des 12 échantillons

n : Nombre total d'échantillons

Facteur de similarité

$$F_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{N} \right) \sum_{i=1}^n |R_t - T_t|^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

Facteur de différence

Est une mesure de l'erreur relative entre deux courbes étudiées

$$F_1 = \frac{\sum_{i=1}^n |R_t - T_t|}{\sum_{i=1}^n R_t} \times 100$$

N : Nombre total de prélèvement

$R(t)$ et $T(t)$: Moyennes des pourcentages dissous du produit référence R et test à chaque point dans le temps.

7.5. Critères d'acceptation

- Le coefficient de variation au premier point ne devrait pas excéder 20% et aux autres points ne doit pas être supérieurs à 10% ;
- Le facteur de similarité doit être supérieur à 50% (entre 50% et 100%) ;
- Le facteur de différence doit être inférieur à 10%. [18]

Remarque :

- Le facteur de différence n'est pas une exigence de l'USP ni de la directive du LNCPP, de ce fait il ne présente aucun caractère obligatoire ;
- L'équipement utilisé doit être qualifié ;
- La méthode de dosage utilisée doit être entièrement validée. [18]

7.6. Appareillage

Pour étudier la cinétique de libération d'un principe actif, il est nécessaire de choisir un dispositif et de fixer les conditions opératoires : Vitesse d'agitation, milieu de dissolution, température.

7.6.1. Types d'appareils

Les plus couramment utilisés sont ceux à panier et à palette, c'est deux derniers sont simples, robustes, bien standardisés et utilisés dans le monde entier.

7.6.1.1. Appareil à panier

L'appareil est composé des éléments suivants :

- Un récipient cylindrique de contenance de 1l, qui peut être couvert, en verre ou autre matériau transparent inerte ;
- Un agitateur constitué d'une tige servant d'axe moteur et d'un panier cylindrique ;
- Le récipient est partiellement immergé dans un bain d'eau thermostaté de taille appropriée ou chauffé par un dispositif approprié tel un chauffe-ballon. Le bain d'eau ou le dispositif chauffant permet de maintenir à l'intérieur du récipient une température de $37 \pm 0,5$ °C et d'assurer un mouvement fluide et constant du milieu de dissolution. [15]

7.6.1.2. Appareil à palette

L'appareil présente la même configuration que l'appareil à panier, sauf que l'élément agitateur est ici une palette constituée d'une pale et d'une tige. La tige est positionnée de telle sorte que son axe ne s'écarte en aucun point de plus de 2 mm de l'axe vertical du récipient et que sa rotation soit uniforme et sans oscillation significative susceptible

d'affecter les résultats. La pale est insérée sur la tige de façon que leurs axes coïncident et que la surface inférieure de la pale soit exactement de niveau avec l'extrémité de la tige. [15]

7.6.2. Milieu de dissolution.

En règle générale, on utilise un milieu de dissolution aqueux. La composition du milieu est choisie en fonction des caractéristiques physico-chimiques de la (des) substance(s) active(s) et excipient(s), dans les limites des conditions aux quelles la forme pharmaceutique est susceptible d'être exposée après son administration. Ceci s'applique notamment au pH et à la force ionique du milieu de dissolution.

Le pH du milieu de dissolution est habituellement compris entre 1 et 8. [16]

Pour simuler le liquide intestinal, le milieu de dissolution à utiliser est de pH 6,8. Si un pH supérieur doit être employé alors ce dernier doit être justifié car dans le cas général il ne doit pas dépasser pH 8,0.

Pour simuler le liquide gastrique, le milieu de dissolution à utiliser est de pH 1,2.

L'utilisation de l'eau comme un milieu de dissolution est déconseillée en raison des conditions de l'essai tel que le pH et la tension superficielle peuvent varier en fonction de la source d'eau et peut être modifié au cours de l'essai de dissolution, en raison de l'influence des composants actifs et inactifs. [19]

L'utilisation d'eau comme milieu de dissolution n'est recommandée que lorsqu'il est établi que les variations de pH n'affectent pas les propriétés de dissolution. [16]

Tous les tests de dissolution devraient être effectués à $37 \pm 0,5$ °C et le volume de dissolution est généralement de 500, 900, ou 1000 ml. [19]

7.6.3. Vitesse d'agitation

En général, les conditions d'agitation devraient être lentes et maintenues pendant tout l'essai de dissolution pour permettre de détecter les produits de mauvaise performance in vivo. [19]

La vitesse d'agitation pour les deux types d'appareils est de 50 tours/minutes à 100 tours/minutes et elle ne doit pas excéder 150 tours/minutes. [16]

7.7. Tests physico-chimiques et pharmaceutiques

Pour cette étude différents essais physico-chimique et pharmaceutiques ont été réalisés pour permettre une comparaison plus consistante entre le princeps et le générique.

7.7.1. Aspect

Par un examen visuel, les comprimés doivent être inspectés pour détecter des problèmes tels que des taches, des points, des marbrures... Si les comprimés sont colorés, la qualité de la couleur doit aussi être examinée. [11]

7.7.2. Uniformité de masse et masse moyenne

L'essai consiste à peser individuellement 20 unités prélevées au hasard, et à déterminer la masse moyenne m . Deux unités des 20 au maximum peuvent s'écarter de plus $e\%$ de la valeur de m et aucune ne doit correspondre à un écart supérieur à $2e\%$. La limite e varie avec la forme pharmaceutique : Sa valeur est indiquée dans la monographie correspondante.

Plusieurs limites peuvent être données en fonction de la masse moyenne car l'erreur relative possible est plus grande pour les petites unités, d'où une plus grande tolérance pour celles-ci. [1]

Tableau 04 : Essai d'uniformité de masse pour les comprimés non enrobés ou pelliculés

m = masse moyenne	80 mg ou moins	Plus de 80 mg et moins de 250 mg	250 mg ou plus
e = écarts limites en pourcentages de la masse moyenne	10	7,5	5

7.7.3. Dureté

On pourrait tout simplement vérifier que les comprimés se cassent bien entre les doigts mais qu'ils résistent à une chute d'un mètre environ sur le sol. Dans la pratique on utilise un duromètre pour le contrôle de la dureté des comprimés finis.⁽¹⁾

7.7.4. Friabilité

Pour évaluer ce test, nous disposons d'un appareil à tambour rotatif. A chaque rotation les comprimés sont projetés du centre du tambour vers la paroi extérieure selon une trajectoire curviligne à une vitesse de rotation de 25 tours/min pendant 4 minutes. [9]

Les comprimés sont pesés avant et après ce traitement. La perte de masse doit être minimale sinon les comprimés du lot risquent de ne pas pouvoir supporter toute les manipulations qu'ils auront à subir jusqu'au moment de l'utilisation

Le test est effectué sur 20 comprimés, la perte de masse doit être inférieure à 1%, conformément aux normes Pharmacopée.

7.7.5. Temps de désagrégation ou de délitement

L'équipement utilisé est constitué de six tubes en verre, chaque tube est muni d'un disque mobile de matière plastique.

Cet essai est réalisé sur six comprimés placés au niveau des six tubes cylindriques à raison d'un comprimé par tube l'ensemble est plongé dans un bain marie à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. A partir de ce moment et que les tubes commencent leur mouvement de va et vient, le temps est chronométré jusqu'à la désagrégation complète des comprimés.

Au bout de 15 min, il ne doit rester aucun résidu sur les grilles. S'il reste une masse molle, on vérifie que celle-ci ne comporte pas de noyau dur.

La limite de 15 min a été introduite à la pharmacopée pour éviter les abus mais il est évident qu'elle est à étudier pour chaque principe actif en fonction de sa biodisponibilité et de la vitesse d'action désirée. [1]

7.7.6. Dosage

Différentes techniques sont rencontrées pour la quantification du principe actif présent dans la matrice à savoir la spectrophotométrie UV/Visible et la HPLC.

La spectrophotométrie regroupe l'étude des phénomènes résultant de l'interaction des rayonnements électromagnétiques et de la matière, cette interaction se traduit par :

- **Absorption** de la radiation électromagnétique par la matière.
- **Emission** de l'énergie absorbée par la matière.

Ces deux phénomènes sont à l'origine de nombreuses méthodes analytiques basées sur l'émission et l'absorption en rayonnements ultraviolets, visible et infrarouge par des espèces atomiques et moléculaires.

1. Domaine spectral

Ce domaine spectral est divisé en deux plages de longueurs d'onde appelées :

- Proche UV (185 - 400 nm)
- Visible (400 - 800 nm)

En spectrophotométrie UV, la région du spectre la plus couramment utilisée est celle qui correspond à l'intervalle 200 nm à 400 nm. [9]

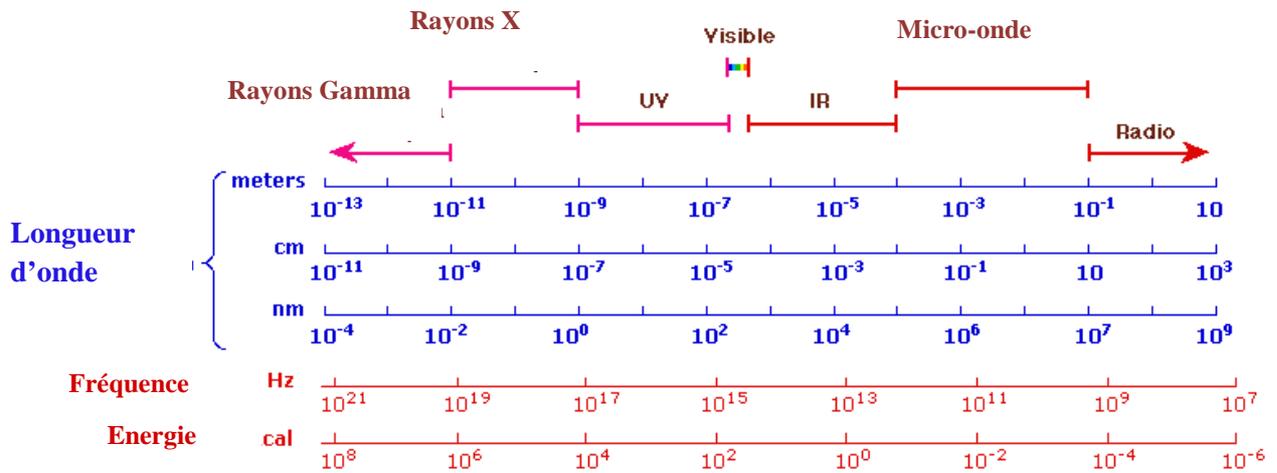


Figure 04 : Spectre électromagnétique

2. Spectre UV-Visible

Les spectromètres UV/Visible permettent d'obtenir le spectre des composés examinés sous la forme d'un tracé de la transmittance, ou de l'absorbance en fonction des longueurs d'onde repérées en nanomètres.

3. Origine d'absorption

L'absorption lumineuse a pour origine l'interaction des photons de la source lumineuse avec des groupements fonctionnels appelés **chromophores** existant dans une substance.

Le chromophore correspond au site qui, dans la molécule, est à l'origine de la transition électronique. Les électrons concernés par ces transitions sont les électrons de valence (superficiels).

4. Instrumentation dans l'UV/Visible

Un spectrophotomètre est conçu autour de trois modules : Ceux de la source et du système dispersif (souvent conçu comme un monochromateur), qui constituent la partie optique et celui qui est responsable de la détection. L'ensemble est réuni dans un bâti unique. [9]

4.1. Sources lumineuses

Le rôle de la source est de fournir la radiation lumineuse.

Dans la région de l'UV (190 à 400 nm), la source est une lampe à décharge au deutérium.

Une lampe à filament de tungstène est utilisée pour la région allant de 350 à 800 nm.

4.2. Systèmes dispersifs

a. Appareils séquentiels

Les radiations émises par la source sont dispersées par un réseau plan ou concave qui fait partie d'un montage appelé monochromateur. Ce dispositif permet d'extraire de la lumière émise par la source, un domaine étroit de son spectre d'émission.

b. Appareils simultanés

Cette catégorie d'appareils comporte simplement un réseau situé après le compartiment échantillon pour diffracter les radiations transmises. Ils fonctionnent suivant le principe des spectrographes.

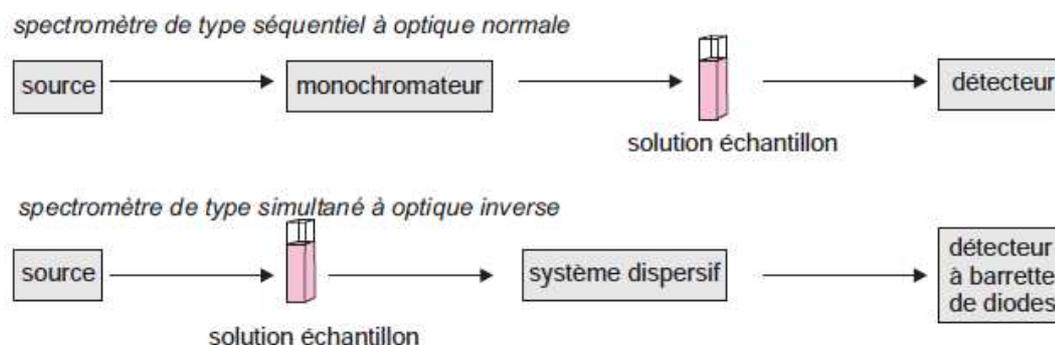


Figure 05 : Instrumentation dans l'UV/Visible. [9]

4.3. Solution échantillon

Solvant

Pour l'étude en solution, le composé doit être dissous dans un solvant convenablement choisi : Il doit dissoudre le produit et être transparent (n'absorbe pas) dans la région examinée.

Cellule

La solution à étudier doit être placée dans une cellule ou cuve. Les cellules de mesure sont généralement des tubes parallélépipédiques de 1x1 cm de côté et 4 à 5 cm de hauteur. Elles sont en quartz pour le domaine UV/Visible. Le verre est réservé aux mesures dans le domaine visible uniquement.

4.4. Cellule de détection

Le détecteur convertit en un signal électrique l'intensité de la radiation lumineuse qui l'atteint.

Sa sensibilité dépend de la longueur d'onde. On utilise soit un tube photomultiplicateur soit un semi-conducteur (détecteur à transfert de charge ou photodiode au silicium).

Le détecteur est relié à un enregistreur qui permet de tracer un spectre d'absorption de l'échantillon analysé.

5. Application analytique de la spectrophotométrie UV-Visible.

5.1. Analyse qualitative

5.1.1. Analyse structurale et identification

La méthode détecte les groupements fonctionnels chromophores mais ne permet pas l'identification certaine des molécules.

Les informations qualitatives (λ_{\max} ; λ_{\min} ; ϵ) fournies par cette méthode peuvent parfois compléter les données obtenues par des techniques plus puissantes telles que la spectrophotométrie dans l'infra-rouge, la spectrométrie de masse, la RMN ...etc. [6]

5.1.2. Contrôle de pureté de matières premières

La présence d'impuretés peut modifier le spectre d'absorption UV/Visible et se traduire par des :

- Changement de positions des maxima d'absorption.
- Apparition d'épaulements ou de pics supplémentaires par effet d'enveloppe des spectres.

La pharmacopée européenne fournit plusieurs protocoles pour la mise en évidence des impuretés, en particulier la détermination du rapport de deux coefficients d'absorption de la matière première à deux λ différentes. Ce rapport doit être identique pour l'échantillon et pour l'étalon. [6]

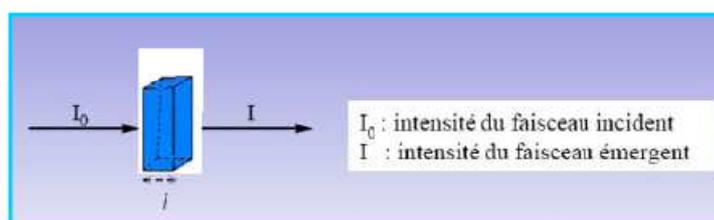
5.2. Analyse quantitative

L'absorption des composés dans le proche UV et le visible a beaucoup d'application en analyse quantitative par application de la loi de Beer-Lambert.

L'absorption du rayonnement UV/Visible par les molécules permet de mesurer le nombre (ou plutôt la concentration) de ces molécules présente dans le trajet du rayonnement

A une longueur d'onde où la molécule absorbe, cette loi relie l'absorbance **A** à la concentration **C** des molécules qui absorbent :

$$A = \epsilon_{\lambda} l C$$



A : Absorbance, paramètre optique sans dimension, accessible au moyen du

spectrophotomètre, avec : $A = -\log T = \log \frac{I_0}{I}$

l : Largeur de la cuve en cm ;

C : Concentration en mol .l⁻¹ ;

ε : Coefficient d'extinction molaire (l·mol⁻¹·cm⁻¹) à la longueur d'onde λ à laquelle on fait la mesure.

Le coefficient ϵ chiffre l'absorption intrinsèque du soluté, c'est sa valeur qui est retenue avec λ correspondante pour l'analyse structurale.

Si la concentration **C** est exprimée en gramme pour 100 ml de solution, on remplace dans la loi de Beer-Lambert le coefficient d'absorption molaire du soluté par le coefficient d'absorption spécifique $A_{1\%}^{1\text{cm}}$. [6]

$$A = A_{1\%}^{1\text{cm}} l C$$

La loi de Beer-Lambert, qui ne concerne que la fraction de la lumière absorbée, est vérifiée dans les conditions suivantes :

- La lumière utilisée doit être monochromatique ;
- concentrations doivent être faibles ;
- La solution ne doit être ni fluorescente ni hétérogène ;
- Le soluté ne doit pas donner lieu à des transformations photochimiques ;
- Le soluté ne doit pas donner des associations variables avec le solvant. [9]

1. Matériels

Le matériel principal utilisé dans notre étude et le spectrophotomètre UV/Visible de marque SHIMADZU UV-1800. En ce qui suit nous citerons les différents matériels utilisés ainsi que les matières premières et les réactifs sont regroupés dans les tableaux 05, 06 et 07.

