



République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahleb Blida 1
Faculté de chimie



Mémoire de Master

En Chimie

Présenté pour l'obtention du diplôme de master 2

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Appliquée

Thème

**Validation d'une nouvelle méthode de dissolution d'un
générique et son application à l'étude cinétique en
comparaison à son princeps
Cas FLAVON 500mg**

Réaliser par

SIFI Lamia
SAIDANI Chahinez

Soutenu le 04 /07/2023 devant le jury composé de :

Mezrag. A	Maitre de conférences B	Université de blida-1	Président
Chini. Z	Maitre de conférences B	Université de blida-1	Examineur
Abdallahadj. A	Professeur	Université de blida-1	Promoteur
Abdelhafidh. S	Ingénieur	NOVAPHARM, Tipaza	Invité

Promotion 2022/2023

En ce moment particulier dans ma vie, je tiens à dédier cet humble travail à :

Mon père, ABDERRAZAK mon exemple éternel ; mon soutien morale, celui qu'est toujours sacrifié pour me voir réussir, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie . Puisse Allah vous préserver et vous procurer santé et bonheur.

Ma mère, ZAHIA la lumière de mes jours, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur.

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie .

Mes chers frères« HAFIDH KHALED », vous êtes une source de fierté pour moi.

Mes chères belles sœurs «NACERA AMIRA », vous étiez mes sœurs je vous souhaite tout le bonheur du monde.

A mes chers neveu SOHAIB, HAITHEM et WAIL

A ma chère nièce RAZAN

A mes chères cousines CHIRAZ, CHAIMA et NABILA, je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A mon grand-père, que dieu vous préserve santé et longue vie.

A mon adorable binôme pour toujours «LAMIA» et toute sa famille

A mes chères copines ILHAM, KENZA, KHEIRA, YASMINE, ILHEM, SELMA, RYMA, AHLEM, WAFI, CHAHINEZ.

A toute la famille SAIDANI et tous ceux qui me sont chers.

CHAHINEZ

Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail :

A l'homme de ma vie , mon précieux offert du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect :mon cher père «SAMIR».

A la femme qui a souffert me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non amés exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère« NACERA».

A mes chers sœurs« HOUDA», «NADA»,« ISRAA», puisse dieu vous protéger, garder et renforces notre fraternité. Je vous souhaite tout le bonheur du monde.

A mes frères «NADJIB» ET« ABDERAHMAN», vous êtes une source de fierté pour moi.

A mon soutien moral et source de joie et de bonheur, mon fiance «ABDANACER», pour l'encouragement et l'aide qu'il m'a toujours accordé et ma belle-famille bien sure.

Mes chers grands-pères, Mes chères grands-mères. Que Dieu vous procure santé, bonheur et longue vie.

A Mes cousins et cousines. Et Mes chers collègues.

A toute la famille «SIFI»,et tous ceux qui me sont chers.

Mon adorable binôme « CHAHINEZ » et toute sa famille « SAIDAN

A toutes mes , Rahma, Chahinez, Ilhem, Hafssa, Roumaisa, Kheira, Kenza,

Yassmin , Ahlem, Salma je vous souhaite une vie pleine de sante et de bonheur

A l'ensemble des étudiants de la promotion Master2 chimie appliquée 2022 /2023

Lamia

Au terme de ce mémoire, nous tenons à remercier tout naturellement en premier **Allah le dieu unique** qui nous a donné la patience et le courage durant ces années d'études.

Nous tenons tout d'abord à examiner nos vifs remerciements à notre promoteur monsieur **A. Abdallah el hadj**, qui a toujours été à notre écoute et très disponible tout long de la réalisation de ce mémoire, ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer.

Nous tenons à exprimer nos remerciements à monsieur **MEZRG. A.**, pour avoir accepté d'assurer à présidé de jury pour évaluer de ce présent mémoire

Nos vifs remerciements vont à monsieur **CHINI. Z.**, d'avoir accepté d'examiner notre modeste travail.

Aussi, nous tenons à vivement remercier **Mr Abdelhafidh. S.**, chef du laboratoire de contrôle de qualité, en tant que Co-promoteur pour avoir nous accepté au sein du laboratoire et pour la confiance qu'il a bien voulu nous accorder, et pour son exigence intellectuelle, ses encouragements et surtout sa patience et sa disponibilité.

Nos remerciements vont aussi à toute l'équipe NOVAPHARM TRADING, particulièrement à Mr Hamri Zakaria, Mr Touati Imad, Mr Aissani Abdallah, Mr Samir, Melle Hafida, Melle Khalida et Melle Cherifa de nous avoir accordé de la chance de participer aux différents activités, ainsi que leur assistance et disponibilité.

Egalement, nous tenons à remercier vivement nos parents pour leur soutien et leur patience.

A nos enseignants de l'USDB, votre enseignement fut pour nous des plus enrichissants, que le travail soit l'occasion de vous exprimer notre grand respect.

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui nous ont communiqué leur savoir, leurs savoir-faire et leur savoir-être.

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو التحقق من طريقة التحلل الفيزيائي والكيميائي لمنتج نهائي FLAVON 500 mg؛ تم تطويره داخل مختبر الأدوية. NOVAPHARM.

من خلال عملنا ، تم التحقق من بروتوكول لإذابة مكونين نشطين من ديوسمين ، هيسبيريدين الموجود في قرص فلافون 500 مجم تم تصنيعه بواسطة NOVAPHARM trading والتحقق من صحته في وسائط التدويب pH=1.2, pH=4.5 et pH=6.8.

تم تحديد النسبة المئوية الذائبة باستخدام UV-Visible كطريقة تحليلية، لإثبات أن البروتوكول دقيق وموثوق بما يكفي للثقة في النتائج المقدمة. بالإضافة إلى امتثال / خصوصية النظام والخطية والتكرار والدقة والدقة ، تعتبر طريقة الذوبان في أقراص 500 mg بواسطة مقياس الطيف الضوئي UV-Vis صالحة.

أظهرت نتائج الدراسة الحركية لإذابة Flavon 500 mg مقارنة بملف التحرير princeps Daflon 500mg تشابهًا أكبر من 50 ٪ في وسط التحرير.

الكلمات المفتاحية: التطوير التحليلي ، Flavon ، الأقراص المغلفة بالفيلم ، مقياس الطيف الضوئي المرئي للأشعة فوق البنفسجية ، التحقق من الصحة ، الذوبان ، ملف تعريف الذوبان.

The main objective of this work is the validation of a physico-chemical analytical dissolution method of a finished product: FLAVON 500 mg; developed within the NOVAPHARM pharmaceutical laboratory.

Through our work a protocol for the dissolution of two active ingredients Diosmine, Hesperidin contained in a 500 mg flavon oral tablet manufactured by NOVAPHARM trading verified and validated in dissolution media. pH=1.2, pH=4.5 and pH=6.8

The percent dissolved was determined using UV-Visible as the analytical method, to prove that the protocol is sufficiently accurate and reliable to have confidence in the results provided. As well as system compliance/specificity, linearity, repeatability, precision and accuracy, the dissolution method in the 500mg tablets by UV-Vis spectrophotometer is deemed valid.

The results of the Flavon 500 mg dissolution kinetic study compared to the release profile of the princeps Daflon 500mg showed a similarity greater than 50% in the release media.

Keywords: Analytical development, Flavon, Film-coated tablet, UV-Visible spectrophotometer, Validation, Dissolution, Dissolution profile.

L'objectif principal de ce travail est la validation d'une méthode de dissolution analytique physico-chimique d'un produit fini : FLAVON 500 mg ; développées au sein du laboratoire pharmaceutique NOVAPHARM.

A travers de notre travail un protocole de dissolution de deux principes actifs Diosmine, Hésperidine contenus dans un comprimé oral flavon 500 mg fabriqué par NOVAPHARM tradading vérifié et validé en milieux de dissolution. pH=1.2, pH=4.5 et pH=6.8

Le pourcentage dissout a été déterminé en utilisant UV-Visible comme méthode analytique, en vue de prouver que le protocole est suffisamment exact et fiable pour avoir confiance dans les résultats fournis. Ainsi que la conformité de système/ spécificité, linéarité, répétabilité, fidélité et exactitude, la méthode de dissolution dans les comprimés de 500mg par spectro photomètre UV-Visible est jugé valide.

Les résultats de l'étude de cinétique de dissolution du Flavon 500mg en comparaison au profil de libération du princeps Daflon 500mg ont montré une similarité supérieur à 50 % dans les milieux de libération.

Mots clés : Développement analytique, Flavon, Comprimé pelliculé, spectrophotomètre UV-Visible, Validation, Dissolution, Profil de dissolution.

Dédicace

Remerciements

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale

Chapitre I : Bibliographie sur les médicaments

I. Généralité sur les médicaments	3
I.1. Définition d'un médicament	3
I.2. Composition d'un médicament	3
a. Principe actif	3
b. Excipient	3
c. Les conservateurs	4
I.3. Classification des médicaments	4
a. Médicament princeps	4
b. Médicament générique	4
b.1 Les différents types de générique	4
I.4. Différence entre médicament générique et princeps	5
I.5. La forme galénique	5
a. Définition	5
b. Les différentes formes galéniques	6
b.1. Les formes orales solides	6
b.2. Les formes orales liquide	7
b.3. Formes destinées aux autres voies d'administration	8
I.6. Conditionnement	9
I.7. Origines des médicaments	10
I.8. Devenir d'un médicament dans l'organisme	10
II. Base documentaire	13

1. Pharmacopée	13
2. Conférence internationale d'harmonisation	13
III. Présentation de médicament étudié	13
1. Présentation des principes actifs	13
1.1. La Diosmine	13
1.1.1. Origine	13
1.1.2. Propriétés pharmacocinétique	14
1.1.2.1. Absorption	14
1.1.2.2. Distribution	14
1.1.2.3. Biotransformation	14
1.1.2.4. Elimination	14
1.2. Hespéridine	14
1.2.1. Origine	14
1.2.2. Pharmacocinétique	14
2. Structures et propriétés physico-chimique	15
3. présentation de produit fini FLAVON	16
3.1. Dénomination du médicament	16
3.2. Description	16
3.3. Composition qualitative et quantitative	16
3.4. Propriétés pharmacocinétique	16
3.5. Liste des excipients	17
3.6. Nature et contenu de l'emballage extérieur	17

Chapitre II : Validation d'Une méthode d'analyse de médicament

II .1. Définition	17
II .2. Objectif	17
II .3. Cycle de vie d'une méthode analytique	17
II .4. Contexte réglementaire	18
II .5 Type de validation	19
II .6 Critères de la validation	19
II .7 Vérification des méthodes standardisées	22
II .8 Validation des méthodes non standardisées	23

Chapitre III : Méthode d'analyse physico-chimique et le profil de dissolution

III .1. Méthode d'analyse physico-chimique	26
1.1. Analyse chromatographie (HPLC)	26
1.2. Analyse spectroscopique	27
1.2.1 Spectroscopie d'absorption dans l'UV- visible	27
1. 2.1.1 Définition	27
1. 2.1.2 Principe	28
1.2.1.3 Intérêt analytique des spectres d'absorption UV-visibles	28
1.2.1.4 La loi de Beer-Lambert	28
1.2.1.5 Validité de la loi de Beer-Lambert	29
1.2.1.6 Appareillage	29
III.2. Dissolution et le profil de dissolution	30
2.1. Dissolution	30
2.1.1 Définition de la dissolution	30
2.1.2 Dissolution d'un médicament	30
2.1.3 Intérêt de l'essai de dissolution	30
III .3. Profil de dissolution	31
3.1 Définition	31
3.2 Mécanisme de la dissolution	31
3.3 La vitesse de dissolution	32
3.4 Conditions opératoires de la dissolution	33
3.4.1 Milieux de dissolution	34
3.4.2 Appareillage	34
a. Méthode de dissolution à palette tournante	34
b. Méthode de dissolution a panier tournant	35
c. Méthode dissolution à cellules flux continu	35
3.5 Influence de la dissolution sur l'absorption	36

Chapitre IV : Matériels et méthodes / résultats et discussions

IV.1. Lieu de stage	37
---------------------	----

1.1 Présentation générale de l'entreprise	37
1.2 Unités du laboratoire de contrôle de qualité	37
1.3 différentes activités des laboratoires de contrôle qualité	38
IV.2 objectifs du stage	38
IV.3 matériels et méthodes	38
3.1 matières premières et réactifs	38
3.2 Equipements et appareillages utilisés	41
3.2.1 Matériels	41
3.3 Méthodes	42
3.3 .1 dissolutions	42
3.3 .1.1 Test de dissolution par UV-Visible	42
3.3 .1.2 Procédure	43
3.3 .1.3 Résultats et discussions	44
3.3.2 Validation	45
3.3.2.1 Préparation des solutions	45
3.3.2.2 Les paramètres d'une validation analytique	46
3.3.2.3 Résultats et discussions	48
3.3.3 Etude de profil de dissolution	59
3.3.3.1 Préparations des milieux tampons	59
3.3.3.2 Solution échantillon	60
3.3.3.3 Résultats et discussions	60

Conclusion générale et des perspectives

Tableau I.1 : Liste les principaux types d'excipients utilisés dans la fabrication des Médicaments	4
Tableau I.2: Les formes galéniques les plus courantes et voies d'administration	9
Tableau I.3 : Les différentes origines des médicaments sont illustrées avec des exemples	10
Tableau I.4 : Structures et propriétés physico-chimique.....	15
Tableau II.1 : Critères de la validation en fonction du type d'analyse.....	22
Tableau II.2 : Paramètres de vérification des méthodes standardisées en fonction de la catégorie	23
Tableau II.3: Paramètres de validation des méthodes non standardisées en fonction des catégories.....	24
Tableau III.1 : Les facteurs qui influent la vitesse de dissolution	33
Tableau IV.1 : Spécifications du produit fini Flavon 500mg Cps pelliculés	39
Tableau IV.2 : Réactifs.....	40
Tableau IV.3 : Résultats de dissolution d'échantillon Flavon.....	44
Tableau IV.4 : Résultats de dissolution du princeps Daflon	44
Tableau IV.5 : Solutions pour linéarité sur standard Diosmine	47
Tableau IV.6 : Solutions pour linéarité sur standard Hespéridine	47
Tableau IV.7 : Résultat de l'étude de la linéarité sur Diosmine.....	49
Tableau IV.8 : Résultat de l'étude de linéarité sur Hespéridine.....	51
Tableau IV.9 : Résultats obtenus de l'étude de répétabilité sur 6 échantillons.....	53
Tableau IV .10 : Résultats obtenus sur l'étude de fidélité d'échantillon de deux essais de 1 ^{er} jour	54
Tableau IV.11 : Résultats obtenus sur l'étude de fidélité des deux standards de 1 ^{er} essai de 1 ^{er} jour.....	54
Tableau IV.12 : Résultat obtenus sur l'étude de fidélité des deux STD de 2 ^{-ème} essai de 1 ^{er} jour	55
Tableau IV.13 : Résultat obtenus sur l'échantillon de deux essais de 2 ^{ème} jour.....	56
Tableau IV.14: Résultats obtenus de l'étude de fidélité sur les deux STD de 1 ^{er} essai de 2 ^{ème} Jour.....	56
Tableau IV.15 : Résultat obtenus de l'étude de fidélité sur les deux STD de 2 ^{ème} essai de 2 ^{ème} jour	57
Tableau IV.16 : Résultat obtenus de l'étude de fidélité sur les deux STD.....	57
Tableau IV.17: Pourcentage de teneurs moyennes de Diosmine dans l'échantillon et dans le princeps	60
Tableau IV.18 : Pourcentage de teneurs moyennes d'Hespéridine dans l'échantillon et dans le princeps	61
Tableau IV.19: Résultats de l'étude cinétique d'échantillon dans les milieux Conventionnels.....	62
Tableau IV.20: Résultats de l'étude cinétique du princeps dans les milieux conventionnels..	62

Figure I.1: Comprimé FLAVON 500mg.....	16
Figure II.1: Cycle de vie d'une méthode analyse.....	18
Figure III.1 : La Lure du spectre UV-Visible.....	27
Figure III.2 : Principe de la spectrophotométrie d'absorption du visible.....	28
Figure III.3 : Spectrophotomètre UV-visible.....	29
Figure III.4: Le processus de dissolution du principe actif.....	32
Figure III.5 : Appareil de dissolution a palette.....	34
Figure III.6 : Panier tournant.....	35
Figure III.7 : Appareil de dissolution à cellules flux continu.....	35
Figure IV.1 : Représentation extérieur de l'entreprise.....	37
Figure IV.2: pH mètre METLER TOLEDO.....	41
Figure IV.3 : UV-Visible.....	41
Figure IV.4 : _Dissolutest eLECTRO-LAB USP.....	41
Figure IV.5 : Balance analytique RADWAG.....	41
Figure IV.6 : Les paramètres de validation.....	46
Figure IV.7: Spectre UV-V PA Diosmine.....	48
Figure IV.8 : spctre UVPA Hespéridine.....	48
Figure IV.9 : Scan UV-Visible des PA _s	48
Figure IV.10 : Droite de linéarité sur PA Diosmine.....	51
Figure IV.11 : Droite de la linéarité sur PA Hespéridine.....	52
Figure IV.12 : Cinétique de dissolution du produit.....	60
Figure IV.13: Cinétique de dissolution du produit.....	61

AMM : Autorisation Commune Internationale.