Tableau 05 : Autres équipements employés durant l'étude

Equipement	Marque
Dissolutest	SOTAX AT 7 smart
Balance analytique	KARN BA120IMSMG23
pH mètre	HANNA
Bain Ultrasons	VWR ULTRASONIC CLEANER
Agitateur magnétique	STUART SB-162-02
Désintégrateur	Pharma test
Friabilimètre	Pharma test
Duromètre	Pharma test
Hotte	CAPTAIR SD 321

Tableau 06 : Verreries et autres

Verreries		Autres
Béchers	20 ml, 50 ml	Pissettes pour eau purifié
pipettes graduées	10 ml et 25 ml	Propipette, Pipettes en plastique pour ajustement
Pipettes jaugées	1 ml et 2 ml	Mortier et pion en porcelaine
Eprouvette	1000 ml	Papier d'aluminium, Papier joseph
Fioles	10 ml, 100 ml, 500 ml, 1000 ml	Spatules, Barreaux magnétiques
Seringue	10 ml	Tubes à essais
Filtre	0.45 µm	Gants et masques de sécurité

Tableau 07 : Réactifs et matière première

Matières premières	Réactifs
Dompéridone	Dompéridone WS
Peridium 10mg Produit fini	Acide chlorhydrique 37%
Motilium 10mg produit fini	Chlorure de potassium R
Lactose monohydrate	Acide acétique glacial
Stéarate de magnésium	Acétate de sodium R
Laurylsulfate de sodium	Phosphate monopotassique
Amidon de maïs	Hydroxyde de sodium
Povidone 25	Diméthylformamide
Glycolate amidon sodique	Alcool isopropylique
Cellulose microcristalline	Acide acétique

2. Méthodes

2.1. Préparation des milieux de dissolution

Le milieu de dissolution utilisé pour la préparation des solutions dans le cadre de la validation analytique est le milieu à l'acide chlorhydrique 0.1N, en revanche ceux utilisés pour le suivi de l'étude de bioéquivalence in vitro sont trois milieux à différent pH.

2.1.1. Milieu à l'acide chlorhydrique 0.1 N

A partir des caractéristiques de la solution commerciale (pureté, densité) le milieu HCl 0.1 M est préparé par dilution :

- **Détermination de la concentration de la solution commerciale**

Densité = 1.18 → 1l de la solution pèse 1180 g

Pureté = 37% : 100 g de solution → 37 g de HCl

1180 g → m = 436.6 g de HCl (dans 1l de solution)

La concentration de la solution commerciale = 436.6 g/l

$$= 436.6 / 36.46 = 11.97 \text{ mol/l}$$

- **Dilution de la solution commerciale**

$$C_{\text{commerciale}} \times V_{\text{prélevé}} = C_{\text{fille}} \times V_{\text{Préparé}}$$

Avec : $C_{\text{commerciale}} = 11.97 \text{ mol/l}$

$C_{\text{fille}} = 0.1 \text{ mol/l}$

$V_{\text{Préparé}} = 1000 \text{ ml}$

Donc : $V_{\text{prélevé}} = 8.35 \text{ ml}$

2.1.2. Milieu à l'acide chlorhydrique pH 1,2

- **Préparation du milieu acide chlorhydrique 0.2 M**

Procéder par dilution de la solution mère (HCl à 37%) en suivant la même méthode décrit précédemment.

- **Préparation de la solution de chlorure de potassium 0.2 M**

- Dissolver 11,69 g de chlorure de potassium R dans de l'eau R et compléter à 1000 ml avec le même solvant.
- Mélanger 250 ml de chlorure de potassium 0,2 M et 425 ml d'acide chlorhydrique 0.2 M puis compléter à 1000 ml avec de l'eau R dans une fiole jaugée de 1000 ml

2.1.3. Milieu tampons acétate pH 4,5

- Préparation de la solution d'Acide acétique 2 M : Prélever 120 g d'acide acétique glacial R et compléter à 1000 ml avec de l'eau R
- Dissolver 2,99 g d'acétate de sodium R dans de l'eau R. Ajouter 14 ml d'acide acétique 2 M et compléter à 1000 ml avec de l'eau R.

2.1.4. Milieu tampon phosphate pH 6,8

Introduire 250 ml de solution de phosphate monopotassique 0,2 M R dans une fiole jaugée de 1000 ml, et ajouter 112 ml d'hydroxyde de sodium 0,2 M, puis compléter à 1000 ml avec de l'eau R.

2.2. Protocole de la validation analytique

Afin de valider la méthode de dosage utilisée pour la cinétique de dissolution il ya lieu de préparer trois types de solutions, en ce qui concerne la spécificité les solutions à préparer sont : Principe actif seul à 100%, la forme pharmaceutique reconstituée à 100% et le placebo, pour la linéarité la gamme étudiée est de 80% à 120% pour le principe actif seul et la forme pharmaceutique reconstituée par contre la fidélité consiste à préparer sept échantillons de la forme pharmaceutique reconstituée à 100% et les données à exploiter pour l'exactitude sont celles de la linéarité.

Les principales préparations sont détaillées comme suit :

2.2.1. Préparation de la solution principe actif seul à 100%

- Dans une fiole de 100 ml, peser 55 mg de Dompéridone WS, ajouter 10 ml de diméthylformamide et environs 50 ml de milieu de dissolution, mettre à l'ultrason pendant 5 min, compléter aux trait de jauge avec le même milieu.
- Filtrer environ 10 ml de la solution précédente à l'aide d'un filtre à seringue de porosité 0,45 μm .
- Dans une fiole de 100 ml, diluer 2 ml du filtrat avec le milieu de dissolution.
- Analyser la solution diluée par un spectrophotomètre UV/Visible à une longueur d'onde de 288 nm.

2.2.2. Préparation de la solution forme pharmaceutique reconstituée à 100%

- Dans une fiole de 100 ml, peser 55 mg de Dompéridone WS et 495 mg du placebo, ajouter 10 ml de diméthylformamide et environs 50 ml de milieu de dissolution, mettre à l'ultrason pendant 5 min, compléter aux trait de jauge avec le même milieu.
- Filtrer environ 10 ml de la solution précédente à l'aide d'un filtre à seringue de porosité 0,45 μm
- Dans une fiole de 100 ml, diluer 2 ml du filtrat avec le milieu de dissolution.
- Analyser la solution diluée par un spectrophotomètre UV/Visible à une longueur d'onde de 288 nm.

2.2.3. Préparation de la solution placebo

- Dans une fiole de 100 ml peser 550 mg de placebo (mélange d'excipients), Ajouter 10 ml de diméthylformamide et 50 ml de milieu de dissolution, mettre à l'ultrason durant 5 min et ajuster jusqu'au trait de jauge avec le même milieu.
- Filtrer environ 10 ml de la solution précédente
- Dans une fiole de 100 ml, diluer 2 ml du filtrat avec le milieu de dissolution.
- Analyser la solution diluée par un spectrophotomètre UV/Visible à une longueur d'onde de 288nm.

2.3. Méthodologie de la cinétique de dissolution

La cinétique de dissolution est réalisée sur 12 comprimés « Peridium » produit test et 12 comprimés « Motilium » produit de référence en utilisant comme élément d'agitation un dissolutest à palette, à des différents milieux de dissolution :

- pH 1,2 : Solution à l'acide chlorhydrique
- pH 4,5 : Solution tampon acétate
- pH 6,8 : Solution tampon phosphate

Le volume de dissolution est de 900 ml avec une vitesse d'agitation de 100 rotations/min à une température de $37 \pm 0, 5^{\circ}\text{C}$, 10 ml sont prélevés manuellement (sans restitution du volume) à des temps différents (10-15-20-30-40-50-60 et 75 minutes) puis filtrés à l'aide d'un filtre à seringue de porosité $0,45 \mu\text{m}$, en suite chaque échantillon est analysé par spectrophotomètre UV/Visible à une longueur d'onde : 288 nm.

1. Protocole de validation de la méthode de dosage de Dompéridone comprimés 10mg

La validation de la méthode de dosage de Dompéridone comprimés 10 mg par spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet est réalisée afin d'étudier sa cinétique de dissolution.

Le protocole expérimental et la démarche statistique suivis sont la synthèse de deux guides communément admis et appliqués dans l'industrie pharmaceutique ICH et SFSTP.

Les paramètres étudiés pour la validation de la méthode sont :

- Spécificité
- Linéarité
- Exactitude
- Fidélité qui regroupe :
 - Répétabilité
 - Fidélité intermédiaire

Afin de garantir la fiabilité et la traçabilité des résultats fournis, la validation est fondée sur un certain nombre de critères qui font appel à l'outil statistique.

1.1. Spécificité

L'étude de la spécificité consiste à démontrer une absence d'interférences des excipients avec le principe actif.

Protocole

Afin de d'évaluer la spécificité de la méthode, on analyse les solutions suivantes :

- Une solution de la forme pharmaceutique reconstituée sans la substance à doser (placebo) ;
- Une solution de la forme pharmaceutique reconstituée avec la substance à doser ;
- Une solution contenant uniquement le principe actif.

1.2. Linéarité

La démarche de l'analyse statistique est de démontrer que la méthode est linéaire dans l'intervalle de concentration choisi pour le composant seul, et pour la forme pharmaceutique reconstituée, puis de démontrer que les deux droites ne sont pas statistiquement différentes.

Protocole

L'intervalle de concentration à valider est couvert par une série de cinq concentrations, de 80% à 120% par palier de 10% par rapport à la concentration théorique.

La même procédure est réalisée pour le principe actif seul et à la forme pharmaceutique reconstituée.

Cette opération est répétée deux autres fois, à raison d'une fois par jour.

On obtient ainsi sur 3 jours différents noté J_1, J_2, J_3 :

- 5 groupes de 3 valeurs sur le principe actif seul, c'est-à-dire 15 points.
- 5 groupes de 3 valeurs sur la forme pharmaceutique reconstituée, c'est-à-dire 15 points.

On obtient ainsi pour un niveau de concentration trois valeurs correspondant à une mesure journalière.

Etude statistique

La stratégie statistique à suivre est résumée dans la figure 03 :

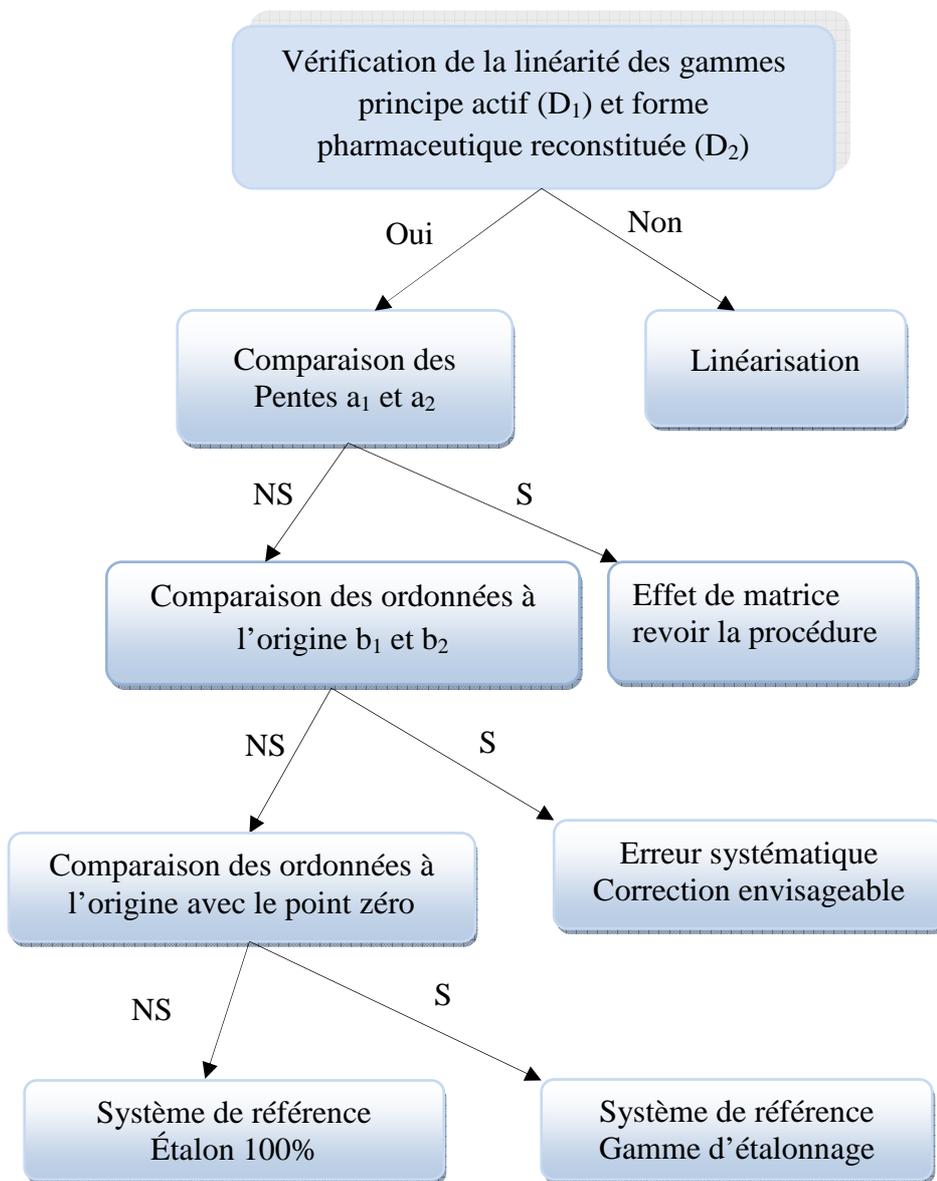


Figure 06 : Démarche statistique de l'étude de la linéarité ⁽¹⁰⁾

S : Significatif

NS : Non significatif

1.2.1. Estimation d'une droite de régression linéaire

Elle est déterminée à partir des couples (x_{ij}, y_{ij}) .

Soit $Y = A \cdot x + B$ l'équation de la droite de régression réelle inconnue.

A est la pente, B est l'ordonnée à l'origine. Les estimations recherchées a et b de A et B correspondent à une droite d'équation $y = a \cdot x + b$, qui est l'estimation de la droite réelle inconnue.

1.2.2. Calcul de la pente (a)

L'estimation de la pente a s'obtient en appliquant la méthode des moindres carrés : Le but est de rendre minimal la somme des carrés des écarts $(y_{ij} - y'_{ij})$ entre les valeurs expérimentales y_{ij} et les valeurs estimées y'_{ij} .

$$a = \frac{\sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (x_{ij} - \bar{x}) \cdot (y_{ij} - \bar{y})}{\sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (x_{ij} - \bar{x})^2}$$

x_{ij} : Valeur brute indépendante

y_{ij} : Valeur brute dépendante

\bar{x} : Moyenne des valeurs x_{ij} des k groupes

\bar{y} : Moyenne des observations y_{ij} des k groupes.

Soient a_1 et a_2 les pentes des droites D_1 (droite sur principe actif seul) et D_2 (droite sur forme pharmaceutique reconstituée)

1.2.3. Calcul de l'ordonnée à l'origine(b)

Selon la méthode des moindres carrés, la droite de régression linéaire passe par le point de coordonnées \bar{x} et \bar{y} donc l'équation suivante est vérifiée :

$$b = \bar{y} - a\bar{x}$$

Soient b_1 et b_2 les ordonnées à l'origine des droites D_1 et D_2 .

1.2.4. Calcul du coefficient de corrélation (r)

Bien que les informations fournies par le coefficient de corrélation soient limitées, sa détermination est aisée, soient :

- $S_{x_{ij}}$ et $S_{y_{ij}}$ les écarts types respectifs des variables x_{ij} et y_{ij}
- $S_{x_{ij}y_{ij}}$ la covariance des variables x_{ij} et y_{ij} .

Calcul de la covariance :

$$S_{x_{ij}y_{ij}} = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (x_{ij} - \bar{x}) \cdot (y_{ij} - \bar{y}) / (N - 1)$$

Calcul du coefficient de corrélation :

$$r = S_{x_{ij}y_{ij}} / S_{x_{ij}} \cdot S_{y_{ij}}$$

Soient r_1 et r_2 les coefficients de corrélation respectifs des droites D_1 et D_2 .

1.2.5. Tests de comparaison des ordonnées à l'origine avec zéro

La comparaison avec zéro s'effectue par le calcul suivant :

$$\frac{|b|}{S_b} < t_{(\alpha; N-2)}$$

$t_{(\alpha; N-2)}$: Lu dans la table de Student.

S_{b_1} : Ecart type de l'ordonnée à l'origine de la droite D_1

S_{b_2} : Ecart type de l'ordonnée à l'origine de la droite D_2

Si l'inégalité est vérifiée on peut affirmer que les ordonnées à l'origine des droites respectivement D_1 et D_2 ne sont pas significativement différentes de zéro au seuil de probabilité $p = 1 - \alpha$.

1.2.6. Comparaison des pentes des droites D_1 et D_2

Soient $S^2_{a_1}$ et $S^2_{a_2}$ les variances respectives des pentes a_1 et a_2 des droites D_1 et D_2 . La comparaison des pentes a_1 et a_2 s'effectue avec un test de t , donné par la relation suivante :

$$t = \frac{|a_2 - a_1|}{\sqrt{S^2_{a_2} + S^2_{a_1}}}$$

Si $t < t_{(\alpha; N_1 + N_2 - 4)}$ lu dans la table de Student, on peut affirmer que les deux pentes ne sont pas significativement différentes au risque α .

1.2.7. Comparaison des ordonnées à l'origine des droites D_1 et D_2

La comparaison des ordonnées à l'origine b_1 et b_2 s'effectue avec un test de t , donné par la relation suivante :

$$t = \frac{|b_2 - b_1|}{\sqrt{S_{b_2}^2 + S_{b_1}^2}}$$

Si $t < t(\alpha; N_1 + N_2 - 4)$ lu dans la table de Student, on peut conclure que les ordonnées à l'origine des droites D_1 et D_2 ne sont pas significativement différentes au risque α .

1.2.8. Test d'homogénéité des variances

Le test de Cochran a été appliqué aux variances des Y_{ij} pour vérifier l'homogénéité des variances constitutives de l'erreur expérimentale.

Le critère à utiliser est :

$$C = \frac{S_{\max}^2}{\sum_{j=1}^k S_j^2}$$

S_{\max}^2 : La variance la plus élevée des k groupe j

S_j^2 : La variance du groupe j

Si l'inégalité suivante est vérifiée : $C < C_{(\alpha; k; n-1)}$ l'ensemble des variances des différents groupes j peut être considéré comme homogène au risque α .

1.2.9. Test de l'existence d'une pente significative

Ce test consiste à comparer les variations dues à la régression et aux erreurs (expérimentales et d'ajustement) :

$$F_1 = \frac{S_I^2}{S_R^2} > F_{(\alpha; 1; N-2)}$$

Si F_1 est significatif, on conclut à l'existence d'une pente, donc à une dépendance linéaire au seuil de probabilité considéré.

Tableau 08: Test de l'existence d'une pente significative

Variations	DDL	Sommes des carrés	variances	Fcalculé
Variations totale	N-1	$\sum T^2 = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (Y_{ij} - \bar{Y})^2$		$F_1 = \frac{S_1^2}{S_R^2}$
Variation due à la régression	1	$\sum I^2 = a^2 \sum_{j=1}^k n_j (\bar{X}_j - \bar{X})^2$	$S_1^2 = \sum I^2$	
Variation résiduelle	N-2	$\sum R^2 = \sum T^2 - \sum I^2$	$S_R^2 = \frac{\sum R^2}{(N-2)}$	

1.2.10. Test de validité de la droite de régression

Ce test permet de comparer les erreurs d'ajustement (S_L^2) et expérimentales (S_E^2) :

$$F_2 = \frac{S_L^2}{S_E^2} < F_{(\alpha; k-2; N-k)}$$

Si F_2 n'est pas significatif, l'ajustement est considéré comme valide au seuil de probabilité considéré.

Tableau 09 : Test de validité de la droite de régression

Variations	DDL	Somme des carrés	Variance	Fcalculé
Erreur expérimentale	N-k	$\sum E^2 = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (Y_{ij} - \bar{Y}_j)^2$	$S_E^2 = \frac{\sum E^2}{N-k}$	$F_2 = \frac{S_L^2}{S_E^2}$
Erreur de la régression	k-2	$\sum L^2 = \sum R^2 - \sum E^2$	$S_L^2 = \frac{\sum L^2}{k-2}$	

1.3. Exactitude

Le signal de la forme pharmaceutique reconstituée et le principe actif seul montre une linéarité satisfaisante et que les droites D_1 et D_2 sont superposables alors l'étude statistique de l'exactitude est réalisable.

Les données à exploiter pour l'étude de l'exactitude sont celles obtenues pour l'étude de la linéarité.

Considérer le recouvrement entre les pesées retrouvées grâce au système de référence considéré et les pesées introduites :

- **Système de référence considéré : Droite D_1**

Ce système de référence est utilisé lorsque les ordonnées à l'origine des droites D_1 et D_2 sont significativement différents de zéro

Effectuer le changement de variable suivant :

$$Y_{ij} = \frac{(y_{ij} - b_1)}{a_1 \cdot X_{ij}} \cdot 100$$

Nous disposons ainsi de N valeurs y_{ij} réparties en k groupes de n valeurs.

- **Système de référence considérée : Etalon 100%**

Ce système de référence est considéré lorsque les ordonnées à l'origine des droites

D_1 et D_2 ne sont pas significativement différentes de zéro.

Soient x_{100} et y_{100} respectivement la pesée et l'observation correspondant à la solution de référence. Effectuer le changement de variable suivant :

$$Y_{ij} = y_{ij} \cdot x_{100} / x_{ij} \cdot y_{100}$$

Cette méthode permet d'évaluer l'exactitude dans les conditions de dosage routinières.

Les tests suivants s'effectuent quel que soit le système de référence considéré.

1.3.1. Vérification de l'homogénéité des variances liées

Effectuer le test de Cochran en considérant les valeurs Y_{ij} (recouvrement) pour vérifier l'homogénéité des variances des différents groupes j . Le critère à utiliser est :

$$C = \frac{S_{\max}^2}{\sum_{j=1}^k S_j^2}$$

S_j^2 : Variance du groupe j

S_{\max}^2 : Variance la plus élevée des k groupes j

Si l'inégalité suivante est vérifiée : $C < C_{(\alpha; k; n-1)}$, l'ensemble des variances des différents groupes j peut être considéré comme homogène au risque α

1.3.2. Test de validité des moyennes

Ce test consiste à comparer les erreurs inter-groupes et intra-groupes :

$$F_3 = \frac{S_C^2}{S_E^2} < F_{(\alpha; k-1; N-k)}$$

Si F_3 n'est pas significatif, on peut dire, au risque considéré, que les variations des observations entre les différents groupes sont dues aux erreurs expérimentales.

Tableau 10 : Test de validité des moyennes

Variation	DDL	Somme des carrés	Variances	F calculé
Variation totale	N-1	$\sum T^2 = \sum_{j=1}^K \sum_{i=1}^{n_j} (Y_{ij} - \bar{Y})^2$	$S^2_T = \sum T^2 / (N-1)$	$F_3 = S^2_C / S^2_E$
Variation intra-groupe	N-k	$\sum E^2 = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (Y_{ij} - \bar{Y}_j)^2$	$S^2_E = \sum E^2 / (N-K)$	
Variation inter-groupe	k-1	$\sum C^2 = \sum T^2 - \sum E^2$	$S^2_c = \sum C^2 / (K-1)$	

1.3.3. Estimation du recouvrement moyen

Après avoir vérifié le test précédent, il est possible de calculer la valeur du recouvrement moyen et son intervalle de confiance :

$$\bar{Y} = \sum_{j=1}^K (1/n_j) \sum_{i=1}^{n_j} Y_{ij}$$
$$I_{Rm} = \bar{Y} \pm \frac{t_{(\alpha;N-1)} \cdot S_t}{\sqrt{N}}$$

$t_{(\alpha;N-1)}$: Lu dans la table de Student

1.4. Fidélité

La démarche de l'analyse statistique est donc de démontrer statistiquement que la méthode est fidèle, autrement dit répétable et reproductible. La fidélité se calcule sur trois séries de sept mesures à 100% de la concentration théorique sur la forme pharmaceutique reconstituée.

Protocole

Sept échantillons de la forme pharmaceutique reconstituée et un échantillon standard contenant 100% de la quantité théorique de principe actif sont préparés et analysés. Cette opération est répétée deux autres fois à raison d'une fois par jour

1.4.1. Transformation des données brutes en pourcentage de recouvrement

a. Système de référence considéré : droite D_1

- Transformation des données brutes en quantité retrouvées :

$$X_{ij} = \frac{y_{ij} - b_1}{a_1}$$

a_1 et b_1 sont respectivement la pente et l'ordonnée à l'origine de la droite de régression D_1 , calculées dans le cadre de l'étude de la linéarité.

- Détermination des pourcentages de recouvrement :

$$Y_{ij} = \frac{X_{ij} \cdot 100}{x_{ij}}$$

b. Système de référence considéré : Etalon 100%

- Transformation des données brutes en quantité retrouvées

$$X_{ij} = \frac{Y_{ij}}{a_1}$$

a_1 est la pente de la droite de régression D_1 , calculée dans le cadre de l'étude de la linéarité.

- Détermination des pourcentages de recouvrement :

$$Y_{ij} = \frac{X_{ij} \cdot 100}{x_{ij}}$$

1.4.2. Moyenne des groupes

La moyenne m_j des n_j répétitions à l'intérieur du groupe j est donnée par :

$$m_j = \frac{\sum_{i=1}^{n_j} Y_{ij}}{n_j}$$

1.4.3. Dispersion à l'intérieur des groupes de mesures

La variance des répétitions à l'intérieur du groupe j est donnée par :

$$S_j^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_j} (Y_{ij} - m_j)^2}{n_j - 1}$$

Nombre de degrés de liberté $NDL_j = n_j - 1$

L'écart type à l'intérieur du groupe j est donné par S_j .

1.4.4. Variance de Répétabilité

- Sous réserve que les variances des k groupes de mesures forment un ensemble homogène, on peut calculer la variance de répétabilité par :

$$S_r^2 = \frac{\sum_{j=1}^k [(n_j - 1) \cdot S_j^2]}{(\sum_{j=1}^k n_j) - k}$$

Nombre de degrés de liberté = $(\sum_{j=1}^k n_j) - k$

Cet algorithme au cas général, pour lequel les groupes n'ont pas le même nombre de mesures n_j .

- Lorsque tous les groupes ont le même nombre de mesures n :

$$S_r^2 = \frac{\sum_{j=1}^k S_j^2}{k}$$

1.4.5. Variance inter-groupes

- Cas général (le nombre de mesures est différent dans chaque groupe) : On peut calculer une variance inter-groupes Sg^2 qui traduit la dispersion existant entre les moyennes m_j des groupes :

$$Sg^2 = \frac{\frac{\sum_{j=1}^k [n_j(m_j - \bar{m})^2]}{k-1}}{\bar{n}} - Sr^2$$

Dans cette relation, \bar{m} est la moyenne des moyennes des groupes, que l'on peut calculer par :

$$\bar{m} = \frac{\sum_{j=1}^k (n_j \cdot m_j)}{\sum_{j=1}^k n_j}$$

Enfin, \bar{n} est le nombre moyen de valeurs par groupe, donné par :

$$\bar{n} = \left[\frac{1}{k-1} \right] \left[\sum_{j=1}^k n_j - \frac{\sum_{j=1}^k n_j^2}{\sum_{j=1}^k n_j} \right]$$

- Cas particulier où tous les groupes ont le même nombre de mesures n :

$$Sg^2 = \frac{\sum_{j=1}^k [(m_j - \bar{m})^2]}{k-1} - \frac{Sr^2}{n}$$

$$\bar{m} = \frac{\sum_{j=1}^k m_j}{k}$$

$$\bar{n} = n$$

1.4.6. Variance totale

Elle est donnée par :

$$SR^2 = Sr^2 + Sg^2$$

Il peut arriver que la valeur calculée pour Sg^2 soit négative. Ce cas peut se produire lorsque la variabilité inter-groupes n'est pas significative vis-à-vis de la variance de répétabilité. Dans ce cas, on remplace par zéro la valeur négative trouvée.

1.4.7. Expression des résultats

Habituellement, on exprime les erreurs de répétabilité et totale sous forme de coefficients de variation.

➤ Répétabilité :

$$CV_r = \frac{100 S_r}{\bar{m}}$$

➤ Totale :

$$CV_R = \frac{100 S_R}{\bar{m}}$$

Les CV doivent être inférieurs à 2% pour dire que la méthode est fidèle.

2. Résultats et discussion

2.1. Spécificité

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 11 :

Tableau 11 : Résultats de l'étude de la spécificité

	Principe actif seul	Forme pharmaceutique reconstituée	Blanc	Placebo
Abs (y_i)	0.262	0.261	0,000	0,003
	0.262	0.261	0,000	0,003
	0.262	0.261	0,000	0,003
Moyenne des y_i (m_i)	m ₁ =0.262	m ₂ =0.261	m ₃ =0,000	m ₄ =0,003
	m ₁ ≈ m ₂		m ₃ ≈ m ₄ ≈ 0	

Dans les résultats obtenus la réponse du principe actif est significativement différente de celle du placebo et la réponse de la forme pharmaceutique reconstituée n'est pas différente de celle du principe actif.

La présence de la matrice n'interfère pas dans la spécificité de la méthode.

2.2. Linéarité

2.2.1. Traitement des données brutes

Les tableaux 12 et 13 résument les résultats des trois jours obtenus pour la gamme principe actif et la gamme forme pharmaceutique reconstituée. Et à partir des données de ces tableaux, on trace pour chacune des deux gammes la droite de régression linéaire D₁ et D₂ qui sont représentées respectivement par les équations suivantes :

$$y_1 = a_1x + b_1$$

$$y_2 = a_2x + b_2$$

Soient : **a**₁, **a**₂ les pentes respectives des droites D₁ et D₂, et **b**₁, **b**₂ leurs ordonnées à l'origine

Tableau 12 : Linéarité : résultats des données brutes principe actif seul

Niveaux des concentrations	Série	Pesées (mg) x_{ij}	Réponses y_{ij}
80%	1	44,0	0,22
	2	44,0	0,21
	3	44,0	0,207
90%	1	49,5	0,237
	2	49,5	0,237
	3	49,5	0,232
100%	1	55,0	0,264
	2	55,0	0,264
	3	55,0	0,259
110%	1	60,5	0,292
	2	60,5	0,286
	3	60,5	0,282
120%	1	66,0	0,31
	2	66,0	0,32
	3	66,0	0,305

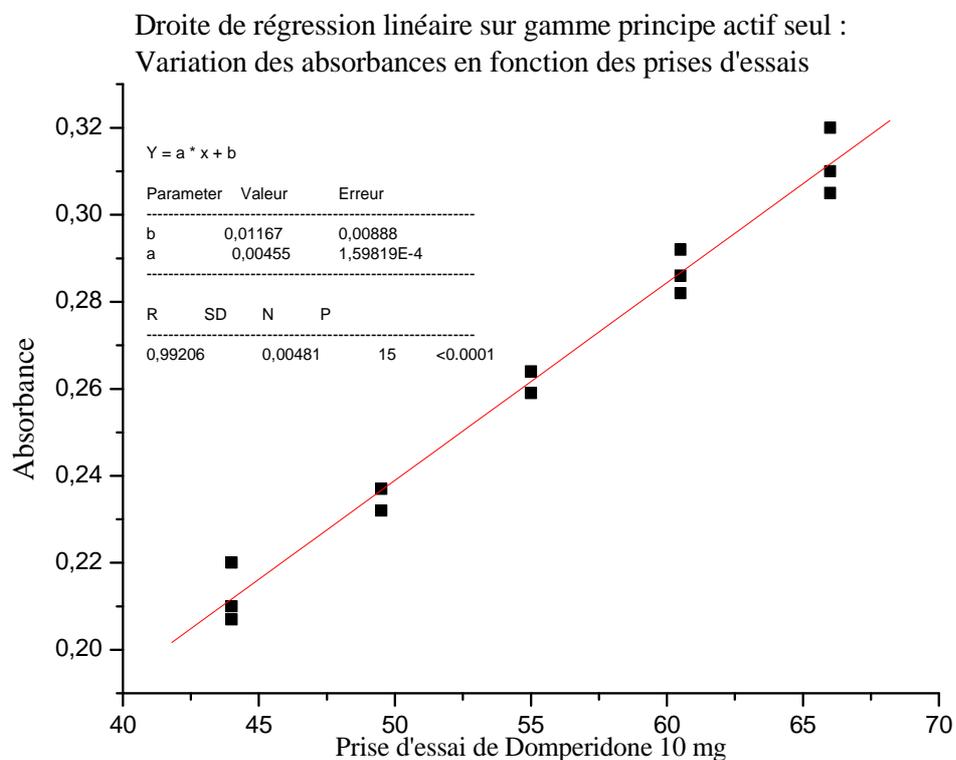


Figure 07 : Droite d'étalonnage sur principe actif seul (Logiciel Origin 6.0)

Tableau 13 : linéarité : Résultats des données brutes forme pharmaceutique reconstituée

Niveaux des concentrations	Série	Pesées (mg) x_{ij}	Réponses y_{ij}
80%	1	44,0	0,206
	2	44,0	0,206
	3	44,0	0,205
90%	1	49,5	0,239
	2	49,5	0,238
	3	49,5	0,236
100%	1	55,0	0,265
	2	55,0	0,267
	3	55,0	0,259
110%	1	60,5	0,289
	2	60,5	0,294
	3	60,5	0,286
120%	1	66,0	0,307
	2	66,0	0,317
	3	66,0	0,309