AOAC : Association des Chimistes Analytiques Officiel.

BPF : Bonne Pratique de Fabrication.

C_p : Comprime.

DCI : Dénomination Commune Internationale.

FDA: Food and Drug Administration.

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance.

ICH : Conférence internationale harmonisation.

ISO : Organisation internationale de normalisation.

LDD : Limite De Détection.

LDQ : Limite De Quantification.

LNCPP : Le laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques.

OMS : Organisation Mondiale de la Sante.

PA : Principe Actif.

RSD : Relative Standard Déviation.

SFSTP : Société Française Des Sciences Techniques Et Pharmaceutiques.

STD : Standard.

UV-Visible : Ultraviolet-Visible.

Depuis son existence sur terre, l'être humain s'est exposé à de nombreux ravageurs et maladies, et au fil du temps, il a su s'y adapter et développer des stratégies pour les combattre. L'histoire de l'homme avec les maladies a été évoluée avec le temps et les méthodes pour y faire face sont passées de l'utilisation de la nature à la phytothérapie, jusqu'au développement de médicaments efficaces.

La santé humaine dépend proportionnellement de la qualité ; l'efficacité et de la sécurité des médicaments mis à la disposition des patients.

Un médicament est un produit contenant une substance ayant le pouvoir guérisseur ou préventif face à différentes maladies.

En se basant sur le mode d'administration, différentes formes galéniques ont été développées dont le comprimé.

Dans le cadre de contrôle qualité des comprimés, le test de dissolution est l'un des paramètres pertinents de libération du produit en mesurant le taux de libération du PA par rapport au temps.

Une méthode de dissolution doit prouver sa fiabilité à son domaine d'application par une validation analytique.

Tout générique doit faire l'objet d'une étude comparative aux principes nommée l'étude de cinétique de dissolution.

- **Problématique et objectif**

Afin de démontrer la fiabilité et la justesse des résultats analytiques effectués de manière quotidienne dans les procédés de contrôle et analyse, les méthodes analytiques qui génèrent ces résultats doivent être validées. Ceci représente l'étape cruciale dans le processus de production.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail où l'objectif principal de cette contribution est la validation d'une méthode analytique physico-chimique d'un produit fini FLAVON 500 mg développées au sein du laboratoire pharmaceutique NOVAPHARMTRADING Bp 152 Route de Koléa, Bou Ismail, W Tipaza. Algérie, où la totalité du travail a été effectuée, afin de démontrer que la méthode convient pour l'usage auquel elle est destinée.

Ce manuscrit est organisé en 5 chapitres :

- Le premier chapitre représente des généralités sur les médicaments.
- Le deuxième chapitre est consacré à la validation analytique.

- Le troisième chapitre définit les différentes méthodes d'analyse et le profil de dissolution de médicament.
- Le quatrième chapitre représente la partie expérimentale réalisée au cours de ce travail.

Enfin, notre travail se termine avec une conclusion générale et des perspectives.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I
GENERALITES SUR LES
MEDICAMENTS

I. GENERALITES SUR LES MEDICAMENTS ET LES FORMES PHARMACEUTIQUES (GALENIQUES)

I.1. Définition d'un médicament :

L'OMS définit le médicament comme étant : « Toute substance ou association de substances à but thérapeutique, diagnostic, est destinée à restaurer et corriger les fonctions physiologiques. Elle est présentée sous une forme pharmaceutique permettant son administration à l'homme » [1].

D'après le code de la santé publique français : « On entend par médicament, toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, tous produits pouvant être administrés à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger leurs fonctions organiques » [2].

I.2. Composition d'un médicament :

Un médicament est composé d'un ou plusieurs principes actifs en plus d'un ou plusieurs excipients.

a. Principe actif :

C'est une molécule active qui possède un effet thérapeutique connue pour prévenir ou guérir une maladie. Elle est désignée par sa Dénomination Commune Internationale (DCI) qui est le nom utilisé dans tous les pays de monde. On donne comme exemple : Ibuprofène, Paracétamol...

b. Excipient :

C'est une molécule inactive par rapport au principe actif, elle est incorporée afin de faciliter l'administration, la conservation ou l'absorption par l'organisme, elle permet de [3] :

- Modifier le gout et l'odeur du médicament.
- Moduler la vitesse de libération du principe actif vers l'organisme.
- Améliorer la conservation du médicament.
- Ils donnent au médicament leur forme (identifiable) : comprimé, poudre, sirop...

On trouve de nombreuses catégories d'excipients :

- **Les agrégeant** : ils permettent la cohésion d'un mélange de poudres.
- **Les diluants** : ils permettent la dilution et de compléter un volume.
- **Les intermédiaes** : ils peuvent stabiliser le médicament et permettre de le fabriquer.
- **Les colorants** : ils servent pour l'identification d'un médicament.

• **Les édulcorants** : ils donnent un goût acceptable voire agréable, on les appelle aussi les correctifs.

c. Les conservateurs :

Ils empêchent la dégradation des médicaments, ils empêchent également la prolifération de micro-organismes.

Tableau I.1: Liste les principaux types d'excipients utilisés dans la fabrication des médicaments [4].

Excipients liquides	Exemples
Excipients glycérine	Huile végétale...
Excipients cires	Lanoline...
Excipients hydrocarbures	Huile de vaseline...
Excipients sucres	Saccharose...
Excipients minéraux.	Silice.
Excipients surfactifs...	Surfactifs ioniques...

I.3. Classification des médicaments :

Les médicaments sont classés en deux catégories à savoir :

a. Médicament princeps :

Un médicament princeps, d'origine ou de référence est un médicament mis au point par un laboratoire pharmaceutique qui en garde l'exclusivité jusqu'à expiration de son brevet. Une copie du produit original peut ensuite être développée et commercialisée par : d'autres laboratoires sous forme de médicament générique [5].

b. Médicament générique :

Le code de la santé publique français définit le médicament générique comme « celui qui a la même forme pharmaceutique que le produit princeps, la même composition qualitative et quantitative en principe actif, une bioéquivalence (équivalence des effets biologiques et thérapeutiques avec le produit princeps) démontrée par des études de biodisponibilité (diffusion du médicament dans l'organisme), les mêmes indications et les mêmes modalités d'utilisation. Par contre, un générique n'a pas forcément les mêmes excipients (au contraire des copies qui sont rigoureusement identiques aux produits princeps) » [6].

b.1 Les différents types de générique :

On distingue trois types de génériques :

a- Les génériques intégraux (la copie-copie) :

C'est la copie conforme du médicament original (même substance active, même quantité, même forme galénique, mêmes excipients), souvent produite par le même laboratoire pharmaceutique.

b- Les génériques équivalents (médicaments similaires) :

L'excipient change, mais ni la substance active, ni sa quantité, ni la forme galénique ne change, ces génériques doivent uniquement prouver leur bioéquivalence avec le médicament original.

c- Les génériques plus (médicaments assimilables) :

Des modifications minimales peuvent affecter la forme galénique (comprimé au lieu de gélule par exemple), la forme chimique de la substance active (sel au lieu de base, par exemple). Ces génériques doivent également prouver leur bioéquivalence avec le médicament original[7].

I.4. Différence entre médicament générique et princeps :

La principale différence qui existe entre les médicaments génériques et les princeps est d'ordre budgétaire. En effet, les princeps coûtent plus cher car, pour les mettre au point, des recherches, des études et des essais cliniques extrêmement onéreux ont dû être mis en place. Inversement, les médicaments génériques sont bien meilleur marché car après 10 à 15 ans d'exploitation du princeps par un laboratoire, le brevet devient public. Les autres laboratoires peuvent donc à leur tour le produire sous forme de médicament générique et ainsi faire jouer la concurrence afin de baisser les prix. Cela fait faire des économies aux patients et aux organismes de santé publique [8].

I.5. La forme galénique :**a. Définition :**

La pharmacie galénique est : «la science et l'art de préparer, conserver et présenter les médicaments ». On peut la définir plus clairement par l'énoncé de son objectif : trouver pour chaque principe actif la présentation médicamenteuse, la mieux adoptée au traitement d'une maladie déterminée. Le choix de la forme galénique découle de celui de la voie d'administration. Bien que l'éventail des possibilités ne cesse d'augmenter du fait des succès de la recherche galénique en ce domaine, on a presque toujours recours à un nombre limité de formes courantes. Il existe deux grands groupes d'administration : le premier est constitué par les voies qui placent le principe actif au contact des tissus ou muqueuses

perméables ou directement dans le sang, lui permettant ainsi après passage au travers des couches cellulaires d'atteindre l'organe cible après avoir été véhiculé par le sang, ce groupe comprend la voie orale et les voies transmuqueuses et la voie parentérale ; et le second groupe, constitué par la seule voie cutanée permet au principe actif d'exercer soit une action locale soit générale après traversée de la barrière cutanée à perméabilité sélective et passage dans la circulation [9].

La pharmacopée internationale est un recueil de normes admises au niveau International, portant sur l'activité, la pureté, et l'activité des produits pharmaceutiques qui entrent dans le commerce international.

On trouve plusieurs pharmacopées : européennes, US pharmacopées ou britanniques..etc. [10].

Spécialité pharmaceutique est défini selon le journal officiel de la République Algérienne dans l'**article 172** comme suite : « tout médicament préparé à l'avance présenté sous un conditionnement particulier et caractérisé par une dénomination spéciale, est qualifié de « spécialité pharmaceutique » [11].

b. Les différentes formes galéniques :

Il existe différentes formes galéniques selon les voies d'administration (tableau I.2) qui sont :

b.1. Les formes orales solides :

Comme : les poudres, les paquets, les cachets, les capsules et gélules, les pilules, les granules, les tablettes, les pates officinales, les pastilles, les comprimés.

a. Comprimé :

Un comprimé est une forme pharmaceutique solide, destinée à la voie orale, équivalent à une dose (unité de prise) qui peut contenir un ou plusieurs principes actifs. Les comprimés sont obtenus en agglomérant par compression d'un volume de particules (poudre ou granule). Ils sont avalés ou croqués, dissous ou désagregés dans l'eau. Certains doivent rester dans la bouche pour y libérer le principe actif (comprimé à sucer ou sublingual).

Comprimés enrobés :

Comprimés recouverts d'une ou plusieurs couches de mélanges de substance diverses telles que : résines naturelles ou synthétiques, gommés, gélatine, charge insolubles inactives, sucre, substance plastifiants, polyols, cires, colorants, aromatisants. Les substances employées pour l'enrobage sont généralement appliquées sous forme de solution ou de suspension dans des conditions qui est favorisent l'évaporation du solvant. Quand l'enrobage est constitué d'un film polymère très mince, le comprimé est dit pelliculé [12].

Intérêt de l'enrobage :

- Rendre l'administration plus facile en cas d'odeur ou de saveur désagréable.
- Protéger les comprimés contre les chocs, l'effritement.
- Protéger les principes actifs contre la lumière, l'eau, l'oxydation.
- Modifier la libération des principes actifs pour les comprimés gastros résistants par exemple [13].

b. Gélule :

Une gélule, ou capsule à enveloppe dure, désigne une forme galénique de médicament, solide, que l'on avale c'est l'une des formes pharmaceutiques les plus faciles à réaliser, ce qui explique leur abondance. Elle est constituée d'une enveloppe dure, creuse, le plus souvent en gélatine. L'enveloppe peut aussi contenir d'autres éléments tels que : les colorants, traitements antibactériens, désagrégant, lubrifiants, traitement de surface, etc. Enfin l'enveloppe peut être imprimée, en général du dosage du médicament. La gélule est constituée de deux parties, la tête (coiffe) et le corps, cylindrique, ouverte à une extrémité et dont le fond est hémisphérique, s'emboîtant l'une dans l'autre. Le contenu est une poudre ou des micro granules.

c. Poudres orales :

Ce sont des préparations constituées de particules solides sèches, libres et plus ou moins fines elles contiennent une ou plusieurs substances actives additionnées ou non d'excipients.

- Elles sont généralement administrées avec de l'eau sous forme de poudre ou après la mise en suspension.

b.2. Les formes orales liquides :

Les solutions, les potions, les suspensions, les émulsions.

a-sirops :

Ce sont des préparations aqueuses caractérisées par leur saveur sucrée et leur consistance visqueuse. Ils peuvent contenir du saccharose ou des édulcorants. Ils contiennent généralement des aromatisants ou autre agent.

b- Les potions :

Préparations de saveur sucrée, obtenues par dissolution ou dispersion dans un véhicule aqueux ou hydroalcoolique de diverses substances ou compositions médicamenteuses (PA, teintures, sirops, ...) [6].

c- Emulsions et suspension buvables :

Ce qui vaut un principe actif dans un solvant à base d'eau, ou eau + alcool. Présentation en ampoules (unitaire) ou en flacon compte-gouttes, seringue doseuse, mesure La substance active n'est pas soluble dans l'eau. La suspension doit toujours être agitée avant l'emploi [6].

b.3 Formes destinées aux autres voies d'administration :

Ils sont des solutions ou des suspensions stériles aqueuses ou huileuses, contenant un ou plusieurs principes actifs et destinées à l'installation oculaire.

a- Pommades :

Sous le terme de pommades, on désigne des préparations de consistance molle destinées à être appliquées sur la peau et sur les muqueuses. Elles sont constituées d'un excipient simple ou complexe au sein duquel se trouve dispersé ou dissous un ou plusieurs principes actifs. On parle plus particulièrement :

a.1. Pates dermiques : renferment une forte proportion de poudres

a.2. Crèmes : des préparations multi phases composées d'une phase lipophile et une phase aqueuse.

a.3. Gels ou hydrogels : constitués de liquides gélifiés à l'aide d'agents gélifiants appropriés.

a.4. Cérats : dont l'excipient est une cire additionnée d'huile

b- Suppositoires : sont des préparations unidoses solides. Leur forme, volume et consistance sont adaptées à l'administration par voie rectale.

c-Solution injectable : sont des préparations stériles destinées à être injectées

d -Préparation pour perfusion : sont des solutions aqueuses ou des émulsions en phase externe aqueuse, stériles et isotoniques au sang.

e- **Collyres** : sont des solutions ou des suspensions stériles aqueuses ou huileuses, contenant un ou plusieurs principes actifs et destinées à l'installation oculaire [14].

Tableau I.2: Les formes galéniques les plus courantes et voies d'administration.

Voies d'administration	Formes principales
Orale	Comprimés, gélules, solutions ou suspensions aqueuses
Parentérale	Solutions aqueuses
Rectale	Suppositoires
Vaginale	Comprimés,
	Solutions aqueuses
Ophtalmique	Solutions aqueuses
ORL	Solutions aqueuses pulvérisées ou non
Percutanée	Pommades et solutions

I.6. Conditionnement :

Les formes pharmaceutiques ne sont pas délivrées en vrac, mais contenues dans un conditionnement. Celui-ci est dit primaire lorsqu'il est en contact direct avec le médicament (flacon, blister, etc.), secondaire lorsqu'il n'est pas en contact avec le médicament (boîte, emballage, etc.). Les conditionnements portent un certain nombre de mentions obligatoires qui sont contrôlées par l'administration.

I.7. Origines des médicaments :

Tableau I.3 : Les différentes origines des médicaments sont illustrées avec des exemples.