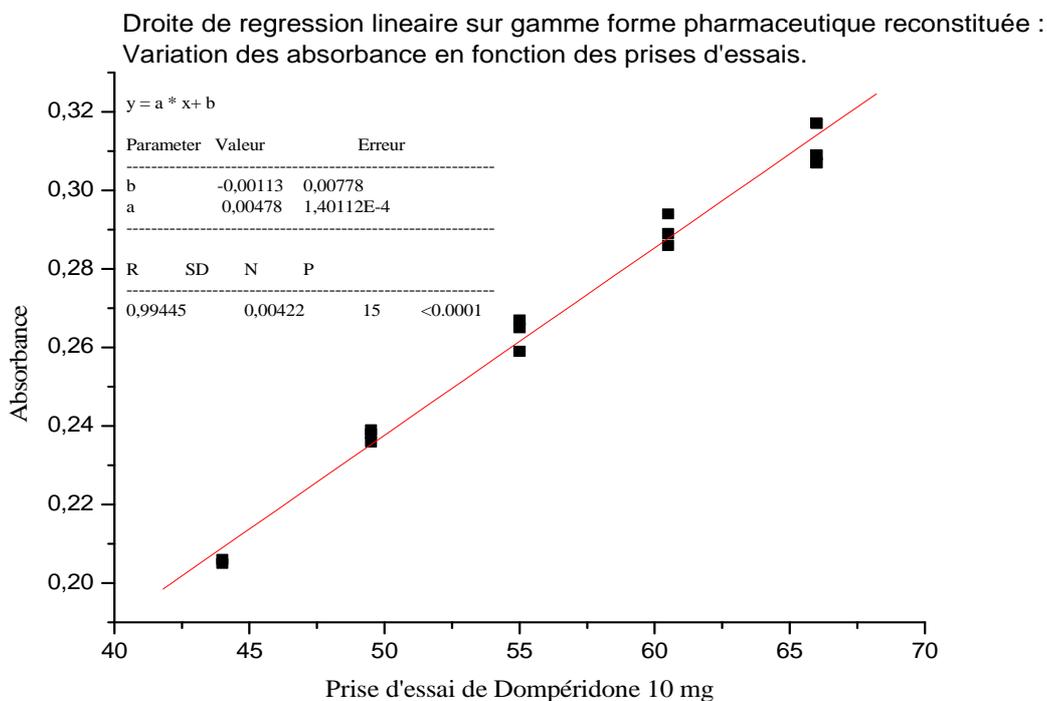


Figure 08 : Droite d'étalonnage sur forme pharmaceutique reconstituée
(Logiciel Origin 6.0)

Tableau 14 : Linéarité : Résultats des données brutes (forme pharmaceutique reconstituée et principe actif seul)

Niveaux des concentrations	Série	Gamme principe actif		Gamme forme pharmaceutique	
		Pesées (mg) x_{ij}	Réponses y_{ij}	Pesées (mg) x_{ij}	Réponses y_{ij}
80%	1	44,0	0,220	44,0	0,206
	2	44,0	0,210	44,0	0,206
	3	44,0	0,207	44,0	0,205
90%	1	49,5	0,237	49,5	0,239
	2	49,5	0,237	49,5	0,238
	3	49,5	0,232	49,5	0,236
100%	1	55,0	0,264	55,0	0,265
	2	55,0	0,264	55,0	0,267
	3	55,0	0,259	55,0	0,259
110%	1	60,5	0,292	60,5	0,289
	2	60,5	0,286	60,5	0,294
	3	60,5	0,282	60,5	0,286
120%	1	66,0	0,310	66,0	0,307
	2	66,0	0,320	66,0	0,317
	3	66,0	0,305	66,0	0,309

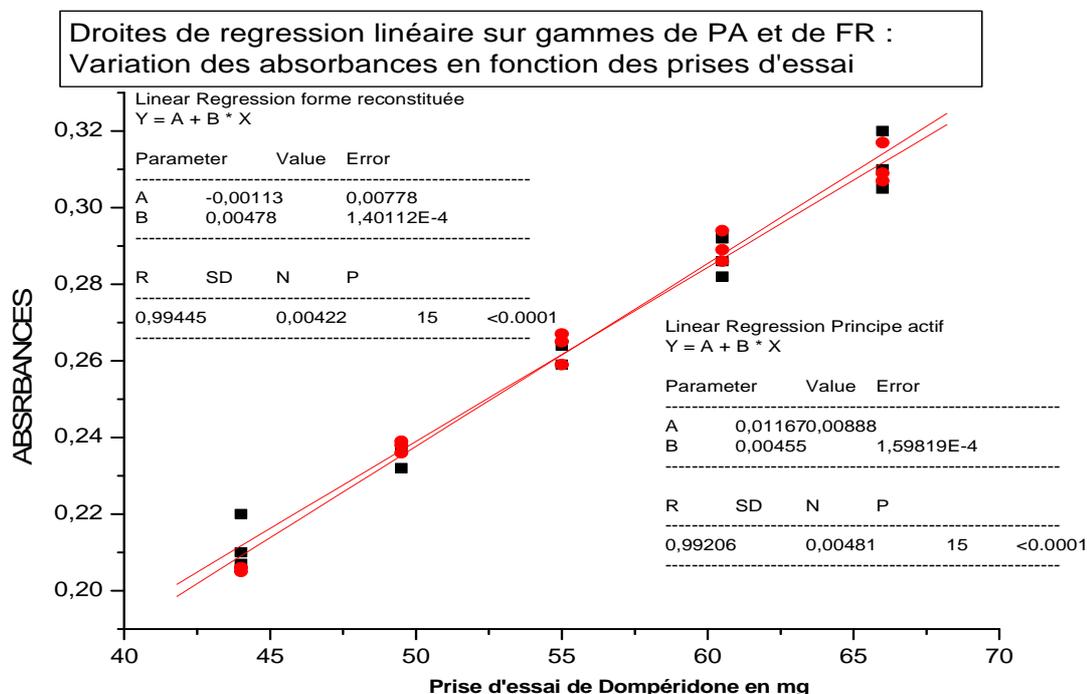


Figure 09 : Droite d'étalonnage sur principe actif seul et forme pharmaceutique reconstituée (Logiciel origin 6.0)

2.2.2. Critères des droites de régression D₁ et D₂

Les résultats obtenus pour les trois paramètres pente, ordonnée et coefficient de corrélation sont regroupés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Critères des droites de régression D₁ et D₂

paramètres		Principe actif seul	Forme pharmaceutique reconstituée
a	valeur	0.00455	0.00478
	erreur	1.59819.10 ⁻⁴	1.40112.10 ⁻⁴
b	valeur	0.01167	-0.00113
	erreur	0.00888	0.00778
r		0.99206	0.99445

A partir du tableau 15, les droites de régression D₁ et D₂ correspondantes sont respectivement :

$$D_1 : y_1 = 0,0045x + 0,01167$$

$$D_2 : y_2 = 0.00478x - 0.00113$$

Les valeurs calculées pour les coefficients de corrélation sont tout à fait satisfaisantes : Il existe une relation relativement forte entre les variables.

2.2.3. Tests de comparaison des ordonnées à l'origine avec zéro

Tableau 16 : Résultats des tests de comparaison des ordonnées à l'origine avec zéro

	t _{calculé}	t _(0,05 ;13)
Principe actif seul	1,31	2,16
Forme pharmaceutique reconstituée	0,15	

t_{calculé 1} et t_{calculé 2} sont inférieure à t_(0,05 ;13) , donc les ordonnées à l'origine des droites D₁ et D₂ ne sont pas significativement différentes de zéro au seuil de probabilité 95%.

2.2.4. Comparaison des pentes des droites D₁ et D₂

Tableau 17 : Résultats de comparaison des pentes des droites D₁ et D₂

t _{calculé}	t _(0,05 ;26)
1,082	2,056

t_{calculé} < t_{théorique} donc les pentes **a₁** et **a₂** ne sont pas significativement différentes au risque 5%.

2.2.5. Comparaison des ordonnées à l'origine des droites D_1 et D_2

Tableau 18 : Résultats de comparaison des ordonnées à l'origine des droites D_1 et D_2

$t_{\text{calculé}}$	$t_{(0,05 ; 26)}$
1,084	2,056

$t_{\text{calculé}} < t_{(0,05 ; 26)}$, donc les ordonnées b_1 et b_2 ne sont pas significativement différentes au risque 5%.

2.2.6. Test d'homogénéité des variances

2.2.6.1. Principe actif seul

Tableau 19 : Résultats de test d'homogénéité des variances du principe actif seul

x_{ij} (mg)	\bar{X}_{ij}	y_{ij}	\bar{Y}_{ij}	Variances S_j^2
44,0	44,0	0,220	0,212	0,00004633
44,0		0,210		
44,0		0,207		
49,5	49,5	0,237	0,235	0,00000833
49,5		0,237		
49,5		0,232		
55,0	55,0	0,264	0,262	0,00000833
55,0		0,264		
55,0		0,259		
60,5	60,5	0,292	0,287	0,00002533
60,5		0,286		
60,5		0,282		
66,0	66,0	0,310	0,312	0,00005833
66,0		0,320		
66,0		0,305		

Somme des variances	Variance max	$C_{\text{calculé}}$	$C_{(5\% ; 5 ; 2)}$
0,00014667	0,0000583	0,40	0,68

$C_{\text{calculé}} < C_{(5\% ; 5 ; 2)}$ donc l'ensemble des variances des cinq groupes peut être considéré comme homogène au risque 5%.

2.2.6.2. Forme pharmaceutique reconstituée

Tableau 20 : Résultats de test d'homogénéité des variances de la forme pharmaceutique reconstituée

x_{ij} (mg)	\bar{X}_{ij}	y_{ij}	\bar{Y}_{ij}	Variances S_j^2
44,0	44,0	0,206	0,206	0,00000033
44,0		0,206		
44,0		0,205		
49,5	49,5	0,239	0,238	0,00000233
49,5		0,238		
49,5		0,236		
55,0	55,0	0,265	0,264	0,00001733
55,0		0,267		
55,0		0,259		
60,5	60,5	0,289	0,290	0,00001633
60,5		0,294		
60,5		0,286		
66,0	66,0	0,307	0,206	0,00002800
66,0		0,317		
66,0		0,309		

Somme des variances	Variance max	$C_{\text{calculé}}$	$C_{(5\% ; 5 ; 2)}$
0,00006433	0,00002800	0,44	0,68

$C_{\text{calculé}} < C_{(5\% ; 5 ; 2)}$ donc l'ensemble des variances des cinq groupes peut être considéré comme homogène au risque 5%.

2.2.7. Test de l'existence d'une pente significative

2.2.7.1. Principe actif seul

Tableau 21 : Résultats de test de l'existence d'une pente significative du principe actif seul

Variations	DDL	Sommes des carrés	variance		
Variation totale	14	$\sum T^2 = 0,01905$		F₁ calculé	F_(5% ; 1 ; 13)
Variation due à la régression	1	$\sum l^2 = 0,01879$	$S_l^2 = 0,01879$		
Variation résiduelle	13	$\sum R^2 = 0,00026$	$S_R^2 = 0,00002$		

2.2.7.2. Forme pharmaceutique reconstituée

Tableau 22 : Résultats de test de l'existence d'une pente significative de la Forme pharmaceutique reconstituée

Variations	DDL	Sommes des carrés	variance		
Variations totale	14	$\sum T^2 = 0,02093$		F'₁ calculé	F_(5% ; 1 ; 13)
Variation due à la régression	1	$\sum l^2 = 0,02073$	$S_l^2 = 0,02073$		
Variation résiduelle	13	$\sum R^2 = 0,00020$	$S_R^2 = 0,00002$		

F_1 calculé et F'_1 calculé sont supérieurs à $F_{(5\% ; 1 ; 13)}$, on conclut à l'existence d'une pente, donc à une dépendance linéaire au seuil de probabilité 95% pour le principe actif seul et la forme pharmaceutique reconstituée.

2.2.8. Test de validité de la droite de régression

2.2.8.1. Principe actif seul

Tableau 23 : Résultats de test de validité de la droite de régression du principe actif seul

Variations	DDL	Somme des carrés	Variance	F ₂ calculé	F _(5% ; 3 ; 10)
Erreur expérimentale	10	$\sum E^2 = 0,00030$	$S_E^2 = 0,00003$	0,33	3,71
Erreur d'ajustement	3	$\sum L^2 = 0,00003$	$S_L^2 = 0,00001$		

2.8.2.2. Forme pharmaceutique reconstituée

Tableau 24 : Résultats de test de validité de la droite de régression de la Forme pharmaceutique reconstituée

Variations	DDL	Somme des carrés	Variance	F' ₂ calculé	F _(5% ; 3 ; 10)
Erreur expérimentale	10	$\sum E^2 = 0,00014$	$S_E^2 = 0,00001$	1,55	3,71
Erreur d'ajustement	3	$\sum L^2 = 0,00006$	$S_L^2 = 0,00002$		

F₂ calculé et F'₂ calculé sont inférieurs à F_(5% ; 3 ; 10), l'ajustement est considéré comme valide au seuil de probabilité 95%.

2.2.9. Tableau récapitulatif des tests de l'étude de la linéarité

Tableau 25 : Tableau récapitulatif des tests de l'étude de la linéarité

	Linéarité du PA	Linéarité de la FR	Valeurs statistiques théoriques au risque 5%	conclusion
Pente (a_1, a_2)	0,00455	0,00478		
Ordonnée à l'origine (b_1, b_2)	0,01167	-0,00113		
Coefficient de corrélation (r_1, r_2)	0,99206	0,99445		Bonne linéarisation
Tests de comparaison des ordonnées à l'origine avec 0	1,31	0,15	$t_{(0,05 ; 13)}=2,16$	Système de référence étalon 100%
Comparaison des pentes des droites D_1 et D_2	1,082		$t < (0,05 ; 26) = 2,056$	Pas d'effet matrice
Comparaison des ordonnées à l'origine des droites D_1 et D_2	1,084		$t < (0,05 ; 26) = 2,056$	Pas d'erreur systématique
Test d'homogénéité des variances	0,40	0,44	$C_{(0,05 ; 5 ; 2)} = 0,68$	Variances homogènes
Test de l'existence d'une pente significative	930,43	1360,83	$F_{(5\% ; 1 ; 13)} = 4,67$	Pente significative
Test de validité de la droite de régression	-0,33	1,55	$F_{(5\% ; 3 ; 10)} = 3,71$	Droite de régression valide

2.3. Exactitude

2.3.1. Système de référence considérée : étalon 100%

Tableau 26 : Résultats de système de référence considérée : Etalon 100%

Teneur en PA par rapport à la quantité théorique	Essais	Pesées (mg) x_{ij}	Réponses y_{ij}	Y_{ij}
80%	1 ^{er} jour	44,0	0,206	98,3
	2 ^{eme} jour	44,0	0,206	98,3
	3 ^{eme} jour	44,0	0,205	97,81
90%	1 ^{er} jour	49,5	0,239	101,36
	2 ^{eme} jour	49,5	0,238	1,00933
	3 ^{eme} jour	49,5	0,236	100,01
100%	1 ^{er} jour	55,0	0,265	101,15
	2 ^{eme} jour	55,0	0,267	101,91
	3 ^{eme} jour	55,0	0,259	98,86
110%	1 ^{er} jour	60,5	0,289	100,28
	2 ^{eme} jour	60,5	0,294	102,01
	3 ^{eme} jour	60,5	0,286	99,24
120%	1 ^{er} jour	66,0	0,307	97,65
	2 ^{eme} jour	66,0	0,317	100,83
	3 ^{eme} jour	66,0	0,309	98,28

2.3.2. Vérification de l'homogénéité des variances liées

Tableau 27 : Résultats de test de vérification de l'homogénéité des variances liées

Teneur en PA par rapport à la quantité théorique	Essais	Pesées (mg) x_{ij}	Réponses y_{ij}	Y_{ij}	S_j^2
80%	1 ^{er} jour	44,0	0,206	98,3	0,00001
	2 ^{eme} jour	44,0	0,206	98,3	
	3 ^{eme} jour	44,0	0,205	97,81	
90%	1 ^{er} jour	49,5	0,239	101,36	0,00004
	2 ^{eme} jour	49,5	0,238	1,00933	
	3 ^{eme} jour	49,5	0,236	100,01	
100%	1 ^{er} jour	55,0	0,265	101,15	0,00025
	2 ^{eme} jour	55,0	0,267	101,91	
	3 ^{eme} jour	55,0	0,259	98,86	
110%	1 ^{er} jour	60,5	0,289	100,28	0,00020
	2 ^{eme} jour	60,5	0,294	102,01	
	3 ^{eme} jour	60,5	0,286	99,24	
120%	1 ^{er} jour	66,0	0,307	97,65	0,00028
	2 ^{eme} jour	66,0	0,317	100,83	
	3 ^{eme} jour	66,0	0,309	98,28	

Somme des variances	Variance max	$C_{\text{calculé}}$	$C_{(5\% ; 5 ; 2)}$
0,00078	0,00028	0,36	0,68

Au risque 5% $C_{\text{calculé}} < C_{(5\% ; 5 ; 2)}$ donc l'ensemble des variances des cinq groupes peut être considéré comme homogène.

2.3.3. Test de validité des moyennes

Tableau 28 : Résultats de test de validité des moyennes

Variation	DDL	Somme des carrés	Variances	F_3 calculé	$F_{(0,05;4;10)}$
Variation totale	14	$\sum T^2 = 0,00330$	$S^2_T = 0,00024$		
Variation intra-groupe	10	$\sum E^2 = 0,00156$	$S^2_E = 0,00016$		
Variation inter-groupe	4	$\sum C^2 = 0,00173$	$S^2_c = 0,00043$		

Au risque 5%, $F_3 \text{ calculé} < F_{(0,05;4;10)}$ alors les variations des observations entre les différents groupes sont dues aux erreurs expérimentales.

2.3.4. Estimation du recouvrement moyen

Tableau 29 : Exactitude : estimation de l'intervalle de confiance du recouvrement moyen.