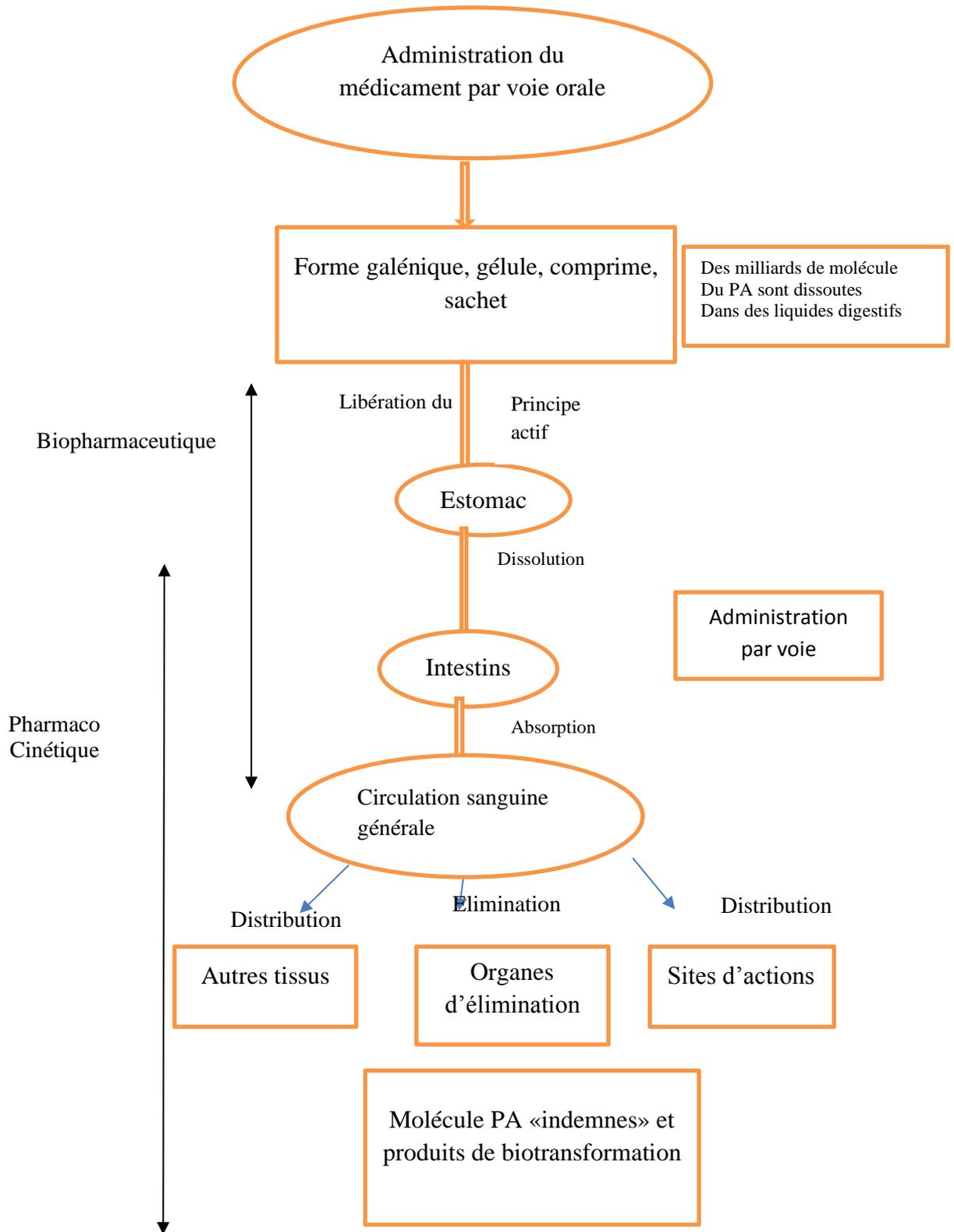
Origine	Définition	Exemple
Végétale	L'utilisation des plantes en thérapie (phytothérapie) est très ancienne. On utilise soit la plante entière, soit les produits d'extraction qu'elles fournissent.	Morphine : extraite de la capsule du pavot à opium.
Animale	L'utilisation d'organes ou des glandes fraîches en thérapie est aussi ancienne que les plantes.	Hormones polypeptidiques extractives (insuline)
Minérale	Ce sont souvent des produits minéraux naturels employés comme principes actifs ou excipients	Argiles, bicarbonates de sodium, sulfate de magnésium, calcium, fer
Microbiologique	Il s'agit essentiellement de vaccins obtenus à partir des bactéries ou des virus	Antibiotiques
Synthétique / semi synthétique	C'est des principales sources de production des médicaments modernes. ce sont généralement des molécules complexes obtenus par des méthodes de synthèse de chimie organique	Antibiotiques
Biotechnologique (biogénétique)	L'utilisation des méthodes de la « génie génétique », il est possible de fabriquer des substances naturelles polypeptidiques présentant toutes les caractéristiques de leur modèle humain.	Antibiotiques

I.8. Devenir d'un médicament dans l'organisme :

La pharmacocinétique d'un médicament varie beaucoup d'un sujet à l'autre (variabilité interindividuelle) et pour un même sujet d'un moment à un autre (variabilité intra individuelle). De nombreux facteurs contribuent à cette variabilité en agissant sur les

étapes clé du devenir d'un médicament dans l'organisme que sont l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion des médicaments.

Les sources de variabilité peuvent être de nature physiologique (rôle de l'âge : les sujets âgés, les enfants, les nourrissons, les nouveau-nés et les femmes enceintes ont des caractéristiques PA particulières), pathologique, environnementale ou liées au médicament lui-même [17].



Organigramme Devenir d'un médicament dans l'organisme.

II. BASE DOCUMENTAIRE

1. Pharmacopée

C'est un ouvrage réglementaire destiné aux professionnels de santé qui définit les critères de pureté des matières premières ou des entrants dans la fabrication des médicaments (à usage humain et vétérinaire) voire leur contenant, et les méthodes d'analyses à utiliser pour en assurer leur contrôle. L'ensemble des critères permettant d'assurer un contrôle de la qualité optimale est regroupé et publié sous forme de monographies.

Constituent un référentiel opposable régulièrement mis à jour. Il existe plusieurs pharmacopées : européenne, britannique, indienne, chinoise...etc[16].

2. Conférence internationale d'harmonisation :

En anglais International Conference of Harmonisation. Initiative soutenue par les autorités de réglementation pharmaceutiques et l'industrie des trois grandes zones économiques du monde, à savoir les États-Unis ; l'Union Européenne et le Japon ; elle fixe des lignes directrices sur les données à fournir en vue de l'autorisation de mise sur le marché (AMM) de nouvelles entités chimiques et biologiques à l'usage des membres de l'ICH. Ces lignes directrices sont parfois adoptées par d'autres pays pour des raisons d'harmonisation [16].

III. Présentation de médicament étudié

1. Présentation des principes actifs :

1.1 La Diosmine

1.1.1. Origine

La diosmine est un composé chimique de la famille des flavones, plus précisément c'est un hétéroside, le 7-O-rutinoside d'une flavone. La diosmine est un phlébotonique oral semi-synthétique, utilisé dans le traitement des maladies veineuses, comme l'insuffisance veineuse chronique ou les maladies hémorroïdales, contre les hémorroïdes aiguës ou chroniques, la place d'une ligature élastique, en combinaison avec un complément en fibres ou en traitement adjuvant à une hémorroïdectomie afin de réduire les saignements secondaires.

La diosmine est actuellement un médicament prescrit dans certains pays d'Europe et qui est vendu comme complément alimentaire aux États-Unis et dans le reste de l'Europe. La diosmine augmente la résistance des vaisseaux, diminue leur perméabilité et entraîne une vasoconstriction.

1.1.2. Propriétés pharmacocinétique :

1.1.2.1 Absorption : Une absorption rapide dès la 2^{ème} heure suivant l'administration, la concentration maximale étant atteinte à la 5^{ème} heure.

1.1.2.2 Distribution : Une distribution de faible intensité à l'exception des reins, du foie, des poumons et tout particulièrement des veines cave et saphènes où les taux de radioactivité retrouvés sont toujours supérieurs à ceux des autres tissus examinés.

1.1.2.3 Biotransformation : Cette fixation préférentielle de la diosmine et/ou de ses métabolites au niveau vasculaire s'accroît jusqu'à la 9^{ème} heure et persiste durant les 96 heures suivantes.

1.1.2.3 Elimination : Une élimination essentiellement urinaire (79%) mais également fécale (11%) et biliaire (2,4 %), avec mise en évidence d'un cycle entéro-hépatique. -Ces résultats indiquent ainsi que la diosmine est bien résorbée après son administration par voie orale [18].

1.2 Hespéridine

1.2.1. Origine

L'hespéridine est en réalité un flavonoïde, et plus précisément un citroflavonoïde, connu pour être un des principaux composants et agent actif présent dans les espèces citrus de la famille des rutacées.

On retrouve un taux élevé d'hespéridine dans les agrumes en général, mais plus particulièrement dans les oranges, les citrons et citrons verts, la clémentine, Le pamplemousse. C'est dans la peau et les parties membraneuses du fruit que la concentration en hespéridine est la plus élevée [19].

1.2.2. Pharmacocinétique :

Seuls les flavonoïdes sous forme de génies (ou aglycones) sont susceptibles d'être réabsorbés. L'hydrolyse des liaisons hétérosidiques (reliant la génine à la chaîne sucrée) n'intervient que dans le côlon où les micro-organismes dégradent simultanément les flavonoïdes d'origine alimentaire. Le foie est largement impliqué dans le métabolisme des flavonoïdes d'origine alimentaire. Le foie est largement impliqué dans le métabolisme des flavonoïdes réabsorbés. La muqueuse intestinale et le rein interviennent accessoirement dans ce métabolisme. Une fois réabsorbés, les flavonoïdes vont influencer plusieurs fonctions biologiques dont la synthèse protéique, la différenciation de la prolifération cellulaire et l'angiogenèse, apportant des effets bénéfiques dans différentes pathologies chez l'Homme [20].

2. Structures et propriétés physico-chimique

Tableau I .4 : Structures et propriétés physico-chimique.

	Diosmine	Hespéridine
Nom selon l'UCIPA	5-hydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) -7-[(2S,3R,4S,5S,6R) -3,4,5-trihydroxy-6-[[[(2R,3R,4R,5R,6S) -3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxychromen-4-one	(2S) -5-hydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydro-2H-chromen-7-yl 6-O-(deoxy- α -L-mannopyranosyl)- β -D-glucopyranoside
Structure Chimique		

Propriétés chimiques

Formule	$C_{28}H_{32}O_{15}$	$C_{28}H_{34}O_{15}$
Masse molaire	608.544 \pm 0.0291 g/mol C 55.26 %, H 5.3%, O 39.44%	610.560 \pm 0.0293 g/mol

Propriétés physiques

Point ébullition	926.8 \pm 65.0	
Solubilité	0.019 \pm 0.005 mg/L	0.02 g/L dans l'eau soluble dans la pyridine. Peu soluble dans le méthanol et l'acide acétique glacial chaud. Insoluble dans l'acétone, le benzène, le chloroforme
Point de fusion	277 – 278	610.560 \pm 0.029 3 g/mol
pKa	6.10 \pm 0.40	/

3. Présentation de produit fini FLAVON

3.1. Dénomination du médicament :

FLAVON 500mg, comprimé pellicule



Figure I .2: Produit fini FLAVON 500mg.

3.2. Description :

Ce médicament est un veinotonique un protecteur vasculaire. Il stimule la circulation du sang dans les veines lutte contre l'altération des vaisseaux capillaires.

Il est utilisé dans le traitement symptomatique :

- Des jambes lourdes, impatiences et autres troubles en rapport avec une mauvaise circulation veineuse lymphatique (comprimé à 500 mg).
- Des crises d'hémorroïdes (comprimé à 500 mg).

3.3. Composition qualitative et quantitative :

Fraction flavonoïque purifiée micronisée.....	500.000mg
Correspondant à :	
Diosmine 90 pourcent.....	450.000mg
Flavonoïdes exprimes en hespéridine 10 pourcent.....	50.000mg
Humidité moyenne	20.000mg

3.4. Propriétés pharmacocinétiques :

Chez l'homme, après administration par voie orale du médicament avec diosmine marquée au carbone 14 :

➤ L'excrétion est essentiellement fécale et l'excrétion urinaire est en moyenne de 14-pourcent de la quantité administrée.

➤ La demi-vie d'élimination est de 11 heures.

Le produit est fortement métabolisé, ce métabolisme est objectivé par la présence de différents acides phénols dans les urines.

3.5. Liste des excipients :

➤ **Comprimé non enrobé** Carboxyméthylamidon sodique, cellulose microcristalline, gélatine, stéarate de magnésium et le talc.

➤ **Pelliculage** dioxyde de titane (E 171), glycérol, Laury sulfate de sodium, macrogol 6000, hypromellose, oxyde de fer jaune (E 172), oxyde de fer rouge (E 172), stéarate de magnésium.

3.6. Nature et contenu de l'emballage extérieur

15, 20, 30, 36, 60, 100 ou 120 comprimés pelliculés sous plaquettes (PVC/Aluminium).

Toutes les présentations peuvent ne pas être commercialisées.

CHAPITRE II
DEVELOPPEMENT ANALYTIQUE

II. Validation d'une méthode d'analyse de médicament

La validation d'une méthode analytique est un concept appliqué dans tous les domaines d'industries pharmaceutiques, biopharmaceutiques, chimiques et agroalimentaires.

La validation est fondée sur une analyse statistique basée sur un certain nombre de critères aboutissant à des méthodes analytiques permettant de donner des résultats fiables, et que la méthode adoptée à l'application prévue est performante.

II.1. Définition :

La méthode analytique « consiste à décomposer l'objet d'étude en allant du plus complexe au plus simple ». Elle est aussi un moyen qui exprime concrètement un besoin, ou encore c'est la réponse matérialisée à un problème donné. C'est une opération qui intervient après le développement d'une nouvelle procédure d'analyse, elle sert à démontrer que la méthode adoptée à l'application prévue est performante et que les résultats aux exigences des différents documents réglementaires et directives tels que ISO 8420 :1995, NF03-110-1998 USP25 2005 [1].

II.2 Objectif :

La validation analytique a pour principale objectif de fournir, aux laboratoires ainsi qu'aux autorités compétentes, les garanties qu'une méthode analytique donnée fournit des résultats suffisamment fiables et reproductibles, compte tenu du but de l'analyse. Il faut donc définir correctement, à la fois, les conditions dans lesquelles la méthode sera utilisée et le but dans lequel elle sera employée [2].

II.3 Cycle de vie d'une méthode analytique :

Dans le domaine analytique, deux types de méthodes sont mentionnés : les méthodes qualitatives et les méthodes quantitatives. Dans cette dernière catégorie, la mise en œuvre de ces méthodes (le cycle de vie) passe par plusieurs étapes interdépendantes.

L'exemple d'une méthode de dosage peut se décomposer en quatre grandes phases successives :

1. Une phase de sélection où des objectifs et des conditions opératoires initiales sont définis.
2. Une phase de développement, avec ou sans optimisation au moyen de phase d'expériences.
3. Une phase de validation (validation interne/externe) précédée, selon le cas, d'une phase de pré-validation.

4. Une phase d'application en routine (usage en routine), incluant le plus souvent une validation en routine et parfois une validation partielle ou une revalidation [3].

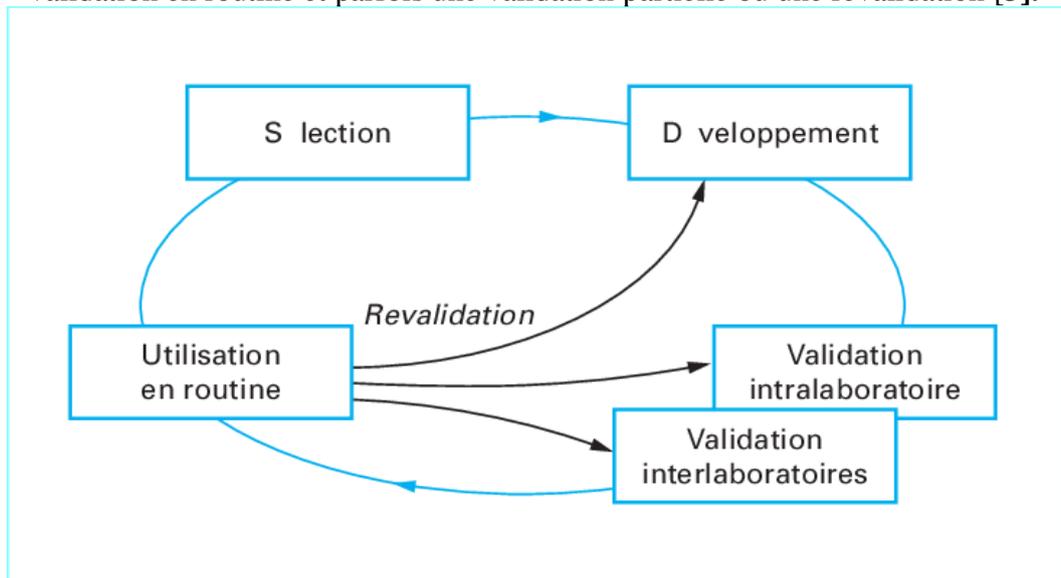


Figure II.1: Cycle de vie d'une méthode analytique [4].