Recouvrement moyen	Intervalle de confiance
99,80%	$99,80 \pm 0,85\%$

La valeur de 100% est incluse dans l'intervalle de confiance de recouvrement moyen [98,95% ; 100,65%], ce qui permet de conclure à l'exactitude de la méthode.

2.4. Fidélité

2.4.1. Transformation des données brutes en pourcentage de recouvrement

Système de référence considéré : Etalon 100% (pesée = 55 mg, absorbance = 0,264)

Tableau 30 : Résultats de Transformation des données brutes en pourcentage de recouvrement : Système de référence considéré : Etalon 100%

Série	Essai	Quantité introduite x_{ij} (mg)	Réponse y_{ij}	Quantité retrouvée (mg) X_{ij}	Recouvrement $Y_{ij}(\%)$
1	1	55,0	0,264	55,0	100,0
	2	55,0	0,265	55,2	100,4
	3	55,0	0,264	55,0	100,0
	4	55,0	0,265	55,2	100,4
	5	55,0	0,264	55,0	100,0
	6	55,0	0,265	55,2	100,4
	7	55,0	0,263	54,8	99,6
2	1	55,0	0,264	55,0	100,0
	2	55,0	0,263	54,8	99,6
	3	55,0	0,263	54,8	99,6
	4	55,0	0,264	55,0	100,0
	5	55,0	0,263	54,8	99,6
	6	55,0	0,264	55,0	100,0
	7	55,0	0,263	54,8	99,6
3	1	55,0	0,262	54,6	99,2
	2	55,0	0,263	54,8	99,6
	3	55,0	0,263	54,8	99,6
	4	55,0	0,263	54,8	99,6
	5	55,0	0,263	54,8	99,6
	6	55,0	0,263	54,8	99,6
	7	55,0	0,264	55,0	100,0

2.4.2. Moyenne des groupes

Tableau 31 : Résultats des moyennes des groupes

Groupes	1	2	3
m_j	100,1	99,8	99,6

2.4.3. Dispersions à l'intérieur des groupes de mesures

Tableau 32 : Résultats des dispersions à l'intérieur des groupes de mesures

Groupes	1	2	3
S_j^2	0,08199	0,04099	0,04783

2.4.4. Paramètres de fidélité

Tableau 33 : Résultats des Paramètres de fidélité

Variance de Répétabilité	Variance inter-groupe	Variance totale
$S_r^2 = 0,05694$	$S_g^2 = 0,00261$	$S_R^2 = 0,05955$
CV_r = 0,23 %	CV_g = 0,05 %	CV_R = 0,24 %

Les coefficients de variation de la répétabilité et d'inter-groupe sont inférieurs à 2%, ce qui démontre la fidélité de la méthode analytique pour la détermination de la teneur en Dompéridone dans le produit fini.

3. Conclusion

Conformément aux exigences des deux guides ICH et SFSTP, la méthode de dosage de Dompéridone par spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'ultraviolet est jugée spécifique, linéaire, exacte et fidèle. Cela permis de conclure que la méthode est validée et peut être appliquée à l'étude de la cinétique de dissolution pour le médicament générique Peridium.

Afin de vérifier l'interchangeabilité du médicament générique « Peridium » avec son médicament de référence « Motilium » nous avons suivi la libération du principe actif « Dompéridone » en fonction du temps.

1. Réalisation d'un profil de dissolution comparatif

1.1. Méthodologie : La méthode de dissolution de Dompéridone appliquée dans le présent travail est inscrite à la procédure de contrôle physico-chimique de Peridium comprimés 10 mg de l'entreprise pharmaceutique GenericLab.

- Essai sur 12 comprimés Peridium et 12 comprimés Motilium
- Appareil de dissolution : Dissolutest à palette
- Milieu de dissolution : Trois milieux différents : pH 1,2 – 4,5 – 6,8
- Volume de dissolution : 900 ml
- Vitesse d'agitation : 100 rotations/min
- Température : $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$
- Temps de prélèvement : 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60 et 75 minutes
- Méthode d'analyse : Spectrophotométrie moléculaire dans l'ultraviolet.
- Longueur d'onde : 288 nm
- Trajet optique : Cuve en quartz de 1 cm d'épaisseur.

1.2. Protocole

Echantillon

- Introduire 900 ml du milieu de dissolution (± 1 pour cent) dans les récipients, puis assembler l'appareil, thermostatier le milieu de dissolution à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$;
- Peser individuellement 6 comprimés et glisser dans chaque récipient une unité ;
- Mettre l'appareil en marche à la vitesse de 100 rotation/minute ;
- A chacun des temps indiqués, prélever un volume de 10 ml dans une zone située à mi-distance de la surface du milieu et du haut de la pale en rotation, et à au moins 1 cm de la paroi du récipient ;
- Garder le récipient couvert pendant toute la durée de l'essai et vérifier la température du milieu à des intervalles de temps appropriés ;

- Filtrer chaque échantillon à l'aide d'un filtre à seringue de porosité 0,45 μ m ;
- Procéder à l'analyse de chaque échantillon.
- Répéter l'essai sur six autres unités.
- Le même protocole est réalisé pour le médicament de référence.
- Le protocole expérimental est commun pour les trois milieux de dissolution.

Solution standard

- Dans une fiole de 100 ml, peser 55 mg de Dompéridone WS, ajouter 10 ml de diméthylformamide et environ 50 ml de milieu de dissolution, mettre à l'ultrason pendant 5 min, compléter aux trait de jauge avec le même milieu.
- Filtrer environ 10 ml de la solution précédente à l'aide d'un filtre à seringue de porosité 0,45 μ m.
- Dans une fiole de 100 ml, diluer 2 ml du filtrat avec le milieu de dissolution.

Lire l'absorbance de la solution diluée à une longueur d'onde de 288 nm.

1.3. Résultats

1.3.1. Absorbances mesurées dans les différents milieux pour les deux médicaments, princeps et générique

– Premier milieu de dissolution : Tampon pH 1,2

➤ Médicament princeps : Motilium

Tableau 34 : Absorbances du principe actif « Dompéridone » libéré au cours du temps dans le milieu pH 1,2 à partir du princeps.

A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Moyenne
T2 : 10	0,242	0,254	0,261	0,257	0,252	0,261	0,249	0,253	0,254	0,226	0,251	0,248	0,251
T3 : 15	0,247	0,257	0,263	0,257	0,256	0,262	0,250	0,242	0,246	0,233	0,249	0,253	0,251
T4 : 20	0,248	0,256	0,263	0,256	0,255	0,261	0,254	0,239	0,249	0,230	0,243	0,244	0,250
T5 : 30	0,248	0,252	0,258	0,255	0,250	0,258	0,246	0,253	0,254	0,244	0,249	0,248	0,251
T6 : 40	0,249	0,257	0,260	0,251	0,250	0,256	0,255	0,257	0,253	0,245	0,251	0,249	0,253
T7 : 50	0,240	0,253	0,257	0,251	0,249	0,258	0,248	0,250	0,255	0,246	0,248	0,253	0,251
T8 : 60	0,252	0,259	0,265	0,258	0,254	0,255	0,259	0,255	0,245	0,251	0,251	0,247	0,254
T9 : 75	0,247	0,250	0,267	0,264	0,259	0,260	0,249	0,250	0,247	0,248	0,254	0,25	0,254

➤ Médicament générique : Peridium

Tableau 35 : Absorbances du principe actif « Dompéridone » libéré au cours du temps dans le milieu pH 1,2 à partir du générique.

A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Moyenne
T1 : 10	0,249	0,240	0,242	0,250	0,240	0,247	0,253	0,265	0,275	0,250	0,239	0,249	0,250
T2 : 15	0,250	0,242	0,248	0,260	0,250	0,246	0,245	0,253	0,269	0,250	0,259	0,236	0,251
T3 : 20	0,256	0,245	0,234	0,260	0,237	0,237	0,25	0,263	0,278	0,260	0,272	0,268	0,255
T4 : 30	0,243	0,244	0,236	0,240	0,243	0,24	0,245	0,254	0,273	0,251	0,258	0,246	0,248
T5 : 40	0,245	0,254	0,246	0,242	0,243	0,248	0,254	0,257	0,264	0,261	0,262	0,261	0,253
T6 : 50	0,249	0,257	0,235	0,256	0,248	0,25	0,248	0,275	0,277	0,256	0,262	0,268	0,257
T7 : 60	0,254	0,251	0,250	0,256	0,249	0,247	0,251	0,252	0,277	0,256	0,269	0,258	0,256
T8 : 75	0,257	0,258	0,246	0,256	0,245	0,252	0,254	0,284	0,277	0,260	0,266	0,298	0,263

– **Deuxième milieu de dissolution : Tampon pH 4,5**

➤ **Médicament princeps : Motilium**

Tableau 36 : Absorbances du principe actif « Dompéridone » libéré au cours du temps dans le milieu pH 4,5 à partir du princeps

A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Moyenne
T2 : 10	0,254	0,253	0,261	0,257	0,253	0,23	0,249	0,235	0,255	0,251	0,252	0,249	0,250
T3 : 15	0,256	0,255	0,267	0,259	0,261	0,254	0,245	0,242	0,255	0,243	0,251	0,235	0,252
T4 : 20	0,254	0,252	0,265	0,259	0,258	0,258	0,244	0,249	0,253	0,25	0,254	0,254	0,254
T5 : 30	0,263	0,257	0,274	0,265	0,265	0,283	0,239	0,254	0,257	0,247	0,252	0,247	0,259
T6 : 40	0,271	0,259	0,268	0,265	0,263	0,263	0,248	0,251	0,253	0,25	0,255	0,245	0,258
T7 : 50	0,261	0,257	0,273	0,265	0,266	0,262	0,245	0,25	0,254	0,251	0,256	0,253	0,258
T8 : 60	0,262	0,263	0,272	0,264	0,266	0,271	0,25	0,254	0,257	0,248	0,259	0,246	0,259
T9 : 75	0,262	0,261	0,27	0,261	0,262	0,263	0,252	0,252	0,256	0,252	0,258	0,256	0,259

➤ **Médicament générique : Peridium**

Tableau 37 : Absorbances du principe actif « Dompéridone » libéré au cours du temps dans le milieu pH 4,5 à partir du générique.

A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Moyenne
T2 : 10	0,239	0,246	0,239	0,256	0,253	0,262	0,237	0,241	0,245	0,262	0,246	0,256	0,249
T3 : 15	0,244	0,261	0,253	0,255	0,264	0,266	0,24	0,251	0,252	0,264	0,249	0,263	0,255
T4 : 20	0,242	0,255	0,252	0,255	0,264	0,272	0,247	0,242	0,25	0,263	0,246	0,281	0,256
T5 : 30	0,251	0,261	0,256	0,259	0,265	0,264	0,246	0,243	0,26	0,268	0,235	0,265	0,256
T6 : 40	0,25	0,276	0,259	0,259	0,263	0,274	0,243	0,335	0,288	0,276	0,253	0,277	0,271
T7 : 50	0,251	0,261	0,257	0,262	0,265	0,273	0,247	0,255	0,272	0,258	0,25	0,263	0,260
T8 : 60	0,251	0,261	0,257	0,26	0,3	0,262	0,248	0,25	0,259	0,261	0,249	0,244	0,259
T9 : 75	0,251	0,258	0,259	0,262	0,261	0,28	0,249	0,247	0,261	0,269	0,252	0,274	0,260

– **Troisième milieu de dissolution : Tampon pH 6,8**

➤ **Médicament princeps : Motilium**

Tableau 38 : Absorbances du principe actif « Dompéridone » libéré au cours du temps dans le milieu pH 6,8 à partir du princeps.

A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Moyenne
T1 : 5	0,006	0,013	0,019	0,023	0,017	0,017	0,004	0,01	0,01	0,01	0,013	0,016	0,013
T2 : 10	0,013	0,02	0,029	0,03	0,03	0,031	0,018	0,02	0,02	0,03	0,029	0,032	0,025
T3 : 15	0,01	0,028	0,036	0,034	0,037	0,037	0,018	0,039	0,04	0,039	0,045	0,036	0,033
T4 : 20	0,01	0,03	0,041	0,038	0,039	0,038	0,012	0,028	0,041	0,039	0,043	0,045	0,034
T5 : 30	0,009	0,032	0,04	0,045	0,045	0,046	0,014	0,037	0,044	0,046	0,048	0,047	0,038
T6 : 40	0,017	0,045	0,047	0,047	0,055	0,049	0,043	0,046	0,046	0,053	0,055	0,056	0,047
T7 : 50	0,021	0,034	0,052	0,057	0,056	0,056	0,017	0,052	0,058	0,049	0,055	0,048	0,046
T8 : 60	0,014	0,042	0,054	0,057	0,056	0,053	0,021	0,048	0,055	0,053	0,058	0,051	0,047
T9 : 75	0,022	0,044	0,059	0,054	0,058	0,058	0,012	0,036	0,052	0,063	0,062	0,055	0,048

➤ **Médicament générique : Peridium**

Tableau 39 : Absorbances du principe actif « Dompéridone » libéré au cours du temps dans le milieu pH 6,8 à partir du générique.

A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Moyenne
T2 : 10	0,064	0,02	0,025	0,03	0,031	0,033	0,011	0,024	0,022	0,034	0,042	0,036	0,031
T3 : 15	0,01	0,022	0,03	0,033	0,038	0,04	0,019	0,021	0,043	0,037	0,042	0,055	0,033
T4 : 20	0,014	0,031	0,039	0,04	0,044	0,045	0,025	0,028	0,039	0,043	0,05	0,056	0,038
T5 : 30	0,014	0,032	0,042	0,044	0,045	0,045	0,019	0,039	0,12	0,09	0,05	0,061	0,050
T6 : 40	0,021	0,032	0,042	0,047	0,05	0,059	0,036	0,064	0,053	0,057	0,072	0,062	0,050
T7 : 50	0,021	0,035	0,047	0,05	0,051	0,053	0,041	0,042	0,065	0,063	0,065	0,051	0,049
T8 : 60	0,014	0,037	0,044	0,049	0,052	0,051	0,015	0,041	0,064	0,055	0,053	0,061	0,045
T9 : 75	0,056	0,051	0,05	0,015	0,054	0,062	0,016	0,044	0,059	0,082	0,065	0,069	0,052

1.3.2. Taux de dissolution calculés dans les différents milieux pour les deux médicaments, générique et princeps

– **Premier milieu de dissolution : Tampon pH 1,2**

Tableau 40 : Informations relatives au « Dompéridone WS » utilisé pour le milieu pH 1,2

Standard	Dompéridone WS
Pureté	99,93 %
Concentration (mg/ml)	0.011
Absorbance	0.257

➤ **Médicament princeps : Motilium**

Tableau 41 : Taux de dissolution du principe actif « Dompéridone» au cours du temps dans le milieu pH 1,2 à partir du princeps

T%	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Moy	σ	CV%
T1 : 0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T2 :10	93,2	97,8	100,5	99,0	97,1	100,5	95,9	97,5	97,8	87,1	96,7	95,5	96,6	3,6	3,8
T3 :15	95,1	99,0	101,3	99,0	98,6	100,9	96,3	93,3	94,8	89,7	95,9	97,4	96,8	3,3	3,4
T4 :20	95,5	98,6	101,3	98,6	98,2	100,6	97,8	92,2	95,9	88,6	93,7	94,1	96,3	3,7	3,8
T5 :30	95,5	97,2	99,5	98,3	96,4	99,5	94,9	97,4	97,8	93,8	95,9	95,6	96,8	1,8	1,8
T6 :40	95,9	99,0	100,3	96,9	96,4	98,8	98,2	98,9	97,5	94,2	96,7	96,0	97,4	1,7	1,7
T7 :50	92,7	97,6	99,2	97,0	96,1	99,5	95,7	96,4	98,3	94,7	95,7	97,5	96,7	1,9	2,0
T8 :60	97,1	99,9	102,2	99,5	98,0	98,5	99,7	98,3	94,7	96,5	96,8	95,4	98,1	2,1	2,2
T9 :75	95,4	96,7	103,0	101,8	99,8	100,4	96,3	96,6	95,5	95,5	98,0	96,5	98,0	2,6	2,8

➤ **Médicament générique : Peridium**

Tableau 42 : Taux de dissolution du principe actif « Dompéridone» au cours du temps dans le milieu pH 1,2 à partir du générique

T%	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Moy	σ	CV%
T1 : 0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T2 : 10	95,9	92,5	93,2	96,3	92,5	95,1	97,5	102,1	105,9	96,3	92,1	95,9	96,3	3,9	4,3
T3 : 15	96,3	93,2	95,5	100,1	96,3	94,8	94,4	97,5	103,6	97,4	99,7	91,0	96,7	3,2	3,5
T4 : 20	98,6	94,4	90,2	100,1	91,4	91,4	96,3	101,3	107,1	100,1	104,6	103,0	98,2	5,3	5,7
T5 : 30	93,8	94,0	91,0	92,7	93,6	92,5	94,5	98,0	105,2	96,8	99,4	94,9	95,5	3,7	4,1
T6 : 40	94,5	97,7	94,7	93,5	93,7	95,5	97,8	99,1	101,9	100,5	100,9	100,4	97,5	2,9	3,2
T7 : 50	96,0	98,9	90,8	98,6	95,5	96,3	95,7	105,7	106,7	98,7	101,0	103,0	98,9	4,4	4,7
T8 : 60	97,9	96,8	96,2	98,7	96,0	95,3	96,8	97,5	106,8	98,8	103,5	99,5	98,6	3,2	3,4
T9 : 75	99,0	99,3	94,9	98,8	94,6	97,1	98,0	109,0	106,9	100,3	102,6	113,8	101,2	5,6	6,1

– **Deuxième milieu de dissolution : Tampon pH 4,5**

Tableau 43 : Informations relatives au « Dompéridone WS » utilisé pour le milieu pH 4.5

Standard	Dompéridone WS
Pureté	99.93
Concentration (mg/ml)	0,011
Absorbance	0.2605

➤ **Médicament princeps : Motilium**

Tableau 44 : Taux de dissolution du principe actif « Dompéridone » au cours du temps dans le milieu pH 4,5 à partir du princeps

T%	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Moy	σ	CV%
T1 : 0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T2 : 10	96,5	96,1	99,2	97,7	96,1	87,4	94,6	89,3	96,9	95,4	95,8	94,6	95,0	3,4	3,5
T3 : 15	97,3	96,9	101,4	98,4	99,2	96,4	93,1	91,9	96,9	92,4	95,4	89,4	95,7	3,4	3,6
T4 : 20	96,6	95,8	100,7	98,4	98,1	97,9	92,8	94,6	96,2	95,0	96,5	96,4	96,6	2,1	2,1
T5 : 30	99,9	97,7	104,0	100,7	100,6	107,1	91,0	96,4	97,7	93,9	95,8	93,9	98,2	4,6	4,7
T6 : 40	102,8	98,4	101,9	100,7	100,0	98,7	94,3	95,4	96,3	95,0	96,9	93,2	97,8	3,1	3,3
T7 : 50	99,3	97,8	103,8	100,8	101,1	98,4	92,1	95,0	96,7	95,5	97,3	96,1	97,8	3,1	3,1
T8 : 60	99,7	99,9	103,5	100,5	101,2	101,6	94,0	96,5	97,8	94,5	98,5	93,7	98,4	3,2	3,3
T9 : 75	99,8	99,3	102,8	99,5	98,6	98,9	94,7	95,9	97,5	95,9	98,2	97,3	98,2	2,2	2,1

➤ **Médicament générique : Peridium**

Tableau 45 : Taux de dissolution du principe actif « Dompéridone » au cours du temps dans le milieu pH 4,5 à partir du générique.