II.4. Contexte réglementaire :

La validation est une étape obligatoire du cycle de vie d'une procédure analytique comme il a été défini et publié dans les différents principaux référentiels, documents et guides (ISO, ICH, SFSTP, FDA, etc.).

Des directives sur la validation des méthodes analytiques sont fournies dans des publications différentes, on cite [5] :

➤ Document ICH

Le guideline ICH représente une exigence réglementaire face à toute validation de méthode analytique exprimée dans un dossier AMM (Autorisation de Mise sur le marché). Son but est d'accroître le degré d'harmonisation internationale pour obtenir des médicaments de bonne qualité, avec des niveaux de sécurité et d'efficacité satisfaisants, enregistrés de la façon la plus efficace possible et à des coûts raisonnables, et de discuter des aspects techniques et scientifiques de l'enregistrement des médicaments au niveau mondial afin d'aboutir à un dossier harmonisé pour la mise sur le marché des médicaments.

Dans le thème de qualité l'ICH a dédiés deux guides pour la validation analytique :

Q2A : « Text on validation of analytique procédures (1994) » : dont l'objectif est de définir les critères et les caractéristiques qui doivent être prises en considération lors de la validation des méthodes analytiques.

Q2B : « methodology (1996) » : son but est de fournir des conseils et recommandations sur la manière d'appréhender des différentes caractéristiques de la validation pour chaque méthode analytique.

En 2005 ces deux lignes directrices ont été regroupées en une seule : Q2(R). L'ICH q2 r1 validation des procédures d'analyse : texte et méthodologie). [6]

➤ **SFSTP (Société Française Des Sciences Techniques Et Pharmaceutiques) :**

Ils présentent les recommandations réglementaires communément admises et appliquées dans l'industrie pharmaceutique nationale et une démarche statistique pour la validation d'une procédure analytique.

- SFSTP « méthodes chromatographiques de dosage dans les milieux biologiques : stratégie de validation. Rapport d'une commission SFSTP » (1997).
- SFSTP « validation des procédures analytiques quantitatives : harmonisation des démarches ».
- SFSTP (2012) : approche de capacité [7].

II.5. Type de validation :

Les types de procédures analytiques à valider décrites par l'ICH sont :

- Tests d'identification.
- Dosage quantitatif des impuretés.
- Vérification des teneurs limitent des impuretés.
- Dosage de la partie active ou d'une ou de plusieurs autres composantes de la substance médicamenteuses ou du produit fini [6].

II.6. Critères de la validation :

Chaque méthode d'analyse possède un certain nombre de propriétés caractéristiques, critères qui qualifient les performances de la méthode.

Les principaux critères de validation sont ceux qui sont largement reconnus et couramment utilisés sans les laboratoires d'analyse et s'articulent comme suit :

- Spécificité-sélectivité.
- Linéarité.
- Fidélité (répétabilité et fidélité intermédiaire).
- Justesse.
- Exactitude.
- Sensibilité.

- Robustesse.
- Limite de détection.
- Limite de quantification.

➤ **La spécificité :**

Selon l'ICH : la spécificité d'une méthode analytique est la capacité à établir de manière univoque l'existence, l'identification de la substance à analyser en présence d'autres composants susceptibles de l'accompagner (impuretés, etc.) [8].

Pour dire qu'une procédure d'analyse est spécifique, il s'agit de démontrer que la ou les substance (s) analysée (s) au sein de la matrice est bien le ou les analyte(s) recherché (s).

➤ **Linéarité :**

La linéarité d'une procédure d'analyse exprime la capacité d'une méthode à donner des résultats qui sont directement proportionnels à la concentration (quantité) introduire [9].

Exactitude (justesse) :

Selon L'ICH, l'exactitude est la mesure de l'endroit concordance entre la valeur trouvée dans un échantillon par la méthode et la valeur qui est adoptée soit comme une valeur de référence, soit comme une valeur conventionnellement vraie.

L'exactitude d'une méthode doit être établie dans son intervalle de mesure. Elle s'exprime par le pourcentage d'erreur entre la valeur observée et la valeur réelle [6].

➤ **Fidélité (précision) :**

La fidélité de la méthode exprime l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures provenant de prises d'essai multiples d'un échantillon, dans des conditions données [10].

La fidélité donne une explication sur les erreurs aléatoires, elle est souvent exprimée par la variance, l'écart type ou le coefficient de variation d'un ensemble de mesures [6]

Elle s'évalue à trois niveaux : la répétabilité, fidélité intermédiaire (intra laboratoire), reproductibilité.

➤ **La répétabilité :**

La répétabilité se rapporte à des essais dans les mêmes conditions de réalisation, dans de courts intervalles de temps, par le même opérateur utilisant le même équipement, dans le même laboratoire [6].

➤ **Fidélité intermédiaire :**

Les résultats d'essais indépendants sont obtenus dans des conditions bien particulières, c'est-à-dire : la même méthode, sur des échantillons d'essais identiques,

dans le même laboratoire, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents et ceci pendant un intervalle de temps donné [6].

➤ **Reproductibilité :**

Condition où les résultats d'essais sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essais identiques dans différents laboratoires, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents [6].

➤ **Robustesse :**

La robustesse d'une méthode est sa « capacité à supporter sans conséquence de petites variations apportées délibérément aux paramètres de la méthode » [6].

➤ **Limite de détection (LDD) :**

La limite de détection d'une procédure d'analyse correspond à la plus petite quantité à examiner détectée dans un échantillon de la substance analysée, sans obligatoirement donner la valeur exacte [6].

➤ **La limite de quantification (LDQ) :**

La limite de quantification d'une méthode d'analyse représente un paramètre intervenant dans les analyses quantitatives ou elle exprime la plus petite concentration d'un analyte dans un échantillon pouvant être évaluée avec un degré de précision et une exactitude admissible dans les conditions de fonctionnement indiquées de la méthode [11].

Tableau II.1 : Critères de la validation en fonction du type d'analyse [12].

Type d'analyse caractéristique	Identification	Analyse des Impuretés Teneur limite	Dosage -dissolution (mesure seulement) -teneur/activité
-exactitude	-	+ -	+
-précision			
-répétabilité	-	+ -	+
-précision intermédiaire	-	+	+(1)
-spécificité 2	+	-(3)	+
-limite de détection	-	+	-
-limite de dosage	-	+	-
-linéarité	-	+	+

- Caractéristique qui n'est normalement pas évaluée.

+ Caractéristique normalement évaluée.

1. Si la reproductibilité est évaluée, il n'est pas nécessaire de déterminer la précision intermédiaire.
2. Si la méthode est insuffisamment spécifique, cette déficience peut être compensée par la spécificité d'une ou de plusieurs autres épreuves complémentaires auxquelles l'échantillon est soumis.
3. Parfois nécessaire [12].

II.7. Vérification des méthodes standardisées :

C'est une méthode validée par l'organisation l'ayant publié, elle regroupe toutes les méthodes publiées par les autorités, les pharmacopées et les méthodes d'analyse de l'AOAC.

Lorsque la méthode est appliquée pour la première fois au laboratoire, la vérification est effectuée en étudiant les paramètres suivants :

Étudiant les paramètres suivants :

-**catégorie 1** : procédure analytique de quantification d'un principe ou conservateur.

-**catégorie 2** : procédure analytique de détermination des impuretés.

-**catégorie 3** : procédure analytique d'évaluation de caractéristiques de performances.

-**catégorie 4** : tests d'identification.

Tableau II.2 : Paramètres de vérification des méthodes standardisées en fonction de la catégorie.

Paramètres	Catégorie 1	Catégorie 2		Catégorie 3	Catégorie 4
		Quantitatif	Test de limite		
Exactitude	Oui	Oui	*	*	Non
Fidélité	Oui	Oui	Non	Oui	Non
Spécificité	Oui	Oui	Oui	*	Oui
LDD	Non	Non	Oui	*	Non
LDQ	Non	Oui	Non	*	Non
Linéarité	Non	Non	Non	*	Non
Ecart d'utilisation	Non	Non	*	*	Non

II.8. Validation des méthodes non standardisées :

C'est une méthode dont la source n'est pas officielle, inclut des méthodes de journaux scientifiques et méthodes développées aux laboratoires non publiées. Les méthodes non standardisées et les méthodes développées en interne nécessitent une validation analytique complète, après la mise au point et la revalidation détaillée précédemment, cela conformément au tableau :

Tableau II.3 : Paramètres de validation des méthodes non standardisées en fonction des catégories [13].

Paramètres	Catégorie 1	Catégorie 2		Catégorie 3	Catégorie4
		Quantitatif	Test de limite		
Exactitude	Oui	Oui	*	*	Non
Fidélité	Oui	Oui	Non	Oui	Oui
LDD	Non	Non	Oui	*	Non
LDQ	Non	Oui	Non	*	Non
Linéarité	Oui	Oui	Non	*	Non
Ecart d'utilisation	Oui	Oui	*	*	Oui

CHAPITRE III

**METHODE D'ANALYSE PHYSICO-
CHIMIQUE ET LE PROFIL DE
DISSOLUTION**

La méthode analytique « Consiste à décomposer l'objet d'étude en allant du plus complexe au plus simple ». Elle est aussi un moyen qui exprime concrètement un besoin, ou encore c'est la réponse matérialisée à un problème donné. Dans le domaine analytique, deux types de méthodes sont mentionnés, les méthodes qualitatives et les méthodes quantitatives. Par rapport à cette dernière, l'objectif d'une méthode analytique peut se résumer en sa capacité à quantifier chacune des quantités inconnues présentes dans un échantillon. Les méthodes d'analyses possibles peuvent être physiques, chimiques, ou physico-chimiques, essentiellement les méthodes spectrophotométries et chromatographiques.

Selon la réglementation et par référence au dossier AMM d'un médicament, les contrôles pharmaco techniques, biopharmaceutiques et physico-chimiques sont indispensables pour valider les produits pharmaceutiques et assurer plus de sécurité au médicament et à son environnement.

III .1. Méthode d'analyse physico-chimique

1.1 Analyse chromatographie (HPLC) :

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) anciennement appelée chromatographie liquide haute pression, est une technique de chimie analytique utilisée pour séparer, identifier et quantifier chaque composant d'un mélange. Il repose sur des pompes pour faire passer un solvant liquide sous pression contenant le mélange d'échantillon à travers une colonne remplie d'un matériau adsorbant solide. Chaque composant de l'échantillon interagit légèrement différemment avec le matériau adsorbant, provoquant des débits différents pour les différents composants et conduisant à la séparation des composants lorsqu'ils s'écoulent hors de la colonne.

La chromatographie peut être décrite comme un processus de transfert de masse impliquant une adsorption. L'HPLC repose sur des pompes pour faire passer un liquide sous pression et un mélange d'échantillons à travers une colonne remplie d'adsorbant, conduisant à la séparation des composants de l'échantillon. Le composant actif de la colonne, l'adsorbant, est typiquement un matériau granulaire constitué de particules solides (par exemple, la silice, les polymères, etc.), de 2 à 50 μm en taille. Les composants du mélange d'échantillon sont séparés les uns des autres en raison de leurs différents degrés d'interaction avec les particules d'adsorbant. Le liquide sous pression est typiquement un mélange de solvants (par exemple eau, acétonitrile et/ou méthanol) et est appelé "phase mobile". Sa composition et sa température jouent un rôle majeur dans le processus de séparation en influençant les

interactions entre les composants de l'échantillon et l'adsorbant. Ces interactions sont de nature physique, telles qu'hydrophobes (dispersives), dipôle - dipôle et ioniques, le plus souvent une combinaison. [1].

1.2 Analyse spectroscopique :

C'est l'ensemble des méthodes d'analyse spectrale permettant d'accéder à la composition et à la structure de la matière. Le terme est devenu, en pratique, synonyme de spectroscopie, l'œil étant remplacé par d'autres récepteurs et instruments de mesure, et le visible ne constituant qu'un domaine particulier de l'observation et de l'analyse physico-chimique.

1.2.1 Spectroscopie d'absorption dans l'UV- visible :

Afin de déterminer les différents paramètres physico-chimiques des molécules étudiées, on a eu recours à des études spectroscopiques.

1. 2.1.1 Définition :

La spectrométrie ultra-violet-visible (UV-VIS) est une des techniques instrumentales les plus vieilles d'analyses et est la base pour la détermination des micros et semi-micro quantités d'analytes dans un échantillon. C'est une technique très utilisée dans les laboratoires et dans l'industrie.

Le spectre UV-visible d'une molécule en solution se définit comme la variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde λ de la lumière incidente. Un spectre est enregistré à partir d'une solution de concentration connue dans un solvant déterminé, disposé dans une cuve d'épaisseur calibrée. Une molécule pourra être caractérisée en spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-Visible par la description de son spectre $A=f(\lambda)$, elle est susceptible d'absorber une radiation lumineuse d'énergie correspondante au domaine UV-visible (200 à 800 nm), en précisant les maxima et minima d'absorption, et le coefficient d'extinction moléculaire aux longueurs d'ondes correspondantes, ainsi que le solvant [2].

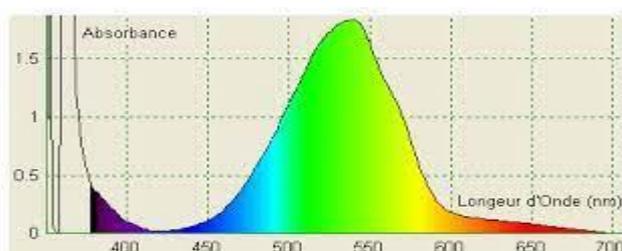


Figure III.1 : La Lure du spectre UV-Visible [13].

1. 2.1.2 Principe :

Lorsqu'une solution homogène d'une substance est traversée par un faisceau d'intensité I_0 , l'expérimentateur observe sortie de l'échantillon un faisceau transmis d'intensité I la longueur d'onde n'ayant pas été modifiée, si $I < I_0$ (alors la substance a absorbé une partie de l'onde lumineuse à la longueur d'onde λ).

On caractérise " le pouvoir d'absorption " d'une solution colorée, pour une longueur d'onde λ fixée, par une grandeur appelée absorbance.

L'absorbance A est la capacité dans espèce chimique à absorber une radiation de longueur d'onde λ .

L'absorbance A est une grandeur sans dimension.

Une radiation λ non absorbée a une absorbance nulle $A=0$ [4].

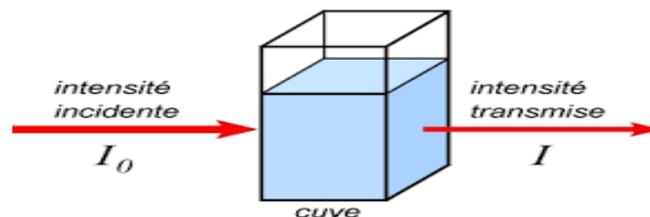


Figure III.2 : Principe de la spectrophotométrie d'absorption du visible.

1.2.1.3 Intérêt analytique des spectres d'absorption UV-visibles :

Le spectre d'absorption UV-visible permet de caractériser une molécule. Il est, par conséquent, un des critères d'identification de la molécule. Toutefois, l'absorption dans l'UV-visible permet plutôt de caractériser des groupements fonctionnels, et non une molécule dans son ensemble. Ainsi, la spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible ne permet pas d'identifier de façon absolue une molécule [4].

1.2.1.4 La loi de Beer-Lambert :

C'est une loi qui traduit la relation entre l'absorbance, la concentration et la longueur de solution traversée par la lumière dans la cuve mesure.

Loi de Beer-Lambert : $A=l C \epsilon$.

A : absorbance.

C : concentration mol/l.

l : longueur de solution traversée cm trajet optique.

ϵ : coefficient d'absorption [5].

1.2.1.5 Validité de la loi de Beer-Lambert :

Cette relation de proportionnalité n'est vraie que dans certaines conditions :

- Lumière monochromatique.
- Concentration pas trop élevée.
- La substance ne doit pas donner lieu à des réactions chimiques sous l'effet du rayonnement incident.
- La substance ne doit pas donner lieu à des associations variables avec le solvant.