T%	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Moy	σ	CV%
T1 : 0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T2 : 10	90,8	93,5	90,8	97,3	96,1	99,6	90,1	91,6	93,1	99,6	93,5	97,3	94,4	3,4	3,6
T3 : 15	92,7	99,1	96,1	96,9	100,3	101,1	91,2	95,3	95,7	100,3	94,6	99,9	96,9	3,2	3,3
T4 : 20	92,0	96,9	95,7	96,9	100,3	103,3	93,8	92,0	95,0	100,0	93,5	106,6	97,2	4,6	4,7
T5 : 30	95,3	99,1	97,2	98,4	100,7	100,4	93,5	92,4	98,7	101,8	89,5	100,8	97,3	3,9	4,0
T6 : 40	95,0	104,6	98,3	98,5	100,0	104,1	92,4	125,9	108,9	104,8	96,1	105,2	102,8	8,8	8,9
T7 : 50	95,4	99,3	97,7	99,6	100,8	103,8	93,9	97,2	103,2	98,4	95,0	100,2	98,7	3,1	3,2
T8 : 60	95,4	99,4	97,7	98,9	113,3	99,9	94,3	95,5	98,7	99,5	94,7	93,5	98,4	5,2	5,6
T9 : 75	95,5	98,4	98,5	99,7	99,7	106,3	94,7	94,5	99,5	102,4	95,9	104,1	99,1	3,7	3,9

– **Troisième milieu de dissolution : Tampon pH 6.8**

Tableau 46 : Informations relatives au « Dompéridone WS » utilisé pour le milieu pH 6,8

Standard	Dompéridone WS
Pureté (%)	99.93
Concentration (mg/ml)	0,011
Absorbance	0.1845

➤ **Médicament princeps : Motilium**

Tableau 47 : Taux de dissolution du principe actif « Dompéridone» au cours du temps dans le milieu pH 6,8 à partir du princeps

T%	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Moy	σ	CV%
T1 : 0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T2 : 10	7,0	10,7	15,6	16,1	16,1	16,6	9,7	10,7	10,7	16,1	15,6	17,2	13,5	3,5	25,7
T3 : 15	5,4	15,0	19,1	18,2	19,8	19,8	9,7	20,8	21,3	20,9	24,1	19,3	17,8	5,3	30,0
T4 : 20	5,4	16,0	21,7	20,3	20,9	20,3	6,5	15,0	21,9	20,9	23,0	24,0	18,0	6,2	34,6
T5 : 30	4,9	17,1	21,1	24,0	24,0	24,5	7,6	19,7	23,4	24,5	25,6	25,1	20,1	7,0	34,8
T6 : 40	9,0	23,7	24,7	25,0	29,1	26,0	22,4	24,3	24,5	28,1	29,2	29,7	24,6	5,5	22,1
T7 : 50	11,0	18,2	27,2	30,1	29,6	29,6	9,3	27,4	30,6	26,1	29,2	25,6	24,5	7,5	30,9
T8 : 60	7,5	22,2	28,5	30,1	29,6	28,1	11,3	25,4	29,1	28,1	30,7	27,2	24,8	7,6	30,8
T9 : 75	11,5	23,2	31,0	28,6	30,7	30,3	6,8	19,5	27,6	33,1	33,3	29,2	25,4	8,6	34,3

➤ **Médicament générique: Peridium**

Tableau 48 : Taux de dissolution du principe actif « Dompéridone» au cours du temps dans le milieu pH 6,8 à partir du générique

T%	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Moy	σ	CV%
T1 : 0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T2 : 10	34,3	10,7	13,4	16,1	16,6	17,7	5,9	12,9	11,8	18,2	22,5	19,3	16,6	7,1	42,8
T3 : 15	5,7	11,8	16,1	17,7	20,3	21,4	10,1	11,3	22,9	19,8	22,5	29,4	17,4	6,7	38,8
T4 : 20	7,8	16,5	20,6	21,4	23,5	24,0	13,3	15,0	20,9	23,0	26,7	29,9	20,2	6,1	30,6
T5 : 30	7,8	17,0	22,0	23,4	24,0	24,1	10,2	20,7	62,9	47,4	26,7	32,5	26,6	15,3	58,6
T6 : 40	11,4	17,0	21,8	25,0	26,6	31,4	18,9	33,5	28,5	30,5	38,0	33,0	26,3	7,8	29,8
T7 : 50	11,4	18,6	24,1	26,3	27,1	28,3	21,3	22,4	34,6	33,5	34,5	27,5	25,8	6,9	26,5
T8 : 60	7,9	19,6	22,3	26,0	10,9	27,4	8,3	21,9	34,1	30,0	28,5	32,9	22,5	9,2	35,9
T9 : 75	28,7	26,5	25,0	9,2	28,4	32,8	8,8	23,4	31,7	43,4	34,5	36,9	27,4	10,2	37,9

1.3.3. Profils de dissolution comparatifs obtenus dans les trois milieux de dissolution

– **Premier milieu de dissolution : Tampon pH 1,2**

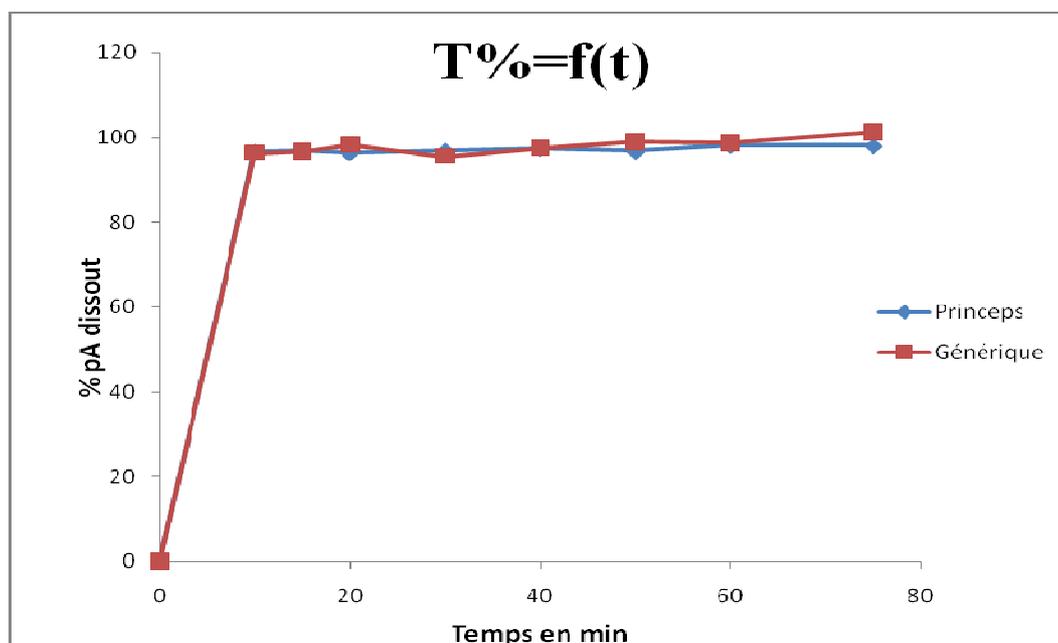


Figure 10 : Profil de dissolution pour le médicament principes et le générique dans un milieu acide pH=1,2

– Deuxième milieu de dissolution : Tampon pH 4,5

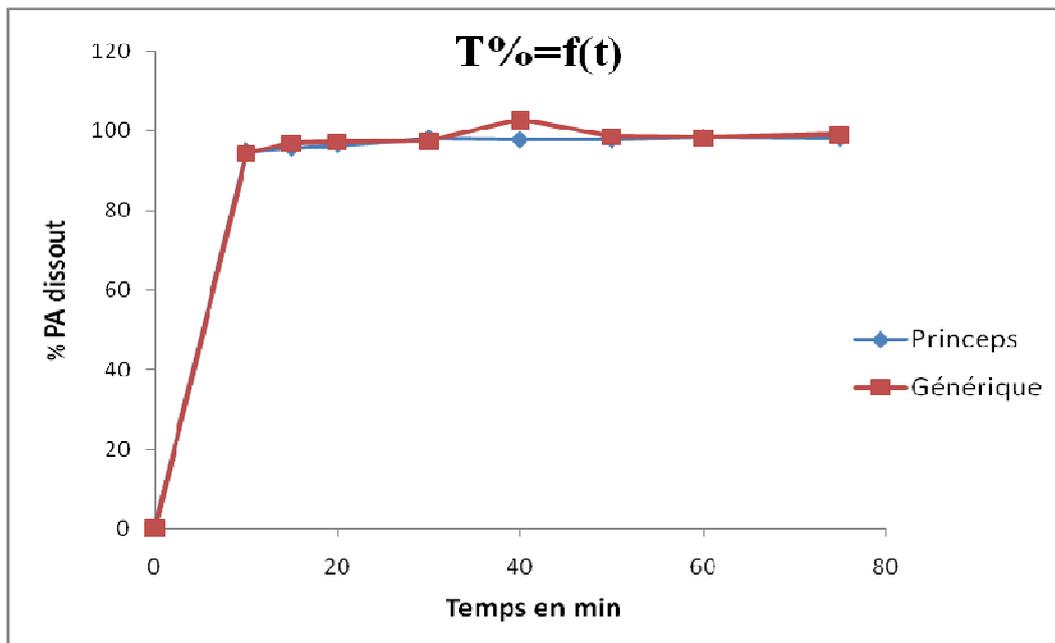


Figure 11 : Profil de dissolution pour le médicament princeps et le générique dans un milieu acétate pH=4,5

– Troisième milieu de dissolution : Tampon pH 6,8

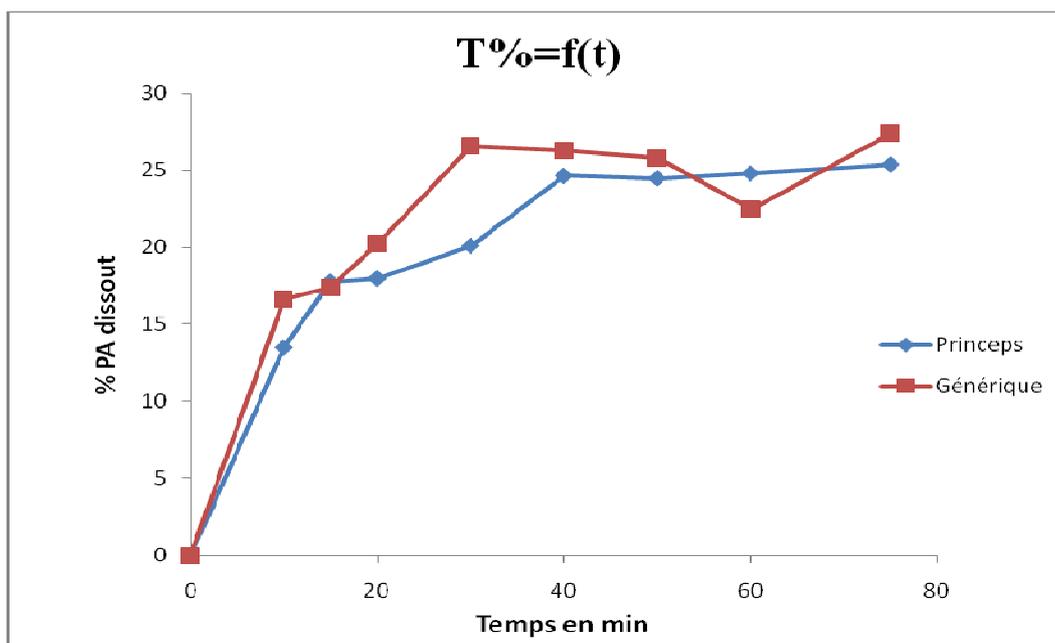


Figure 12 : Profil de dissolution pour le médicament princeps et le générique dans un milieu phosphate pH=6,8

1.3.3 Calcul des paramètres d'évaluation des profils de dissolution

Tableau 49 : Valeurs des facteurs de similarité (F_2) et de différence (F_1) dans les trois milieux de dissolution.

Milieu de dissolution	F_1 (%)	F_2 (%)
pH=1.2	1,26	85,93
pH=4.5	1,29	83,20
pH=6.8	11,56	77,04

1.3.4. Discussion

Les courbes de dissolution dans les milieux pH 1,2 et 4,5 montrent une dissolution très rapide dans un premier temps. Pendant les 10 premières minutes, le pourcentage de dissolution est très élevé, puisque plus de 90 % du principe actif initialement présent dans le comprimé se dissout dans ce laps de temps. Les courbes s'infléchissent en suite en plateau car la quasi-totalité du principe actif est dissoute. Pour le milieu 6,8 la courbe prend une allure différente : La dissolution est faible et se poursuit lentement tout au long de l'essai mais le plateau de dissolution n'est pas atteint. En effet les particules obtenues après désagrégation du comprimé ne se dispersent pas mais restent rassemblées sous forme d'un cône au fond du récipient car le milieu est défavorable à la dissolution de Dompéridone.

Les facteurs de différence F_1 et de similarité F_2 respectivement dans les différents milieux :

- Le milieu tampon pH=1,2 : 1,26% et 85,93%
- Le milieu tampon pH=4,5 : 1,29% et 83,20%
- Le milieu tampon pH=6,8 : 11,56% et 77,04%

Dans le milieu tampon acide et milieu tampon acétate les valeurs de F_2 sont comprises entre 50 et 100% ainsi que celles de F_1 sont inférieures à 10%, donc les profils sont similaires et ne présentent pas de différence.

Dans le milieu tampon phosphate, le facteur de différence F_1 est hors spécification alors que le facteur de similarité F_2 reste dans les normes.

Les coefficients de variation sont illustrés dans les tableaux 41, 42, 44, 45, 47 et 48.

Etant donné que le CV est inférieur à 20 % pour les premiers points et inférieur à 10% pour les autres points, donc on déduit, qu'il existe une corrélation entre les deux produits.

1.4. Conclusion

La détermination du facteur de similarité F_2 utilisé pour la comparaison des profils de cinétique de dissolution nous a permis de comparer les profils de dissolution dans différents milieux deux à deux, en effet cet indicateur permet de juger de la similarité des profils de dissolution entre le princeps et le générique pour les trois milieux de dissolution.

La cinétique de dissolution nous permet donc de conclure à l'interchangeabilité du médicament générique Peridium à celui du médicament princeps Motilium.

2. Tests physico-chimiques et pharmacotechniques.

Les différents essais physico-chimiques effectués sont résumés dans le tableau qui suit :

Tableau 50 : Essais physico-chimiques et pharmacotechniques

Spécifications	Contrôle	Critères d'acceptation
Aspect	A réalisé sur un échantillon de 50 comprimés	Comprimés rond sécables de couleur blanche (Peridium)
Masse moyenne	Peser 20 comprimés à la fois puis déterminer le poids moyen	[92.5-107.5] mg
Uniformité de masse	20 comprimés sont pesés individuellement	18 comprimés à $\pm 7.5\%$ de la masse moyenne 02 comprimés à $\pm 15\%$ de la masse moyenne
Dureté	A effectuer sur 10 comprimés consécutifs	2 à 5 Kp
Epaisseur	A effectuer sur 10 comprimés consécutifs	2.1 à 2.4 mm
Friabilité	A effectuer sur 20 comprimés consécutifs	$\leq 1\%$ Si la perte du poids dépasse 1% ou y'aura des comprimés cassés, Refaire le test trois fois et calculer la moyenne.
Désintégration	A effectuer sur 06 comprimés	$\leq 15mn$
Dosage	Le protocole expérimental est détaillé ci-dessous	[9-11] mg /comprimé [90-110] %

Dosage

Préparation des solutions

Solution standard

Peser environ 20.0 mg de Dompéridone WS dans une fiole de 100 ml, les dilués dans l'alcool isopropylique, agiter jusqu'à dissolution compléter au volume.