1.2.1.6 Appareillage :

Un spectrophotomètre UV-visible est constitué schématiquement.

- D'une source lumineuse.
- D'une cellule de mesure.
- D'un sélecteur de longueur d'onde ou monochromateur.
- D'un système de mesure de l'intensité lumineuse ou détecteur.
- D'un dispositif d'affichage et de traitement du signal.



Figure III.3 : Spectrophotomètre UV-visible

III .2. Dissolution et le profil de dissolution

III.2.1. Dissolution :

III .2.1.1 Définition de la dissolution :

L'essai de dissolution est un test pharmaco-technique destiné à déterminer la plus ou moins grande aptitude des formes galéniques à laisser passer en solution, dans un milieu déterminé, le ou les principes actifs qu'elles contiennent.

Le passage en solution est apprécié par le dosage du principe actif dans des échantillons prélevés du milieu de dissolution à intervalles de temps différents.

Les formes pharmaceutiques concernées par les essais de dissolution sont les formes orales solides (libération immédiate ou modifiée), les dispositifs transdermiques, les microparticules injectables, les capsules molles, suppositoires et ovules [6].

III .2.1.2 Dissolution d'un médicament :

La dissolution n'est pas vraiment un facteur prédictif de l'efficacité thérapeutique, mais c'est une étape primordiale pour qu'un médicament atteigne son effet. Il s'agit plutôt d'un outil qualitatif et quantitatif qui peut apporter une précieuse information sur la biodisponibilité biologique d'un médicament [7].

A l'exception de l'administration par voie parentérale et de l'administration orale des solutions, toutes les formes pharmaceutiques doivent se dissoudre ou libérer leur principe actif, afin qu'il soit absorbé, l'absorption d'un PA après son administration par voie orale dépend de :

- Sa libération à partir de la forme galénique.
- Sa dissolution ou sa solubilisation dans des conditions physiologiques.
- La perméabilité du site d'absorption dans le tractus gastro-intestinal.

III .2.1.3 Intérêt de l'essai de dissolution :

L'intérêt de l'essai de dissolution est de contrôler une formulation et expliquer le comportement biopharmaceutique en cours de :

❖ En pré formulation :

Plusieurs propriétés fondamentales sont étudiées en pré formulation comme la solubilité, la constante d'ionisation, le coefficient de partage, la vitesse de solubilité, l'hygroscopicité et le polymorphisme. Il est important de connaître la vitesse de dissolution d'un principe actif dans le cas des principes actifs très faiblement solubles pour envisager des solutions permettant de la modifier. [8].

❖ **En développement :**

Au stade de la formation galénique, des études comparatives de dissolution de plusieurs formes permettent d'optimiser la formulation et de s'assurer que la libération du principe actif est complète à partir de la forme galénique. L'établissement des profils de dissolution est indispensable comme guide de la formulation des formes orales solides et pour la mise en évidence de degré de pertinence de l'essai de dissolution.

❖ **Contrôle qualité :**

- Contrôle de la reproductibilité inter lots. Fixation des normes de dissolution.
- Comparaison entre un générique comparaison entre un produit objet d'étude et une référence [9].

III .3. Profil de dissolution :

III .3.1 Définition :

Le profil de dissolution doit être réalisé dans les conditions reproduisant les conditions physiologiques (tractus digestif), en utilisant des préparations de tampons : pH = 1.2 tampon de Hcl, pH 4.5 tampon acétate, et pH 6.8 tampon phosphate.

Si la solubilité du principe actif varie peu en fonction du pH, on prend de l'eau pure ce qui facilite le dosage. Si elle varie en fonction du pH, il faudra prendre un milieu gastrique artificiel, puis un milieu intestinal artificiel.

Le milieu et de faire varier progressivement le pH de 1.2 à 8.0 qui convient le mieux aux conditions physiologiques [10].

III .3.2 Mécanisme de la dissolution :

Le test de dissolution détermine la quantité cumulée du principe actif dissout en fonction du temps. La dissolution d'une forme pharmaceutique implique au moins deux étapes consécutives. Premièrement la libération du principe actif de la forme galénique (désintégration), suivie par la dissolution (solubilisation des particules libérées dans le milieu de dissolution) comme il est montré dans la figure [9] suivante

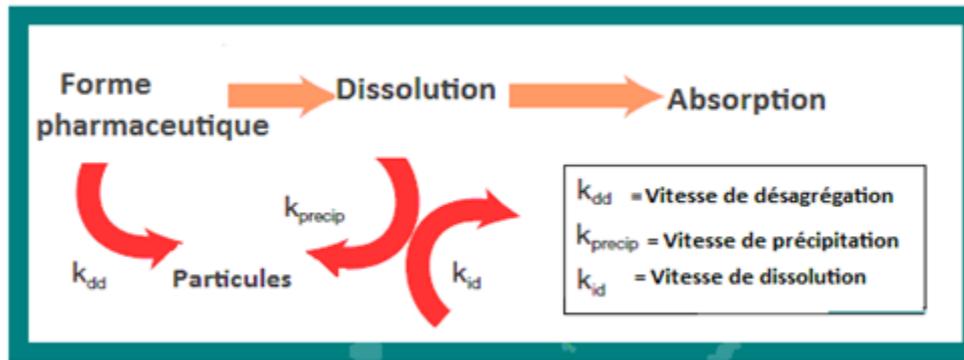


Figure III.4: Le processus de dissolution du principe actif.

III .3.3 La vitesse de dissolution :

La vitesse globale de dissolution dépend de la plus lente de ces deux étapes. Les propriétés de cohésion des particules d'une forme pharmaceutiques solides évaluées lors de la formulation (par exemple : les profils de libérations des granulés pré-comprimés, l'impact de la force de compression, la porosité et la lubrification) jouent un rôle clé dans la première étape de dissolution [10].

Lors de la deuxième étape de dissolution les propriétés physico-chimiques du principe actif, comme sa forme chimique (par exemple : sel, acide libre ou base libre) et la forme physique (par exemple : amorphe ou cristalline) jouent un rôle important lors de la solubilisation des particules [11].

Les facteurs qui influençant la vitesse de dissolution sont présentés dans le tableau :

Tableau III.1 : Les facteurs qui influent la vitesse de dissolution.

Facteur	Effets sur la vitesse de dissolution
Surface de contact solide liquide	La vitesse de dissolution croît avec le degré de division
Viscosité	La viscosité diminue avec la vitesse de dissolution en réduisant la diffusion
Agitation	L'agitation accélère la dissolution en renouvelant le liquide à l'interface
Température	Une élévation momentanée de la température accélère la dissolution L'élévation de la température est contre-indiquée pour les produits volatils et thermolabiles
pH	Dans le cas de la dissolution par ionisation, le pH du milieu est très important (alcaloïdes, phénols, substance amphotères)
Polymorphisme à une température donnée	Un produit est plus soluble à l'état amorphe qu'à l'état cristallin
Substance additives	Les substances ajoutées à un solvant peuvent modifier la solubilité de certains produits

III .3.4 Conditions opératoires de la dissolution :

Les principales conditions opératoires portent sur le milieu de dissolution, à savoir :

- ❖ Volume et la composition (eau distillée, milieu gastrique ou intestinal artificiels).
- ❖ La vitesse d'agitation de la palette ou du panier (de 50 à 120 rotations par minute).
- ❖ Le débit pour de cellule à flux continu.
- ❖ Le mode de prélèvement, le nombre d'essais est généralement six et l'intervalle de prélèvement [12].

III .3.4.1 Milieux de dissolution :

Si la solubilité du PA varie peu en fonction du pH, on prend de l'eau pure ce qui facilite le dosage. Si maintenant la solubilité varie en fonction du pH, il faudra prendre alors un milieu gastrique artificiel, puis un milieu intestinal artificiel. Le mieux est de faire varier progressivement le PH de 1.2 à 8.0 qui convient le mieux aux conditions physiologiques [13].

III .3.4.2 Appareillage :

Trois types d'appareils sont décrits par les pharmacopées pour réaliser le test de dissolution in vitro des formes pharmaceutiques orales solides.

- a. Appareil à palette tournante.
- b. Appareil à panier tournant.
- c. Appareil à cellules flux continu.

a. Méthode de dissolution à palette tournante :

Le récipient contenant le milieu de dissolution est en verre borosilicate. Il est cylindrique à fond hémisphérique. La palette de forme parfaitement définie se trouve dans l'axe du récipient à une distance déterminée du fond. C'est l'appareil qui convient le mieux dans la plupart des cas. L'appareil correspondant à ce type de dissolution est illustré sur la figure.



Figure III.5 : Appareil de dissolution a palette [12].

b. Méthode de dissolution a panier tournant :

La palette est remplacée par un panier cylindrique grillagé dans lequel est placée l'unité à essayer. Cette méthode est adaptée pour les formes galéniques qui flotte talque les gélules et comprimé flottant [12].



Figure III.6 : Panier tournant [12].

c. Méthode de dissolution à cellules flux continu :

Plus rarement, il est possible d'utiliser un appareil a flux continu. Le comprimé est déposé dans une cellule. Une pompe permet de former une pression assez forte pour pouvoir faire traverser le liquide de dissolution de bas en haut à un débit horaire entre 0.3 et 3 litre flottant [13].



Figure III.7 : Appareil de dissolution à cellules flux continu.

Le choix de l'appareil est déterminé par les caractéristiques physicochimiques de la forme pharmaceutique. Toutes les parties métalliques de l'appareil qui peuvent entrer en contact avec l'échantillon ou avec la solution de dissolution doivent être en acier inoxydable approprié ou recouvertes d'un matériau approprié pour garantir que de telles parties ne causent pas de réaction et n'influencent pas l'échantillon ou la solution de dissolution [14].

III .3.5 Influence de la dissolution sur l'absorption :

Une substance médicamenteuse ne peut être résorbée que sous forme dissoute faisant l'étape de dissolution un facteur limitant la résorption. Cependant, les formes non ionisées des médicaments ont une faible hydro-solubilité ce qui limite la résorption [15].

CHAPITRE IV

Partie Expérimentale

L'objectif de ce chapitre est de décrire les méthodes et l'appareillage utilisé, ainsi les résultats obtenus au cours de notre travail.

Ces techniques concernent la validation de la dissolution d'un générique et son application à l'étude cinétique en comparaison à un princeps.

IV.1. Lieu de stage

IV.1.1 Présentation générale de l'entreprise

Ce travail a été réalisé au laboratoire privé algérien de contrôle des produits pharmaceutiques **NOVAPHARM** qui a été fondé en 1995, situé dans la zone industrielle de Bou-Smail wilaya de Tipaza.

L'investissement de la société d'envergure dans le domaine pharmaceutique comprenant une unité de production de différentes formes galéniques qui répond aux exigences les plus strictes en matière de qualité et au standard international de Bonne Pratique de Fabrication (BPF), un laboratoire de recherche et de développement ainsi qu'un laboratoire de contrôle qualité agréé par le Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques (LNCPP).

Le système d'assurance qualité est en conformité avec les référentiels et guides des Bonnes Pratiques de Fabrication des médicaments (national et international). Le département assurance qualité veille en permanence à la qualité des produits fabriqués, ce qui permet à NOVAPHARM de bénéficier de la confiance et de la certification de grands laboratoires internationaux dans un cadre de partenariat de production.



Figure IV.1 : Représentation extérieure de l'entreprise.

IV.1.2 Unités du laboratoire de contrôle de qualité

Le département de contrôle de qualité est subdivisé en plusieurs unités fonctionnelles :

- ✓ Laboratoire de contrôle physico-chimique central.

- ✓ Laboratoire de contrôle microbiologique central.
- ✓ Laboratoire de développement analytique.

IV.1.3 différentes activités des laboratoires de contrôle qualité

- ✓ Mise au point et développement dans des méthodes d'analyse.
- ✓ Réalisation des analyses physico-chimiques et microbiologiques sur les matières premières, articles de conditionnement et les produits finis.
- ✓ Rédaction des comptes rendus d'analyses de contrôle microbiologiques.
- ✓ Suivi des études de stabilité.
- ✓ Rédaction des dossiers analytiques des nouveaux produits et dépôt au niveau de l'ANPP pour l'obtention des AMMs.

IV.2 objectifs du stage

Le présent travail ayant pour objectif, la mise au point et la validation d'une méthode de dissolution du Flavon 500 mg cps pelliculés par UV-visible et vérification de la similarité des profils de dissolutions en comparaison aux princeps Daflon 500 mg dans son milieu de dissolution et dans les milieux de dissolution conventionnels.

IV.3 matériels et méthodes

IV.3.1 matières premières et réactifs

❖ **Matières premières**

➤ Le médicament FLAVON 500mg **NOVAPHARM**

- Composition :

- Principe actif : Diosmine 450mg.
Hespéridine 50mg.

- Excipient :

Comprimé non enrobé carboxyméthylamidon sodique, cellulose microcristalline, gélatine, stéarate de magnésium et le talc.

Pelliculage dioxyde de titane (e 171), glycérol, Laury sulfate de sodium, macrogol 6000, hypromellose, oxyde de fer jaune (e 172), oxyde de fer rouge (e 172), stéarate de magnésium.

Tableau IV.1 : Spécifications du produit fini Flavon 500mg Cps pelliculés.

Test	Normes	Méthodes
Aspect	Comprimé pelliculé oblongue avec une couleur rose	Interne
Masse moyenne	654.6mg à 731.8mg	Interne
Uniformité de masse	La masse individuelle de 2 au plus des 20 unités peut s'écarter de la masse moyenne de plus de 5%, mais la masse d'aucune unité ne peut s'écarter de plus de 10%	Pharmacopée européenne 2.9.40
Identification HPLC	Le temps de rétention de la solution échantillon est identique à celui de la solution standard dans le teste de dosage	Interne Interne (Cf rapport de validation)
Désintégration	≤ 30 min	Pharmacopée européenne
Dosage Diosmine Hespéridine	90 – 110%	Interne Interne (Cf rapport de validation)
Uniformité de dosage par variation de masse	VA < 15%	Pharmacopée européenne
Dissolution par UV Diosmine Hespéridine	≥ 75 (Q) après 2 heures	Interne (Cf rapport de validation)
Substance apparentée Impureté Individuelle Impureté total	≤ 0.2 % ≥ 0.5 %	Interne (Cf rapport de validation)

❖ Réactifs utilisés

Tableau IV.2 : Réactifs.

Réactif	Image
<p><u>Hydroxyde de sodium</u> Formule chimique : NaOH Masse molaire : 40 g/mol Pureté : 98.8% Marque de produit : BIOCHEM</p>	
<p><u>Acide acétique</u> Formule chimique : CH₃COOH Masse molaire : 60.05% Pureté : 99 % Marque de produit : MERCK</p>	
<p><u>Chlorure de potassium</u> Formule chimique : KCl Masse molaire : 74.55 g/mol Pureté : 99.9 % Marque de produit : MERCK</p>	
<p><u>Acide chlorhydrique</u> Formule chimique HCl Masse molaire : 36.458 g/mol Pureté : 99 % Marque de produit : BIOCHEM</p>	
<p><u>Acétate de sodium anhydre</u> Formule chimique CHCOO⁻ Na⁺ Masse molaire : 82.03 g/mol Pureté : 99.9% Marque de produit : SIGMA-ALDRICH</p>	
<p><u>Phosphate mono potassique</u> Formule chimique KH₂PO₄ Masse molaire : 136.09 g/mol Pureté : 98 % Marque de produit : HONEYWELL</p>	

IV.3.2 Equipements et appareillages utilisés

IV.3.2.1 Appareillage

Appareillage

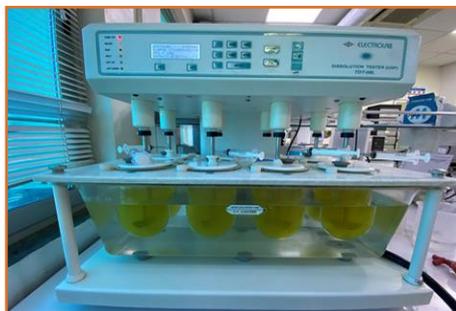


figureIV.2: pH mètre
METLER TOLEDO



figureIV.3: UV-Visible

Perkin Elmer
Lambda25



figureIV.4 : Dissolutest
eLECTRO-LAB USP

TYPE II



figureIV.5 : Balance analytique
RADWAG

IV.3.2.2 Matériels

- Seringues
- Un bécher en verre de 2 l
- Eprouvette de 1000ml graduée classe A
- Pipette de 1ml,5ml et 10ml à trait de jauge classe A
- Fiole de 25ml,50ml;100ml et 1000ml classe A
- Filtre seringue 0.45 μm nylon marque Agilent

IV.3.3 Méthodes

IV.3.3 .1 dissolutions

Cet essai est destiné à déterminer le taux de libération du principe actif à partir de Profil de libération a été mesuré dans un dissolu test conforme à la pharmacopée européenne.