Diluer 1ml de la solution standard dans 10 ml d'alcool isopropylique.

Solution essai

Broyer 10 comprimés en fine poudre et peser l'équivalent de 20 mg de principe actif (Dompéridone), les transférés dans une fiole de 100 ml, agiter jusqu'à dissolution durant 30 minutes, compléter au trait de jauge avec l'alcool isopropylique filtrer avec un filtre à seringue de porosité 0.45µm

Diluer au dixième (1/10)

Lire, au maximum d'absorption 288 nm, les absorbances des solutions.

Utiliser l'alcool isopropylique comme blanc

• Calcul

$$T = \frac{A_{ech} \times P_{e_{std}} \times D_{ech} \times P_m}{A_{std} \times P_{e_{ech}} \times D_{std} \times m_0} \times T \%$$

A_{ech} : Absorbance échantillon

A_{std} : Absorbance du standard

$P_{e_{std}}$: Pesé du standard

$P_{e_{ech}}$: Pesé de l'échantillon

D_{ech} : Dilution de l'échantillon

D_{std} : Dilution du standard

P_m : Poids moyen

m_0 : Quantité déclarée

T : Pourcentage de pureté du standard

2.1. Résultats des différents tests physico-chimiques et pharmacotechniques effectués sur le princeps et le générique

Les résultats des différents tests physico-chimiques et pharmacotechniques effectués sur le princeps et le générique sont regroupés dans les tableaux 51, 52, 53, 54 et 55.

Tableau 51: Résultats des tests : Aspect, masse moyenne et de temps de désintégration

Spécifications	Peridium	Motilium
Aspect	Comprimés ronds, plats et sécables de couleur blanche	Comprimés ronds, bombés et pelliculés de couleur blanche
Masse moyenne (mg)	97,47	104,58
Temps de désintégration	2,50	5,38

Tableau 52 : Résultat du test de l'uniformité de masse

N° comprimé	Peridium (mg)	Motilium (mg)	N° comprimé	Peridium (mg)	Motilium (mg)
1	95,5	106,9	11	98,0	102,7
2	98,3	105,3	12	100,5	105,5
3	103,0	104,6	13	96,0	103,8
4	98,7	104,3	14	102,8	102,3
5	99,7	105,3	15	93,2	104,5
6	98,9	105,7	16	97,7	103,2
7	96,3	102,2	17	98,1	104,9
8	98,1	107,2	18	95,1	104,1
9	96,0	105,7	19	97,2	105,5
10	93,0	102,5	20	96,1	104,3

Tableau 53 : Résultat du test de la dureté

Comprimé N°	Peridium			Motilium		
	Epaisseur	Diamètre	Dureté	Epaisseur	Diamètre	Dureté
1	2,12	6,57	2,3	2,75	6,56	5,0
2	2,02	6,57	3,0	2,84	6,58	6,5
3	2,34	6,57	3,1	2,71	6,56	5,4
4	2,11	6,57	2,3	2,77	6,56	5,3
5	2,07	6,58	2,6	2,75	6,56	5,4
6	2,05	6,56	2,5	2,83	6,56	5,5
7	2,10	6,56	2,5	2,81	6,57	6,0
8	2,08	6,56	2,7	2,77	6,55	5,2
9	2,10	6,56	2,7	2,80	6,58	5,8
10	2,05	6,58	2,1	2,79	6,57	6,1
Moyenne	2,10	6,57	2,58	2,78	6,57	5,62

Tableau 54 : Résultats du test de la Friabilité

	Essais 1	Essai 2	Essai 3	% perte de poids		
Peridium	$m_0 = 1949,4 \text{ mg}$	$m_0 = 2000,3 \text{ mg}$	$m_0 = 1966,3 \text{ mg}$	0,056	0,270	0,061
	$m_f = 1948,3 \text{ mg}$	$m_f = 1994,9 \text{ mg}$	$m_f = 1965,1 \text{ mg}$	0,129		
Motilium	$m_0 = 2091,6 \text{ mg}$			0,014		
	$m_f = 2091,3 \text{ mg}$					

Tableau 55 : Résultat du test de dosage

Solution	A	Teneur	A	Teneur
STD	0,590	93,151	0,590	98,406
Echantillon (Cp)	0,550		0,581	

2.2. Discussion

- Les deux comprimés sont blancs et ronds mais le comprimé de Peridium est plat et comporte une ligne de sécabilité par contre Motilium est bombé et pelliculé avec une prescription du nom du laboratoire « JANSSEN » sur une face et sur l'autre la lettre M suivie du dosage ;
- La masse moyenne n'est pas significativement différente ;
- Le temps de délitement du générique montre une grande rapidité à la désintégration par rapport au princeps, cela peut être expliqué du fait que Motilium est pelliculé ce qui lui confère une résistance à l'eau et donc une prolongation du temps de désintégration ;
- Les différents comprimés présentent des masses de valeurs voisines, et aucun comprimé ne s'écarte des limites spécifiées ;
- La valeur de la dureté de Peridium est inférieure à celle de Motilium et s'est dû aux formulations des deux spécialités qui diffèrent.
- Le diamètre des deux spécialités s'est avéré identique par contre Motilium est plus épais et cela revient à leurs aspects déjà expliqué ci-dessus ;
- Durant le test de friabilité de Peridium nous avons observé qu'un comprimé s'est cassé, et pour valider ce teste il faut refaire le test deux autre fois, le calcul de la moyenne des trois essais montre que la perte de poids est dans la norme, mais légèrement supérieur à celle du princeps, la cause revient au fait qu'il est moins dur ;
- La teneur de Dompéridone par comprimé pour les deux spécialités n'est pas significativement différente.

2.3. Conclusion

Les tests physico-chimiques est pharmacotechniques effectués sur le produit fini Peridium répondent aux exigences fixées, ce qui démontre sa conformité.

L'étude comparative des deux spécialités laisse des différences non significatives entre les deux produits.

L'étude comparative de dissolution in vitro est utile pour démontrer l'équivalence du médicament générique « Peridium » avec son médicament de référence « Motilium ».

La cinétique de dissolution est effectuée dans des milieux de dissolution pertinents du point de vue physiologique, à condition d'employer une méthode d'analyse correctement validée assurant des données analytiques fiables.

Le présent travail a été réalisé au niveau de laboratoire de contrôle qualité de l'entreprise pharmaceutique nationale GenericLab, deux objectifs ont été fixés. La validation de la méthode de dosage de Dompéridone par spectrophotométrie dans l'Ultraviolet et son application en vue d'une étude comparative des profils de dissolution d'un médicament générique Peridium[®] et de son princeps Motilium[®] comprimés à 10 mg.

A l'issue de ces études ;

- L'évaluation des critères de validation analytique de la méthode a démontré :
 - Spécificité de la méthode avec absence d'interférence de la matrice du médicament ;
 - Linéarité de la méthode dans un intervalle de concentration de [8,8 – 13,2] µg/ml (soit 80% à 120% de la concentration théorique 11 µg/ml) avec des coefficients de corrélation satisfaisants de 0,992 (linéarité du principe actif seul) et de 0,994 (linéarité de la forme pharmaceutique reconstituée). Les tests statistiques recommandés par la commission SFSTP ont été évalués avec succès.
 - Exactitude de la méthode avec un recouvrement moyen de 99,8% et un intervalle de confiance de 98,9% à 100,6% au risque 5%
 - Fidélité de la méthode avec des coefficients de variation de répétabilité, de fidélité intermédiaire et de variation totale sont respectivement 0,23% et 0,05% et coefficient 0,24%.

Ces résultats démontrent que la méthode est adaptée à son emploi analytique, donc elle peut être utilisée pour l'étude de la cinétique de dissolution de Dompéridone.

- L'étude de la cinétique de dissolution a révélé des profils de dissolution identiques des deux médicaments, la dissolution est très rapide dans les milieux 1,2 et 4,5, les courbes s'infléchissent ensuite en plateau, les facteurs de similarité et de différence obtenus sont respectivement 85,93% et 1,26% pour le milieu de dissolution pH 1,2 et de 83,20% et 1,29% pour le milieu de dissolution pH 4,5.

Conclusion générale

En revanche, dans le milieu de dissolution 6,8 la dissolution est nettement plus lente sans autant parvenir au plateau de dissolution maximale, alors que le facteur de similarité F_2 répond à son critère d'acceptation.

Le coefficient de similarité dans les trois milieux de dissolution est conforme aux critères d'acceptation.

Les tests physico-chimiques et pharmacotechniques effectués pour le produit fini Peridium répondent aux exigences de qualité, ce qui démontre la conformité du médicament générique Peridium.

L'étude comparative des deux spécialités conclue des différences non significatives entre le médicament générique Peridium fabriqué par le laboratoire GenericLab et son princeps Motilium, donc à l'interchangeabilité des deux spécialités pharmaceutiques.

Références Bibliographiques

- (1) : ALAIN LE HIR. Pharmacie galénique : Bonnes pratiques de fabrication des médicaments. 8^e édition. Paris : Elsevier Masson S.A.S, 2006. 401 p.
- (2) : Article L 5121-1 (17) du Code de la Santé Publique (CSP)
- (3) : Assurance qualité des produits pharmaceutiques. Recueil de directives et autres documents. Volume 1. Organisation mondiale de la Santé Genève 1998. 278p. ISBN 92 4 254504X
- (4) : Christophe ABELLI. Génériques humanitaires : Intérêts et limites des cinétiques de dissolution dans le contrôle qualité des gélules application à la tétracycline et à l'indométacine. 1996. Thèse de doctorat, Clermont : Université de Clermont I.132 p.
- (5) : Djamila ABBAS. Synthèse, étude physico-chimique et préformulation d'un dérivé pyrido[3,2g]quinoleine triméthyle.2010. Thèse de doctorat, Marseille : Université de la méditerrané Aix-Marseille II. 207 p.
- (6) : Documents de docteur M.MAMOU : Cours de validation analytique et de spectrophotométrie moléculaire d'absorption dans l'ultraviolet.
- (7) : Document interne à GenericLab: Historique de l'entreprise
- (8) : Document interne à GenericLab : Dossier technique de Dompéridone
- (9) : Francis Rouessac , Annick Rouessac avec la collaboration de Daniel Cruché. Analyse chimique : Méthodes et techniques instrumentales modernes. 6e édition. Dunod, 2004.481p.
- (10) : ICH : Directive tripartite harmonisé : Texte concernant la validation des méthodes d'analyse (1992)
- (11): J.Caporal- Gautier, J.M.Nivet, P.Aigranti, M.Guilloteau, M.Histe, M.Lallier, J.J.N'Guyen-Huu et R.Russotto. Guide de validation analytique. Rapport d'une commission SFSTP I : Méthodologie ; 205-226-1992
- (12) : J.DESCHAMPS. Qualification des sources d'approvisionnement en médicament essentiel générique. Application aux pays en développement. 2005. Thèse de doctorat, Lyon : Universite Claude Bernard-Lyon I. 185 p.
- (13) : Norme Afnor V 03-100
- (14) : Norme ISO/CEI 17025
- (15) : Pharmacopée européenne 6.0. (2007)

(16) : Pharmacopée Européenne 7.0. (2011)

(17) : Rapport de l'Académie nationale de Pharmacie. Médicaments génériques. 2012

(18) : Rapport du laboratoire national de contrôle des produits pharmaceutiques (LNCPP).
Cinétique de dissolution. 2011.

(19) : United pharmacopoeia states (2007)

1. Lexique

Ce lexique donne les principales définitions des termes utilisés pour la rédaction de ce présent manuscrit et dont la connaissance est utile.

Absorption

Le principe actif dissout traverse les membranes biologiques du site d'absorption pour pénétrer dans la circulation sanguine.

Agoniste

Molécule douée d'affinité et d'efficacité pour un récepteur donné.

Antagoniste

Substance susceptible d'empêcher ou de diminuer un effet pharmacodynamique provoqué par un agoniste.

Autorisation de mise sur le marché (AMM)

Acte administratif permettant la commercialisation d'une spécialité pharmaceutique et en fixant les conditions.

Benzimidazoles

Le benzimidazole est un composé hétérocyclique aromatique résultant de la fusion d'un cycle de benzène et d'un cycle imidazole. Les composés partageant cette structure sont appelés benzimidazoles.

Biais

Différence entre l'espérance de résultats d'essai et une valeur acceptée comme référence.

Blanc

Essai réalisé en l'absence de matrice (blanc réactif) ou sur une matrice qui ne contient pas l'analyte (blanc matrice).

Blisters

Conditionnement primaire en plastique et aluminium thermosoudés, contenant des unités de prise dans des alvéoles séparées.

Bonnes pratiques de fabrication (BPF)

Ensemble de règles et de procédures devant être respectées lors de la fabrication d'un médicament.

Brevet du médicament

Il s'agit d'un titre délivré par les pouvoirs publics permettant à l'inventeur de prétendre au monopole d'exploitation de son invention pendant une certaine durée, généralement fixée à 20 ans, avec une prolongation possible de la période d'exclusivité de 5 ans (Certificat Complémentaire de Protection).

Comprimés

Les comprimés sont des préparations solides contenant une unité de prise d'un ou de plusieurs principes actifs. Ils sont obtenus en agglomérant par compression un volume constant de particules.

Dans la plupart des cas, ils sont destinés à être absorbés tels quels, par voie orale, néanmoins certains d'entre eux doivent être préalablement dissous dans l'eau (comprimés dispersibles) ou bien séjourner dans la cavité buccale en vue d'y exercer une action locale ou de permettre, entre autre, l'absorption directe du médicament.

Dénomination commune

Appellation abrégée en un seul mot d'un principe actif chimique. Elle se substitue au nom chimique descriptif, long et complexe, et est la seule utilisée dans le langage courant. Elle comporte un suffixe commun pour chaque famille chimique ou pharmacologique. Elle est officialisée par l'OMS et prend alors le nom de « dénomination commune internationale » ou « DCI ».

Dopamine

Est un neurotransmetteur appartenant aux catécholamines, issu de l'acide aminé tyrosine. Dans le système nerveux central, elle active les récepteurs dopaminergiques post synaptiques.

Effet matrice

L'effet matrice produit une source d'erreur répétable pour un échantillon donné, mais aléatoire d'un échantillon à l'autre. Cette erreur est liée à l'interaction des composés présents dans le produit à analyser sur le mesurage de l'analyte recherché. L'effet matrice se manifeste dans les méthodes présentant un signal non spécifique.

Equivalence pharmaceutique

Des médicaments sont pharmaceutiquement équivalents s'ils contiennent la même quantité du ou des même principe(s) actif(s) sous la même forme galéniques, s'ils satisfont a des normes identique ou comparable et s'ils sont destiner à être administré par la même voie.

Toutefois l'équivalencen'implique pas nécessairement l'équivalence thérapeutique, car des différences dans les excipients et/ou dans le procéder de fabrication peuvent entrainer des différences de comportement du produit

Equivalence thérapeutique

Deux médicaments sont thérapeutiquement équivalents s'il son pharmaceutiquement équivalents et si les résultats d'études appropriées (études de bioéquivalence, études pharmacodynamique, cliniques ou in vitro) montrent qu'après administration de la même dose molaire, leurs effets, tant en ce qui concerne l'efficacité que la sécurité seront essentiellement les mêmes

Essais cliniques

Recherche à caractère expérimental suivant un protocole défini préalablement comportant, l'administration à l'homme de médicaments, dans le but d'en évaluer l'efficacité et la sécurité ou encore d'en étudier la pharmacocinétique et la pharmacodynamie. Ces essais constituent le développement clinique. On distingue trois phases dans les essais cliniques, I, II et III.

Excipient

Un excipient est une substance neutre visant à faciliter la prise du médicament, sa conservation et son absorption. C'est la partie variant réellement entre un générique et le médicament princeps

Excipient à effet notoire

« Un excipient dont la présence peut nécessiter des précautions d'emploi pour certaines catégories particulières de patients ».

Forme pharmaceutique reconstituée

Un mélange de tous les composants correspondant qualitativement et quantitativement à la forme pharmaceutique à étudier, excepté la substance à tester qui sera ajoutée en quantité variable suivant le critère étudié

Logiciel ORIGIN 6.0

Origin 0.6 est un programme informatique exclusif pour la représentation graphique scientifique interactive et l'analyse des données. Elle est produite par OriginLab Corporation, et fonctionne sur Microsoft Windows.

Les analyses des données dans Origin inclus des statistiques, traitement du signal, ajustement de courbe et d'analyse de pointe.

Origin importe des fichiers de données dans différents formats tels que du texte ASCII, Excel, Il exporte également le graphique pour différents formats de fichiers image tel que JPEG.

Loi de Fisher

Découverte en 1925 par Ronald Aymler Fisher (1890-1962), la loi de Fisher est une loi d'échantillonnage. Le symbole F a été donné par Snedecor à la variable de Fisher en 1934. Elle trouve son application dans les tests de comparaison de variances et dans des tests associés à l'analyse de la variance et à la régression simple et multiple.

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

Médicament

Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines, ainsi que tout produit administré à l'homme en vue d'établir un diagnostic médical, de restaurer, corriger ou modifier ses fonctions organiques.

Métabolites

Substances résultant de la transformation (du métabolisme) subie par le principe actif dans l'organisme. Un même principe actif peut donner naissance à plusieurs métabolites et ceux-ci à une cascade de métabolites

Pipéridines

La pipéridine ou hexahydroazine est un composé organique de formule brute $C_5H_{11}N$. Elle a des propriétés de base faible et est souvent utilisée comme solvant en synthèse organique.

La pipéridine est un motif structural présent dans de nombreux alcaloïdes comme la pipérine ou la quinine, et c'est le principe actif du poivre, dont elle tire son nom.

Pharmacopée

Recueil de mises à jour périodiques, prévu par le code de la santé publique, auparavant dénommé « Codex », rédigé par la « Commission Nationale de la Pharmacopée » sous l'autorité du ministre chargé de la santé. Ce recueil contient la nomenclature des drogues, des médicaments simples et composés, des articles officinaux, une liste des dénominations communes, les tableaux de posologie usuelles et maximales, les caractères des médicaments, les moyens permettant de les identifier, les méthodes de contrôle, les procédés de préparation, de stérilisation et de conservation, les règles de conditionnement, les principales incompatibilités ainsi que des renseignements pouvant être utiles au pharmacien pour sa pratique.

Placebo

Préparation absolument semblable à un médicament, sauf qu'il est dépourvu de principe actif.

Point de fusion

Le point de fusion ou la température de fusion d'un corps représente la température à une pression donnée, à laquelle un élément pur ou un composé chimique passe de l'état solide à l'état liquide.

Principe actif :

Substance active, d'un médicament est chacun des composants de ce médicament qui possède un effet thérapeutique. Cette substance est souvent en très faible proportion dans le médicament par rapport aux excipients.

Protocole

Document descriptif et normatif planifiant intégralement dans le détail un essai ou une étude avant sa mise en œuvre.

Salles blanches

Selon la norme ISO 14644-1 : Une salle blanche est une pièce ou une série de pièces où la concentration particulaire est maîtrisée afin de minimiser l'introduction, la génération, la rétention de particules à l'intérieur, généralement dans un but spécifique industriel ou de recherche. Les paramètres tels que la température, l'humidité et la pression relative sont également maintenus à un niveau précis

Spécialité pharmaceutique

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

Temps de latence

Temps nécessaire pour atteindre la concentration efficace.

Test de Cochran

Le test de Cochran a pour objet la vérification de l'homogénéité des variances concernant plusieurs populations.

Test de Student t

Les tests de Student sont utilisés dans le cadre des tests relatifs à la moyenne des échantillons de petite taille. Dans le cas où les échantillons sont de grande taille ($n > 30$), on utilise souvent des approximations par des lois normales.

Vomissement :

Est une vidange de l'estomac dirigée en sens inverse.

2. Définition de quelques paramètres statistiques

1. Coefficient de corrélation

Quotient de la covariance de deux caractères par le produit de leurs écarts types.

2. Coefficient de variation

Pour un caractère positif, il s'exprime par le rapport de l'écart type à la moyenne. Dans la plupart des cas, il est donné en pourcentage.

3. Ecart type

L'écart type se définit comme étant la racine carré de la variance.

4. Ordonnée à l'origine

Endroit où la droite d'un graphique coupe l'axe des ordonnés.

5. Pente

Angle que fait une droite sur un graphe par rapport à l'horizontale. Il est exprimé sous forme d'un rapport entre les valeurs de Y et celle de X.

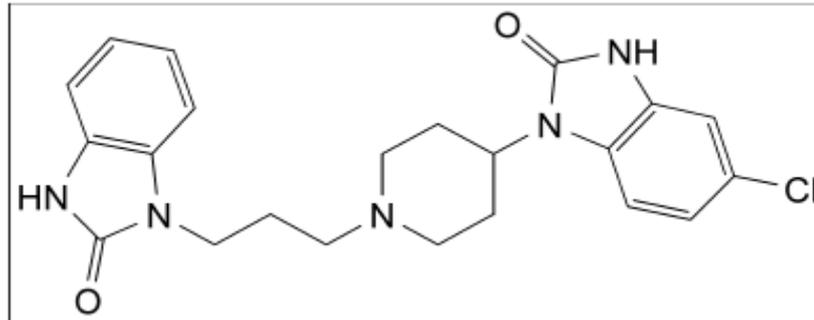
6. Risque α

Probabilité de rejeter une hypothèse vraie à l'issue d'un test statistique.

7. Variance

La variance est un paramètre statistique mesurant la dispersion des individus autour de la moyenne.

3. Monographie de Dompéridone



$C_{22}H_{24}ClN_5O_2$ Mr 425,9 (g/mol)

Définition

5-Chloro-1-[1-[3-(2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-benzimidazol-1-yl)propyl]pipéridin-4-yl]-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-one.

Teneur : 99,0 pour cent à 101,0 pour cent (substance desséchée).

Caractères

Aspect : Poudre blanche ou sensiblement blanche.

Solubilité : Pratiquement insoluble dans l'eau, soluble dans le diméthylformamide, peu soluble dans l'éthanol à 96 pour cent et dans le méthanol.

Identification

Première identification : A, B.

Seconde identification : A, C, D.

A. Point de fusion: 244 °C à 248 °C.

B. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge.

Préparation : Pastilles.

Comparaison : Dompéridone SCR

C. Chromatographie sur couche mince

Solution à examiner : Dissolvez 20 mg de Dompéridone dans du méthanol R et complétez à 10 ml avec le même solvant.

Solution témoin (a) : Dissolvez 20 mg de Dompéridone SCR dans du méthanol R et complétez à 10 ml avec le même solvant.

Solution témoin (b) : Dissolvez 20 mg de Dompéridone SCR et 20 mg de Dropéridol SCR dans du méthanol R et complétez à 10 ml avec le même solvant.

Plaque : Plaque au gel de silice octadécylsilylé pour CCM R.

Phase mobile : Solution d'acétate d'ammonium R, dioxane R, méthanol R (20:40:40 V/V/V). Dépot : 5 µl.

Développement : Sur un parcours de 15 cm.

Séchage : Dans un courant d'air chaud pendant 15 min.

Détection : Exposez aux vapeurs d'iode jusqu'à apparition des taches. Examinez à la lumière du jour.

Conformité du système : Solution témoin (b)

— le chromatogramme présente 2 taches nettement séparées.

Résultats : La tâche principale du chromatogramme obtenu avec la solution à examiner est semblable quant à sa position et ses dimensions à la tâche principale du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a).

D. La Dompéridone donne la réaction des barbituriques non substitués à l'azote.

ESSAI

Aspect de la solution. La solution est limpide et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin J6. Dissolvez 0,20 g de Dompéridone dans du diméthylformamide R et complétez à 20,0 ml avec le même solvant.

Substances apparentées. Chromatographie liquide.

Préparez les solutions immédiatement avant l'emploi.

Solution à examiner. Dissolvez 0,10 g de Dompéridone dans du diméthylformamide R et complétez à 10,0 ml avec le même solvant.

Solution témoin (a). Dissolvez 10,0 mg de Dompéridone SCR et 15,0 mg de Dropéridol SCR dans du diméthylformamide R et complétez à 100,0 ml avec le même solvant.

Solution témoin (b). Prélevez 1,0ml de solution à examiner et complétez à 100,0 ml avec du diméthylformamide R.

Prélevez 5,0 ml de cette solution et complétez à 20,0 ml avec du diméthylformamide R.

Colonne :

— Dimensions : $l = 0,1 \text{ m}$, $\varnothing = 4,6 \text{ mm}$,

— Phase stationnaire : Gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie, désactivé pour les bases R ($3 \mu\text{m}$).

Phase mobile :

— Phase mobile A : Solution d'acétate d'ammonium R à 5 g/l,

— Phase mobile B : Méthanol R,

Détection : Spectrophotomètre à 280 nm.

Equilibrage : Avec du méthanol R pendant au moins 30 min, puis avec la phase mobile à la composition initiale pendant au moins 5 min.

Injection : 10 μl ; injectez du diméthylformamide R comme blanc.

Temps de rétention : Dompéridone = environ 6,5 min ; Dropéridol = environ 7 min.

Conformité du système : Solution témoin (a)

— **Résolution :** Au minimum 2,0 entre les pics dus à la Dompéridone et au Dropéridol ; si nécessaire, ajustez la teneur en méthanol de la phase mobile ou la programmation du temps pour le gradient linéaire.

Limite :

— Impuretés A, B, C, D, E, F : Pour chaque impureté, au maximum la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,25 pour cent),

— Total : Au maximum 2 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,5 pour cent),

— Limite d'exclusion : 0,2 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,05 pour cent) ; ne tenez pas compte d'un pic dû au blanc.

Métaux lourds : Au maximum 20 ppm. 1,0 g de Dompéridone satisfait à l'essai D. Préparez la solution témoin avec 2 ml de solution à 10 ppm de plomb (Pb) R.

Perte à la dessiccation : Au maximum 0,5 pour cent, déterminé à l'étuve à 105 °C sur 1,000 g de Dompéridone.

Cendres sulfuriques : Au maximum 0,1 pour cent, déterminé sur 1,0 g de Domperidone.

Dosage

Dissolvez 0,300 g de Domperidone dans 50 ml d'un mélange de 1 volume d'acide acétique anhydre R et de 7 volumes de méthyléthylcétone R. Titrez par l'acide perchlorique 0,1 M en présence de 0,2 ml de solution de naphтолbenzéine R jusqu'à virage du jaune-orangé au vert. 1 ml d'acide perchlorique 0,1 M correspond à 42,59 mg de $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$.

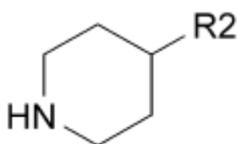
Conservation

A l'abri de la lumière.

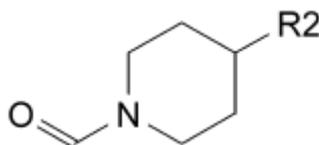
Impuretés

Impuretés

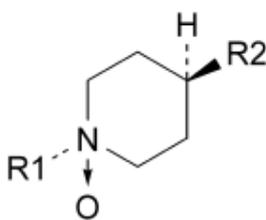
Impuretés spécifiées : A, B, C, D, E, F.



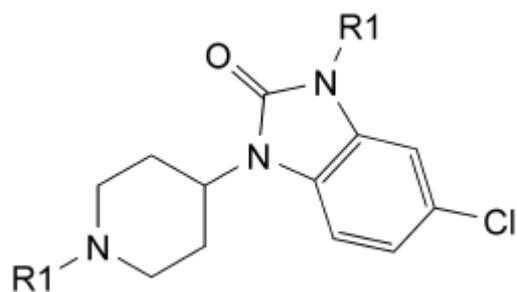
A. 5-chloro-1-(pipéridin-4-yl)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one,



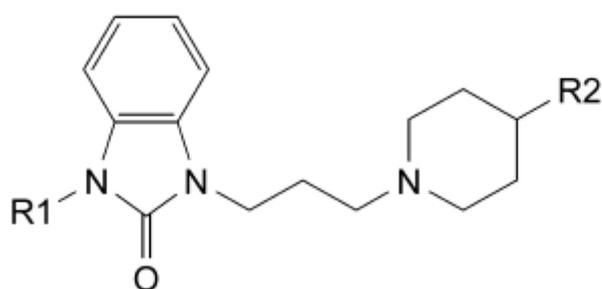
B. 4-(5-chloro-2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-1-yl)-1-formylpipéridine



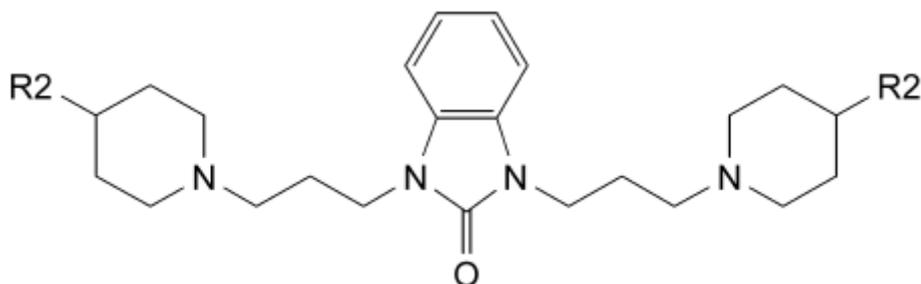
C. 1-oxyde de cis-4-(5-chloro-2-oxo-2,3-dihydro-1Hbenzimidazol-1-yl)-1-[3-(2-oxo-2,3-dihydro-1Hbenzimidazol-1-yl)propyl]pipéridine,



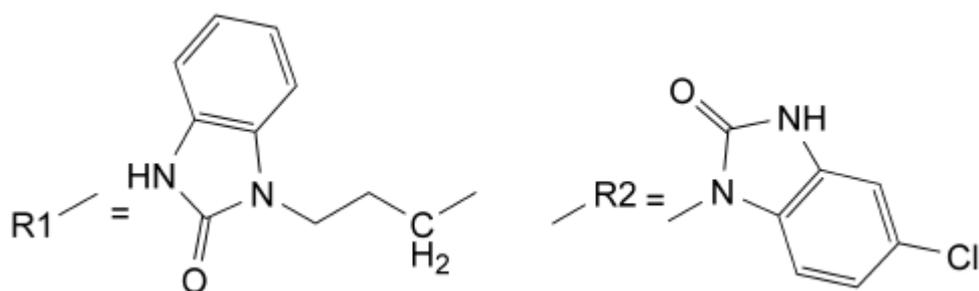
D. 5-chloro-3-[3-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-1-yl)propyl]-1-[1-[3-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-1-yl)propyl]pipéridin-4-yl]-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one,



E. 1-[3-[4-(5-chloro-2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-1-yl)pipéridin-1-yl]propyl]-3-[3-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-1-yl)propyl]-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one,



F. 1,3-bis[3-[4-(5-chloro-2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzimidazol-1-yl)pipéridin-1-yl]propyl]-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one.



Résumé

Les médicaments génériques sont en plein essor en Algérie, afin d'éviter toute ambiguïté des études de cinétique de dissolution sont réalisées.

L'objectif de notre travail au sein de l'entreprise GenericLab est de démontrer que le médicament générique « Peridium » présente une équivalence thérapeutique avec le médicament de référence « Motilium », en réalisant des profils de dissolution dans des milieux tampons à pH différent analogues aux milieux physiologiques.

La méthode d'analyse employée pour suivre la cinétique de dissolution de Dompéridone 10mg en fonction du temps est une spectrophotométrie d'absorption moléculaire dans l'Ultraviolet, cette dernière doit fournir des données analytiques fiables, de ce fait l'OMS et FDA stipule qu'elle doit être entièrement validée, ainsi sa validation est nécessaire au amont de notre étude.

Des tests physico-chimiques et pharmacotechniques sont réalisés sur les deux spécialités pharmaceutiques pour évaluer dans un premier temps la conformité du médicament « Peridium » selon les exigences de la pharmacopée européenne, en suite les différentes caractéristiques du médicament générique sont comparées avec celle du médicament de référence.

Le traitement statistique des données brutes obtenues lors de la validation analytique démontre que la méthode est : Spécifique, linéaire dans un intervalle de concentration de [8,8 – 13,2] $\mu\text{g/ml}$ (soit 80% à 120% de la concentration théorique 11 $\mu\text{g/ml}$), exacte dans un intervalle de confiance [98,946 ; 100,645] et au moyen du calcul des coefficients de variation de répétabilité (0,24%) et de fidélité intermédiaire (0,05%) la méthode est fidèle. Cette méthode est donc jugée capable de quantifier la quantité exacte de Dompéridone dissoute.

L'étude de la cinétique de dissolution des deux spécialités pharmaceutiques est réalisée dans les milieux tampons pH 1,2, 4,5 et 6,8. Les deux produits se dissolvent selon des cinétiques très voisines et montrent des taux de dissolution plus de 85% en 15 minutes (sauf dans le milieu pH 6,8), les profils sont donc considérés similaires et aucun calcul n'est nécessaire, mais afin de rendre nos données compréhensibles, une méthode mathématique est mise en œuvre en calculant le coefficient de variation (CV), le facteur de similarité (F_2) et le facteur de différence (F_1).

Résumé

- Les coefficients de variation pour les milieux tampons pH 1,2 et 4,5 au premier point sont inférieurs à 20% et aux autres points inférieurs à 10% en revanche dans le milieu tampon pH 6,8 le coefficient de variation ne répond pas aux critères d'acceptation parce que le milieu est défavorable pour la dissolution de Dompéridone.
- Les facteurs de similarité sont compris entre 50 et 100%.

L'examen des courbes des taux de dissolution en fonction du temps confirme ces résultats.

Les tests physicochimiques et pharmaceutiques : Aspect, masse moyenne, uniformité de masse, dureté, épaisseur, friabilité, désintégration, dosage effectués sur le produit fini « Peridium » sont conformes.

La comparaison des caractéristiques des deux spécialités ne montre pas de différences significatives entre les deux produits.

L'étude de la cinétique de dissolution répond aux exigences établies par l'OMS et FDA ce qui permet de juger que le médicament générique « Peridium » est interchangeable au médicament princeps « Motilium ».

Mots clés : Dompéridone, générique, spectrophotométrie UV/Visible, validation, cinétique de dissolution.