IV.3.3 .1.1 Test de dissolution par UV-Visible

Détection	268 et 285 nm
Cuve UV-Visible	1cm ²
Volume	900mL
Milieu de dissolution	Tampon
Vitesse	100 RPM
Temps	2 heures
Température	37°C ± 0.05°C
Blanc	Tampon

$$\text{Dissolution \%} = \frac{\text{Abs}(ech) * P(std) * 1 * 10 * 100 * 900 * P}{\text{Abs}(std) * 100 * 100 * 50 * 2 * LC}$$

Abs (ech) : absorbance de la solution échantillon

Abs (STD) : absorbance de la solution standard

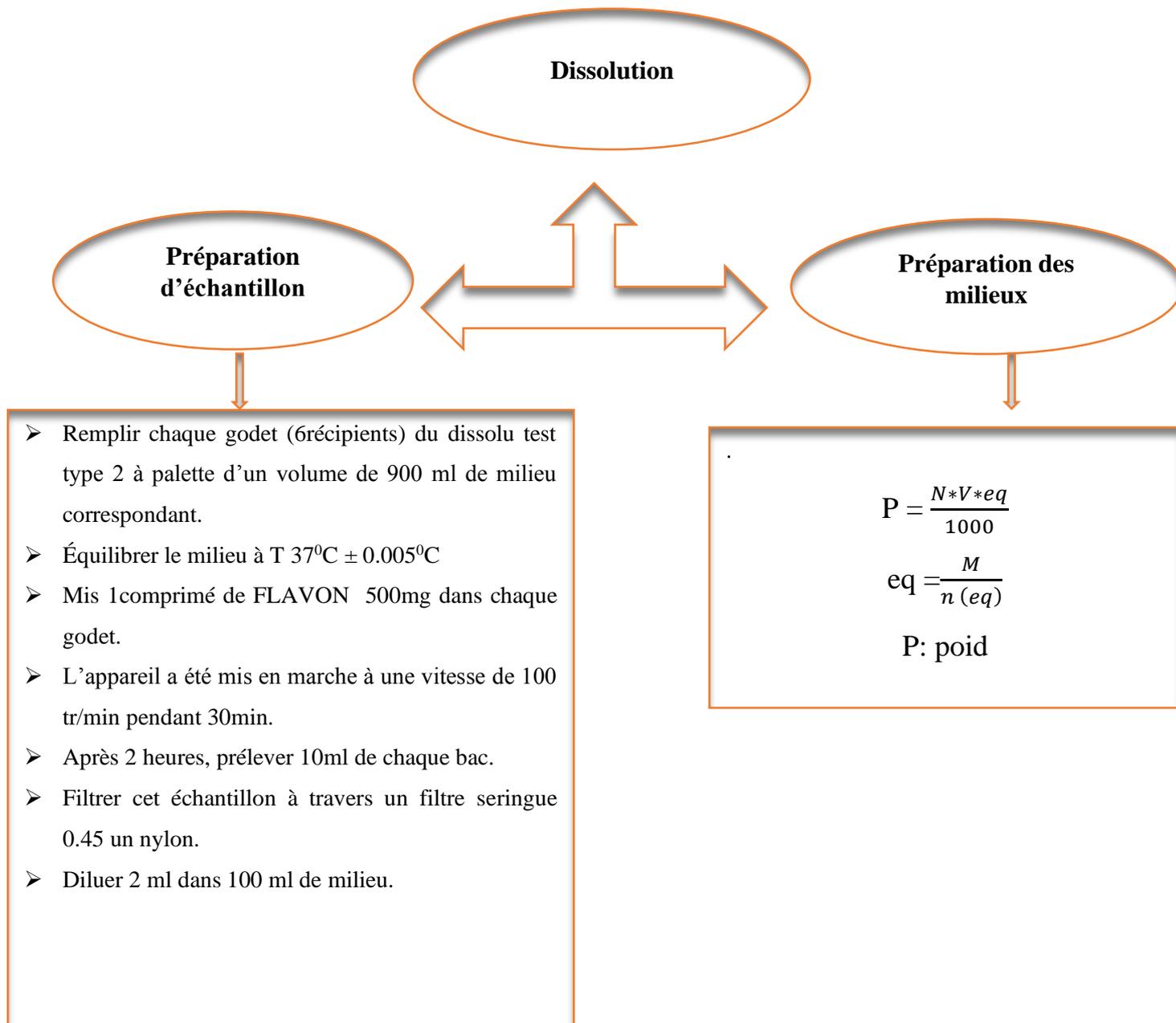
P (STD) : prise d'essai du standard

P : prise du standard en %

LC : teneur théorique

Normes : 75 % (Q) après 2 heures

IV.3.3 .1.2 Procédure



IV.3.3 .1.3 Résultats et discussions

Les tableaux suivants présentent les résultats de dissolution d'échantillon et du princeps dans son milieu dédié.

Tableau IV.3 : Résultats de dissolution d'échantillon Flavon.

N ^o	Prise d'essai (mg)	Masse étalon Dios (mg)	Masse étalon Hesp (mg)	Abs témoin Dios à 268	Abs témoin à 285 Hesp	Abs essai à 268 Dios	Abs essai à 285 Hesp	T% Dios	T% Hespéri
1	714.9	450.00	50.2	0.4461	0.3081	0.5616	0.3749	101.0	98.9
2	699.00	450.00	50.2	0.4461	0.3081	0.5748	0.3324	103.4	87.8
3	717.00	450.00	50.2	0.4461	0.3081	0.5256	0.3655	94.5	96.4
4	723.50	450.00	50.2	0.4461	0.3081	0.5187	0.3544	93.3	93.5
5	700.50	450.00	50.2	0.4461	0.3081	0.5593	0.3454	100.6	91.1
6	720.60	450.00	50.2	0.4461	0.3081	0.5266	0.3232	94.7	85.3
Moyenne								97.91	92.15

Tableau IV.4 : Résultats de dissolution du princeps Daflon.

N ^o	Prise d'essai (mg)	Masse étalon Diosmine (mg)	Masse étalon Hespéridine (mg)	Abs témoin à 268	Abs témoin à 285	Abs essai à 268	Abs essai à 285	T% Diosmine	T% Hespéridine
1	711.9	450.00	50.2	0.4461	0.3046	0.5526	0.3709	99.4	97.8
2	719.3	450.00	50.2	0.4461	0.3046	0.5670	0.3680	102.0	97.1
3	709.20	450.00	50.2	0.4461	0.3046	0.5532	0.3545	99.5	93.5
4	711.10	450.00	50.2	0.4461	0.3046	0.5616	0.3700	101.0	97.6
5	711.80	450.00	50.2	0.4461	0.3046	0.5592	0.3751	100.6	99.0
6	708.10	450.00	50.2	0.4461	0.3046	0.5695	0.3592	102.4	94.8
Moyenne								100.81	96.63

❖ **Interprétation**

Les tableaux présentent les résultats de dissolution du Flavon 500 mg et du Daflon 500 mg.

La valeur moyenne de teneur de Diosmine égale à 97.91% et d'Hespéridine égale à 92.15% dans Flavon.

Ces valeurs sont conformes aux normes exigées par le pH. EUR >80% pour la forme conventionnelle.

IV.3.3.2 Validation**IV.3.3.2.1 Préparation des solutions****Solution standard**

Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser exactement une quantité de 450 mg de Diosmine et 50 mg d'hespéridine.

-ajouter 20 ml de milieu de dissolution ,passer à l'ultrason pendant 5 min.

-Laisser refroidir puis compléter au volume avec le même solvant jusqu'a trait de jauge.

-diluer 1ml de la solution précédente dans 100 ml de milieu et de cette solution prélever 10 ml dans 50ml de milieu (solution standard finale)

Solution d'échantillon

Elle représente la forme pharmaceutique reconstituée contenant le principe actif et le placebo.

-Prendre 6 comprimés et les mettront individuellement dans chaque bac du dissolution préalablement remplis par 900 ml de milieu de dissolution et chauffés à $37\text{ °C} \pm 0.005\text{°C}$.

-Après 2 heures, prélever 10ml de chaque bac.

-Diluer 2 ml dans 100 ml de milieu de dissolution.

-filtrer un volume de chaque en utilisant des filtres seringues Nylon 0.45 um,saturer le filtre en éliminant les premiers 10 ml de filtration.

Placébo :

-prpéarer un comprimé de placebo ayant le meme poids du produit fini contenant tous les excipients à l'exception des 02 PA_s.

-procédéé de préparation est du même manière de préparation de l'échantillon.

IV.3.3.2.2 Les paramètres d'une validation analytique

Les paramètres validés dans notre travail sont les suivants :

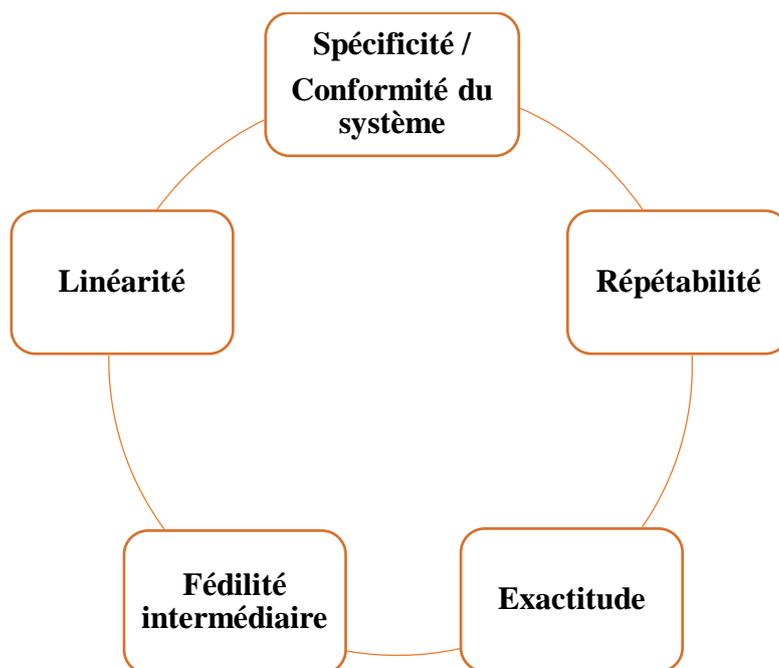


Figure IV.6 : Les paramètres de validation.

- **Spécificité et conformité de système**

La spécificité consiste à démontrer la sélectivité de la méthode à la molécule recherchée, et garantir qu'il n'y a pas d'interférences des excipients avec le principe actif dans la même longueur d'onde dans le spectre UV-Visible.

Le blanc, la solution d'échantillon, solution standard et solution placebo ont été préparés comme décrit précédemment.

- **Linéarité**

La linéarité consiste à démontrer la proportionnalité linéaire du détecteur dans la plage de travail.

Préparation de 5 standards qui ont 5 concentrations différentes 80%,90%,100%,110% et 120%.

Ainsi que l'utilisation d'un seul standard et n'ont pas d'une droite de calibration pour les analyses de routine ce qu'est un gain pour l'entreprise en temps et en cout d'analyse.

- ❖ **Préparation de la gamme de linéarité sur les 02 principes actifs :**

Peser le Diosmine et l'Hespéridine selon le niveau de linéarité (de 80 % à 120 %), en suivant le reste de la procédure.

TableauIV.5 : solutions pour linéarité sur standard Diosmine.

Niveau de linéarité	Prises d'essai du STD (mg) de Diosmine
80,0%	360
90,0%	405
100,0%	450
110,0%	495
120,0%	540

TableauIV.6 : solutions pour linéarité sur standard Hespéridine.

Niveau de linéarité	Prises d'essai du STD (mg) d'hespéridine
80,0%	40
90,0%	45
100,0%	50
110,0%	55
120,0%	60

- **Répétabilité**

La répétabilité du système doit être évaluée. L'analyste dose une solution de standard 4 fois et l'échantillon 6 fois à la concentration cible.

Cet essai est destiné à déterminer que l'erreur relative RSD commise est inférieure à 5% lors d'une série d'analyse de 6 échantillons préparés séparément.

$$\text{RSD \%} = 100 * S / M_{\text{moy}}$$

Avec :

RSD % : l'écart type relatif.

S : l'écart type.

M_{moy} = la masse moyenne.

- **Fidélité intermédiaire (Reproductibilité)**

Le test de fidélité prouve qu'il y a une reproductibilité des mêmes résultats, en changeant les analystes et les jours d'analyse.

A chaque essai on analyse avec le spectrophotomètre UV-Visible :

- ✓ Une fois le blanc
- ✓ 4 fois la solution standard
- ✓ 4 fois échantillons

- **Exactitude**

Cet essai permet de mesurer l'écart entre la valeur cible et résultat trouvé <5%, il est en valeur absolue.

IV.3.3.2.3 Résultats et discussions

✓ **Spécificité / conformité de système**

Les solutions ont été analysées par le spectrophotomètre UV-Visible dans le domaine 250nm et 400 nm. Les spectres sont présentés ci-dessous :

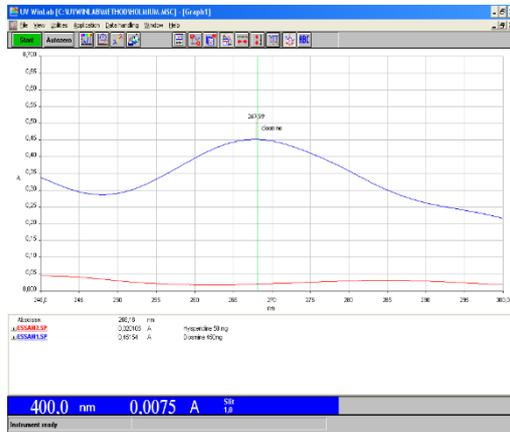


Figure IV.7: Spectre UV-V PADiosmine.

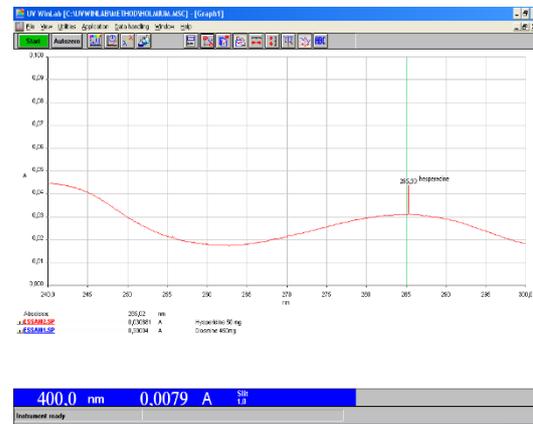


Figure IV.8 : spectre UVPA Hespéridine.

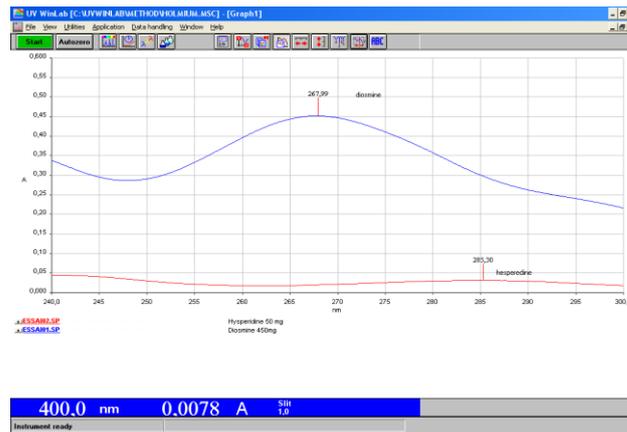


Figure IV.9: Scan UV-V des PAs.

❖ **Interprétation**

Dans notre étude nous avons trouvé que :

Le spectre du Flavon montre un pic d'absorbance intégrer avec une longueur d'onde $\lambda=268\text{nm}$ pour le principe actif Diosmine et un pic à $\lambda=285\text{nm}$ d'Hespéridine.

La solution standard et la solution échantillon montre des spectres UV superposables.

La solution blanche ainsi que la solution de placebo ne montrent aucune interférence à la longueur d'onde des deux PA.

On déduit que la méthode est spécifique à son domaine d'application.

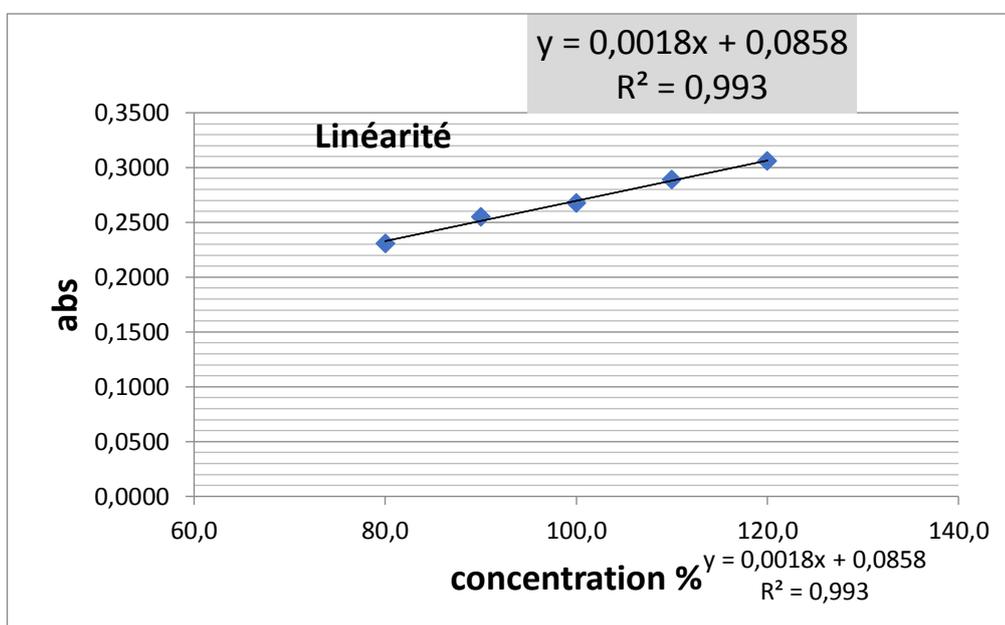
✓ **Linéarité**

❖ **Linéarité sur principe actif Diosmine**

Tableau IV.7 : Résultat de l'étude de la linéarité sur Diosmine.

Désignation	Abs	PE (mg)	Moyenne	Concentration (%théorique)	Concentration (%réel)	BIAIS	BIAIS MOYEN
STD 80%	0.2315	200	0.2309	80	90.6	90.6	<u>102.5</u>
STD 80%	0.2318						
STD 80%	0.2310						
STD 80%	0.2307						
STD 80%	0.2306						
STD 90%	0.2514	225	0.2250	90	95.3	105.9	
STD 90%	0.2544						
STD 90%	0.2583						
STD 90%	0.2594						
STD 90%	0.2514						
STD 100%	0.2660	250	0.2675	100	100	100.00	
STD 100%	0.2680						
STD 100%	0.2673						
STD 100%	0.2674						
STD 100%	0.2684						
STD 110%	0.2888	275	0.2889	110	108.03	98.2	
STD 110%	0.2889						
STD 110%	0.2889						
STD 110%	0.2889						
STD 110%	0.2890						
STD 120%	0.3062						

STD 120%	0.3056	300	0.3059	120	114.37	95.31	
STD 120%	0.3057						
STD 120%	0.3058						
STD 120%	0.3060						



FigureIV.7 : Droite de linéarité sur PA Diosmine.

❖ **Interprétation**

Les résultats de la linéarité de Diosmine sont regroupés dans le tableau. Nous constatons que la valeur de Biais moyen est de 102.5%. De ce fait, nous pouvons conclure que ce résultat est conforme à la norme [97.5%-102.5%].

D’après les résultats de la droite de linéarité sur PA Diosmine, on tient compte la valeur de $R^2 = 0.993$ pour cela nous pouvons conclure que ce résultat est conforme à la norme $1 < R^2 < 0.98$.

❖ Linéarité sur principe actif Hespéridine :

Tableau IV.8 : Résultat de l'étude de linéarité sur Hespéridine

Désignation	Abs	PE	Moyenne	Concentration (%théorique)	Concentration (%réel)	BISIAS	BIAIS MOYEN
STD 80%	0.1529	21.5	0.1528	80	83.0	103.8	<u>100.7</u>
STD 80%	0.1525						
STD 80%	0.1530						
STD 80%	0.1527						
STD 80%	0.1527						
STD 90%	0.1640	24.4	0.1660	90	92.2	100.3	
STD 90%	0.1683						
STD 90%	0.1680						
STD 90%	0.1666						
STD 90%	0.1663						
STD 100%	0.1855	27.2	0.1840	100	100.00	100.00	
STD 100%	0.1834						
STD 100%	0.1832						
STD 100%	0.1836						
STD 100%	0.1844						
STD 110%	0.2004	29.8	0.2005	110	108.93	99.0	
STD 110%	0.2005						
STD 110%	0.2004						
STD 110%	0.2005						
STD 110%	0.2005						
STD 120%	0.2200	32.7	0.2221	120	120.67	100.56	
STD 120%	0.2200						
STD 120%	0.2298						
STD 120%	0.2202						
STD 120%	0.2203						

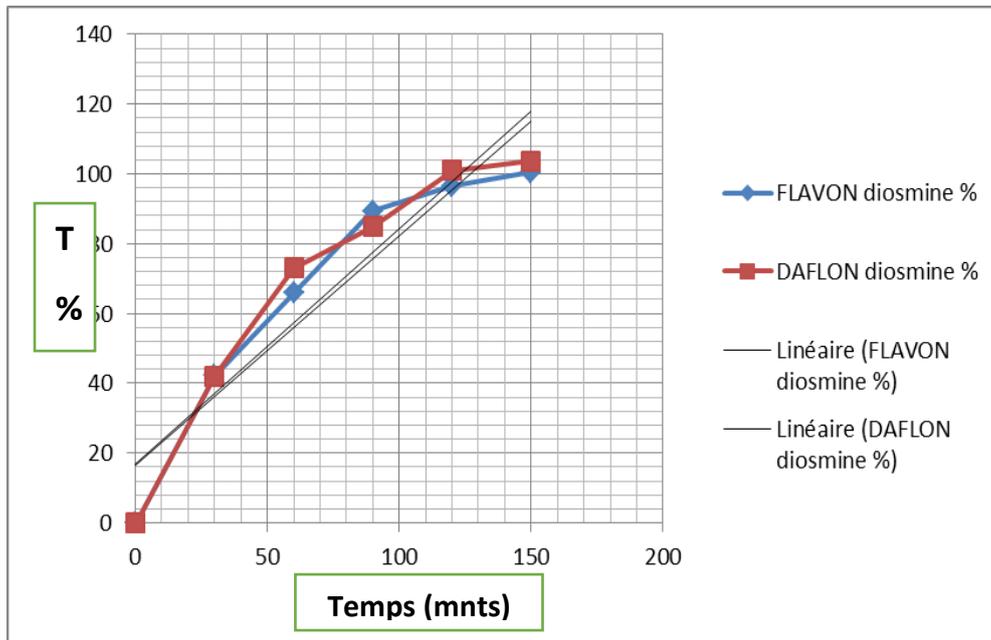


Figure IV.8: Cinétique de dissolution du produit

❖ Interprétation

Les résultats de la linéarité de système d'Hespéridine sont regroupés dans le tableau. Nous constatons que la valeur de Biais moyen est de 100.7%. De ce fait, nous pouvons conclure que ce résultat est conforme à la norme [97.5%-102.5%]

Les résultats de linéarité sur PA Hespéridine sont présentés dans la figure (), nous admirons que la valeur de $R^2 = 0.9938$. Pour cette raison, nous pouvons résoudre que ce résultat est conforme à la norme.

✓ Répétabilité

Tableau IV.9 : Résultats obtenus de l'étude de répétabilité sur 6 échantillons

N° CP	Masse Essai (mg)	Masse Etalon (mg) Dios	Masse Etalon (mg) Hesp	Abs Témoin Dios à 268	Abs Témoin Hesp à 285	Abs Essai à 268	Abs Essai 285	T (%) Dios	T (%) Hesp
1	711,7	250,6	27,3	0,2462	0,1754	0,2551	0,174 5	99,5	90,8
2	689	250,6	27,3	0,2462	0,1754	0,2587	0,178 5	100,9	92,9
3	682,9	250,6	27,3	0,2462	0,1754	0,2644	0,184 6	103,2	96,1
4	689,8	250,6	27,3	0,2462	0,1754	0,2681	0,186	104,6	96,8
5	696,8	250,6	27,3	0,2462	0,1754	0,2687	0,186 7	104,9	97,2
6	688,4	250,6	27,3	0,2462	0,1754	0,2687	0,186 3	104,9	97
MOYENNE								103	95,1
ECART TYPE								2,26	2,64
COEFFICIENT DE VARIATION								2,2	2,77
MAX								104,85	97,17
MIN								99,54	90,82

❖ **Interprétation**

D'après les résultats des tableaux de l'étude de répétabilité, nous observons que les valeurs moyennes de la teneur des deux principes actifs Diosmine et Hespéridine après 2H sont 103.0% ,95.1% respectivement sont admis à l'intervalle des normes.

A partir des résultats de répétabilité sur les deux standards sont présentés dans les tableaux précédant, on a la valeur de RSD% le cas d'Hespéridine est égal à 1.668 %, et la valeur de RSD% le cas d'Diosmine est égale à 1.339%, ces valeurs sont inférieures à 5%

Ont conclu que la méthode de dosage de Diosmine et Hespéridine dans Flavon 500mg est répétable.

- ✓ Fidélité intermédiaire
- ❖ Fidélité intermédiaire (Jour1)

Tableau IV.10 : Résultats obtenus sur l'étude de fidélité d'échantillon de deux essais de 1^{er} jour.

Désignation	Masse Etalon (mg) Dios	Masse Etalon (mg) Hesp	Abs Témoin 268	Abs Témoin 285	Abs à 268	Surface Essai 285	T (%) Dios	T (%) Hesp
Essai1(A1)	250,60	27,3	0,2551	0,1703	0,2640	0,1791	101,7	98,2
Essai1(A1)	250,60	27,3	0,2551	0,1703	0,2640	0,1791	101,7	98,2
Essai1(A1)	250,60	27,3	0,2551	0,1703	0,2637	0,1789	101,6	98,1
Essai1(A1)	250,60	27,3	0,2551	0,1703	0,2660	0,187	102,5	102,5
MOYENNE							101,8	99,2
Essai1 A2)	250,10	27	0,2674	0,1794	0,2750	0,1904	100,8	98,0
Essai1(A2)	250,10	27	0,2674	0,1794	0,2746	0,1905	100,7	98,1
Essai1(A2)	250,10	27	0,2674	0,1794	0,2750	0,1908	100,8	98,2
Essai1(A2)	250,10	27	0,2674	0,1794	0,2750	0,1911	100,8	98,4
MOYENNE							100,8	98,2
ecartype (A1)							0,41	2,18
ecartype (A2)							0,07	0,16
RSD (A1)							0,40	2,20
RSD (A2)							0,07	0,17

Tableau IV.11 : résultats obtenus sur l'étude de fidélité des deux standards de 1^{er} essai de 1^{er} jour.

N°	Abs Témoin Dios 268	N°	Abs Témoin Hesp 285
STD01	0,2544	STD01	0,1706
STD02	0,2546	STD02	0,1683
STD03	0,2556	STD03	0,1711
STD04	0,2556	STD04	0,1712
MOYENNE	0,2551	MOYENNE	0,1703
ECART TYPE	0,001	ECART TYPE	0,001
RSD%	0,25	RSD%	0,80

Tableau IV.12 : Résultat obtenus sur l'étude de fidélité des deux STD de 2^{-ème} essai de 1^{er} jour.

N°	Abs témoin Dios 268	N°	Abs témoin Hesp 268
STD01	0,2647	STD01	0,1818
STD02	0,2678	STD02	0,185
STD03	0,2682	STD03	0,1746
STD04	0,2689	STD04	0,176
MOYENNE	0,2674	MOYENNE	0,1794
ECART TYPE	0,002	ECART TYPE	0,005
RSD%	0,69	RSD%	2,73

❖ Interprétation

D'après les tableaux de fidélité intermédiaire analysé nous avons trouvé que :

Les teneurs des principes actifs Diosmine, Hespéridine dans le comprimé Flavon 500 mg sont 100.8 et 98.2 respectivement.

D'après ces résultats, les teneurs moyennes des PA_s interviennent à la norme. L'écart type relatif (RSD %) de notre standard Diosmine de 1^{er} essai de 1^{er} jour est égale à RSD% = 0.25 et l'écart type relatif de notre standard Hespéridine de 1^{er} essai de 1^{er} jour est égal à RSD% = 0.80.

On remarque que ces dernières valeurs de RSD% sont dans les limites d'acceptation de 2.0%

Pour cette raison, On conclue que la méthode de dosage de Diosmine et Hespéridine dans Flavon 500 mg est fidèle et conforme.

❖ Fidélité intermédiaire (Jour2)

Tableau IV.13 : Résultat obtenus sur l'échantillon de deux essais de 2^{ème} jour.

Désignation	Masse Etalon (mg) Dios	Masse Etalon (mg) Hesp	Surface Témoin 268	Surface Témoin 285	Surface à 268	Surface Essai 285	T (%) Dios	T (%) Hesp
Essai1(A1)	250,40	27,5	0,2664	0,1651	0,2540	0,1738	93,6	99,0
Essai1(A1)	250,40	27,5	0,2664	0,1651	0,2563	0,1742	94,5	99,2
Essai1(A1)	250,40	27,5	0,2664	0,1651	0,2563	0,174	94,5	99,1
Essai1(A1)	250,40	27,5	0,2664	0,1651	0,2562	0,1739	94,4	99,1
MOYENNE							94,2	99,1
Essai1(A2)	250,30	27,2	0,2647	0,1689	0,2561	0,1728	93,5	99,0
Essai1(A2)	250,30	27,2	0,2647	0,1689	0,2570	0,1738	93,5	99,0
Essai1(A2)	250,30	27,2	0,2647	0,1689	0,2579	0,1747	93,5	99,0
Essai1(A2)	250,30	27,2	0,2647	0,1689	0,2584	0,1752	93,5	99,0
MOYENNE							93,46	99,02
ecartype (A1)							0,418	0,097
ecartype (A2)							0,000	0,000
RSD (A1)							0,444	0,098
RSD (A2)							0,000	0,000

Tableau IV.14: résultats obtenus de l'étude de fidélité sur les deux STD de 1^{er} essai de 2^{ème} jour.

N°	Abs Témoin Dios 268	N°	Abs Témoin Hesp 285
STD01	0,2641	STD01	0,1651
STD02	0,269	STD02	0,1671
STD03	0,2662	STD03	0,1643
STD04	0,2661	STD04	0,1638
MOYENNE	0,2664	MOYENNE	0,1651
ECART TYPE	0,002	ECART TYPE	0,001
RSD%	0,76	RSD%	0,88

Tableau IV.15 : Résultat obtenus de l'étude de fidélité sur les deux STD de 2^{ème} essai de 2^{ème} jour.

N°	Abs Témoin 268	N°	Abs Témoin 285
STD01	0,2696	STD01	0,1669
STD02	0,2611	STD02	0,1677
STD03	0,2641	STD03	0,1703
STD04	0,2639	STD04	0,1705
MOYENNE	0,2647	MOYENNE	0,1689
ECART TYPE	0,004	ECART TYPE	0,002
RSD%	1,34	RSD%	1,08

Tableau IV.16 : Résultat obtenus de l'étude de fidélité sur les deux STD

	Hespéridine	Diosmine	
SOMME ECARTYPE AU CARRE	4,808	0.347	
SOMME ECARTYPE AU CARRE/3	1,60	0.12	
S intra	1,27	0.34	
RSD INTRA %	1,28	0.348	
ECARTYPE DES Y par série au carré	0,232	0.048	0.219
(ECARTYPE DES Y par série au carré intra au carré) /4	-0,343	-0.017	0.092
S Inter	0,30	0.30	
RSD INTER %	0,31	0.31	0.219
S TOT	1,229	0.153	0.092
RSD TOT %	1.243	0.157255777	
PR	98.9	97.6	
EXACTITUDE %	1.1	2.4	

❖ **Interprétation :**

D'après les résultats obtenus sur l'échantillon de deux essais de 2^{ème} jour, nous avons trouvés que les teneurs % de Diosmine et Hespéridine sont 93.46%, 99.02% respectivement. D'après ces résultats, les teneurs moyennes des PA_s sont supérieures à 80%.

D'après les résultats obtenus sur les deux standards Diosmine et Hespéridine de 1^{er} essai, nous avons trouvés que les RSD % sont égale à 0.76, 0.88 respectivement.

Et d'après les résultats des deux standards Diosmine et hespéridine de deux essais de 2^{ème} jour, nous avons les valeurs des écarts types relatifs sont égale à 1.34, 1.08 respectivement.

D'après les résultats de tableau obtenus par la fidélité sur les PA_s, les valeurs de RSD% intra, RSD% inter, RSD% totale sont inférieure à 2%.

La valeur d'exactitude d'Hespéridine est 1.1% et la valeur de Diosmine 2.4%, les valeurs sont à $\leq 5.0\%$

On conclue que la méthode est fidèle et exacte.

IV.3.3.3 Etude de profil de dissolution

Dans cette partie d'étude, les comparaisons des profils de dissolution du Flavon dans le milieu dédié et les trois milieux à pH différents (selon les recommandations de l'OMS) sont réalisées par une technique spectrophotométrie UV-Visible.

❖ Les milieux de dissolution utilisés sont :

- Milieu tampon
- pH 1.2 : tampon HCl
- pH 4.5 : tampon acétate
- pH 6.8 : tampon phosphate

IV.3.3.3.1 Préparations des milieux tampons

Tampon Acétate pH=4.5
*Dans une fiole de 1000ml, une masse de 2.99g.
*CH₃COO⁻ Na⁺ a été dissoute dans l'eau purifiée.
*Ajuster pH=4.5 avec CH₃COOH 2N.
*compléter jusqu'à trait de jauge avec l'H₂O purifiée.

Tampon Acide Ph=1.2
*14.91g de KCL dissoute dans 1000 ml d'H₂O purifiée.
*50ml de cette solution mis dans une fiole de 200 ml. contenant 85 ml d'une solution d'HCl 0.2M.
*compléter jusqu'à trait de jauge avec l'H₂O purifiée.

Tampon Phosphate Ph=6.8
* 250 ml d'KH₄ PO₄ 0.2M mis dans une fiole de 1000ml.ajouté 112ml d'HCl 0.2M.
*compléter jusqu'à trait de jauge avec l'H₂O purifiée.

IV.3.3.3.2 Solution échantillon

La préparation des solutions des échantillons pour l'étude cinétique est la même préparation des échantillons de test de dissolution.

IV.3.3.3.3 Résultats et discussions

- Les résultats présentent les pourcentages de dissolution de Flavon 500mg dans son milieu de dissolution dédié.

Afin de tracer les profils de dissolutions, nous avons calculé la moyenne de pourcentage de dissolution de notre médicament.

Tableau IV.17: pourcentage de teneurs moyennes de Diosmine dans l'échantillon et dans le princeps.

Temps (mnt)	Diosmine % Flavon	Diosmine % Daflon
0	0	0
30	42,2	42,1
60	65,8	73,0
90	89,4	84,9
120	96,5	101,0
150	100,4	103,6

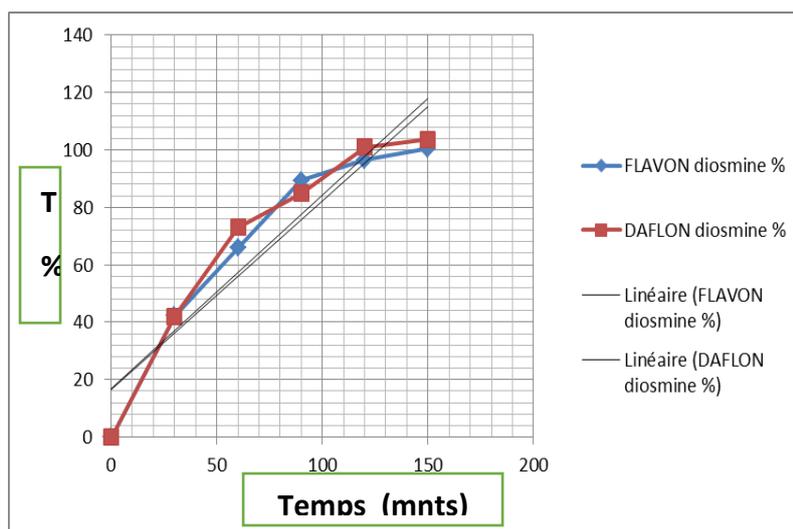


Figure IV.12 : Cinétique de dissolution du produit.

❖ Interprétation :

Le tableau montre la cinétique de dissolution du produit qui commence dès les premières minutes. La libération du PA commence avec un pourcentage de dissolution jusqu'à 42.2% au bout de 30 minutes. On observe une augmentation de pourcentage de dissolution jusqu'à 96.5% après 120 minutes pour qu'il atteigne 100.4% en 150 minutes.

D'après la figure, on remarque que le graphe de Diosmine dans le Flavon est similaire avec le graphe de Diosmine dans le Daflon. Les résultats sont conformes à la norme.

Tableau IV.18 : Pourcentage de teneurs moyennes d'Hespéridine dans l'échantillon et dans le princeps.

Temps	FLAVON HESPEREDINE %	DAFLON HESPEREDINE %
0	0	0
30	41,3	43,4
60	72,1	70,9
90	88,9	84,3
120	91,3	96,2
150	102,5	101,3

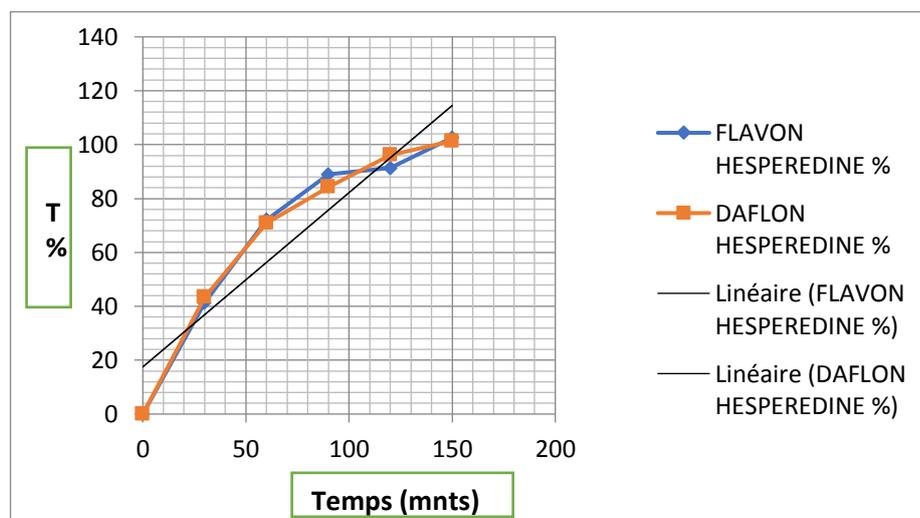


Figure IV.12 : Cinétique de dissolution du produit.

❖ Interprétation

Le tableau montre la cinétique de dissolution du produit qui commence dès les premières minutes. La libération du PA commence avec un pourcentage de dissolution jusqu'à 41.3% au bout de 30 minutes. On observe une augmentation de pourcentage de dissolution jusqu'à 91.3% après 120 minutes pour qu'il atteigne 102.5% en 150 minutes. D'après la figure, on remarque que le graphe d'Hespéridine dans le Flavon est similaire avec le graphe d'Hespéridine dans le Daflon, ce qui nous permet de dire que les résultats sont conformes à la norme.

Tableau IV.19: Résultats de l'étude cinétique d'échantillon dans les milieux conventionnels

pH	Diosmine %	Hespéridine %
1.2	26.8	24.7
4.5	31.6	24.9
6.8	38.6	43.2

Tableau IV.20: Résultats de l'étude cinétique du princeps dans les milieux conventionnels

pH	Diosmine %	Hespéridine %
1.2	28.6	26.7
4.5	35.0	30.2
6.8	39.8	47.3

❖ **Interprétation**

On constate que le Flavon et le Daflon ne libèrent pas les deux PA_s aux 03 milieux de dissolutions conventionnels pH1.2-4.5 et 6.8

La réglementation en vigueur dans l'industrie pharmaceutique, est stricte et complexe afin de protéger au maximum les patients mais aussi les entreprises elles-mêmes. Le contrôle et la validation des méthodes sont essentiels pour la commercialisation des médicaments.

Toute méthode appliquée au contrôle qualité de médicaments doit être validée conformément aux normes internationales, celle-ci fait partie d'une part du système d'assurance qualité qui a pour principale mission de veiller sur la qualité du médicament, d'autre part ; elle aussi est une exigence réglementaire et la phase ultime avant sa mise en routine.

La validation des procédures analytiques est aujourd'hui un principe accepté et utilisé dans tous les domaines d'activité et générateurs de résultats de mesures. L'objectif principal de notre étude a été de mettre au point et de valider une méthode de dissolution de médicament Flavon dans des comprimés de 500 mg par spectrophotométrie UV-Visible, par application d'une stratégie basée sur l'étude des critères de la validation analytique selon les normes décrites dans la conférence internationale d'harmonisation (ICH). Les principaux résultats obtenus durant ce travail sont résumés comme suit :

- La libération du PA commence avec un pourcentage de dissolution jusqu'à 42.2% au bout de 30 minutes. On observe une augmentation de pourcentage de dissolution jusqu'à 96.5% après 120 minutes pour qu'il atteigne 100.4% en 150 minutes.
- D'après les résultats obtenus sur l'échantillon de deux essais de 2^{ème} jour, nous avons trouvé que les teneurs (%) de Diosmine et Hespéridine sont 93.46%, 99.02% respectivement
- Les teneurs des principes actifs Diosmine, Hespéridine dans le comprimé Flavon 500 mg sont 100.8 et 98.2 respectivement (admis à l'intervalle des normes).
- L'écart type relatif (RSD %) de notre standard Diosmine de 1^{er} essai de 1^{er} jour est égale à $RSD\% = 0.25$ et l'écart type relatif de notre standard Hespéridine de 1^{er} essai de 1^{er} jour est égal à $RSD\% = 0.80$.
- les valeurs de RSD% obtenu pour l'Hespéridine et Diosmine est égal à 1.668 % et 1.339%, respectivement

Selon les résultats obtenus de la conformité de système/ spécificité, linéarité, répétabilité, fidélité et exactitude, la méthode de dissolution dans les comprimés de 500mg

Le spectrophotomètre UV-Visible est jugé valide et elle peut être utilisée en routine par les laboratoires de contrôle qualité pharmaceutique NOVAPHARM.

En perspectives nous envisageons

- Appliquer cette méthode de dissolution à d'autres médicaments
- Adaptation des nouvelles méthodes de dissolution pour d'autres formes médicamenteuses

- [1]: MANSOURI. Réglementation des produits pharmaceutiques. Cour de la faculté d'Alger de Médecine.6ème année de Pharmacie. 2014-2015.
- [2]: Article 170 du journal officiel de la République Algérienne. Loi n°85-05 du 16 Février 1985.Chadli BEN DJEDID.
- [3]: WOUESSI DJEWE Denis. pharmacie galénique : voies d'administration et formes pharmaceutiques.Université Joseph Fourier de Grenoble .2011-2012.
- [4]: VANDAMME. T, RIVAL. Y, PABST Jean-Yves, HEITZ Christiane. Initiation à la connaissance du médicament. 2010.
- [5]: PEBRET François, dictionnaire de pharmacologie générale, heur de France 7ème édition. PARIS .2005
- [6]: ZOUANTI Zoulikha. L'accès aux médicaments en Algérie : une ambiguïté entre les brevets des multinationales et le marché du générique. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Economiques. ALGERIE. 2013. (Ahid et Cherrah, 2009)
- [7]:HEDDOUCHE Asma, NEBCHI Imene. Misse au point et validation d'un protocole de dissolution d'un comprimé : MEBEVERINE-SAIDAL® Comprimé enrobé à 100mg. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme du master UMBB.2015-2016
- [8] : LE HIR Alain ,CHAUMEIL Jean-Claude, BROSSARD Denis. Pharmacie galénique. Bonnes pratiques de fabrication des médicaments. 9eme édition.
- [9]: Assurances de la qualité des produits pharmaceutiques, 1998.OMS volume1.
- [10]: Article 172 du journal officiel de la République Algérienne. Loi n°85-05 du 16 Février 1985. Chadli BEN DJEDID.
- [11] :VO Myriam.les comprimés, une forme d'avenir ?le diplôme d'état de docteur en pharmacie .Université de LORRAINE.2015.
- [12] :DUBALD Marion. étude et criblages des paramètres d'un procédé d'enrobage enturbine. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie .université de limoges année2016.
- [14]: BENIAICH Ghada. étude de stabilité de l'amoxiciline et l'acide clavulanique. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de master.
- [15] : Qu'est ce que la pharmacopée agence nationale de sécurité des médicaments et des

produits de santé. Pharmacopée française 11e édition (2015).

[16] : http://www.homeopathie-allopathietpe.sitew.fr/L_allopathie.C.htm#L_allopathie.C.

[17] : [En ligne] [Citation : 7 6 2022.] <https://ansm.sante.fr/documents/referance/repertoire-des-medicaments>.

[18] : Abdel-Raheem IT, Abdel-Ghany AA. Hesperidin alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. Egypt Natl Canc Inst. SS(2009).

[19] : Walle T (2004) Absorption and metabolism of flavonoids. Free Radic Biol Med 36 (7):829-37.

[20] : Conditoonnement j.delamare ,2002.dictionnaire illustré des termes de médecine : 30ème édition.maloine,paris.

Chapitre02

[1] :Slimani,S.,Zalouk,T.,& Zerbout,H., mise au point et validation d'une méthode de dosage de furosémide dans des comprimés de 40 mg par la chromatographie liquide à haute performance, (2019),27-28,8-9,12-13

[2] :Mimoun,N.,&Saraoui,N.,validation analytique d'une méthode de dosage du diclofénac de sodum dans les suppositoires à 100 mg par HPLC .application de la démarche harmonisé ;(2016),15-16.

[3] :Bekka.S,Tifaoui.K, validation de méthode de dosage pharmaceutique :application au dosage des parabènes dans maxilase et au dosage du saccharose dans Rhinathiol,Université Abderrahmane Mira De Bejaia,(2014),8-9,5-6.

[4] :Feinberg,M.,validation interne des méthodes d'analyse.ed.technique ingénieur,(2001),224-4

[5] :Pinguet,..i.,validation analytique :application de la procédure SFSTP 2003-2006 au domaine de la phytothérapie.sciences pharmaceutiques,(2015),14-15

[6] :Boukhalfa.I.,Belkhalfa.O,validation d'une méthode analytique physico-chimique selon l'ich,université frères mentouri constantine 1 (2019),9-10,20-21

[7] :Kadi,B.,Messaad,A., & Ingrarachen,Y, les différentes approches de validation analytique en industrie pharmaceutique :étude comparative et application au dosage du piroxicam dans des comprimés de 20 mg , (2020),11-12.

[8] :Slimani,S.,Zalouk,T.,& Zerbout,H., mise au point et validation d'une méthode de dosage de furosémide dans des comprimés de 40 mg par la chromatographie liquide à haute performance,(2019),27-28,8-9,12-13

[9] :Ait Taleb,K., & Bellik ,M.,validation d'une méthode de dosage du bisoprol fumarate dans

des comprimés de 5 mg par HPLC (doctoral dissertation, ummto), 2017, 9-10.

[10] : Harrache, Z., Atmane, G. suivi de fabrication et étude comparative en contrôle qualité des comprimés d'un générique et d'un princeps de Sulfaméthoxazole/Triméthoprim 400mg/80mg, université A.M.Oulhadj-Bouira, (2017) 12-13.

[11] : Attjioui, H., étude de stabilité et dosage des produits de dégradation de l'amoxicilline par chromatographie liquide à haute performance dans une forme pharmaceutique orale, université mohammed v-rabet, (2021), 35-36.

[12] : Ammar, O.U.A.H.A.B. différents types de contrôle. 1. contrôle physico-chimique, université de batna 2. département de pharmacie, 14p.

[13] : L'international conférence on harmonisation of technical requirements for the registration of pharmaceuticals for human use l'ICH validation des méthodes d'analyse text et méthodologie ICH thème q2 r1 (2015/06/05)

Chapitre 03

[1] : Moore, J.W. and H.H. Flanner, 1999, "Mathematical Comparison of Dissolution Profiles," Pharmaceutical Technology, 64-74.

[2] : Collignon A. et Farinotti R. (2007). Médicaments. martinebeljean-leymarie, christiandoutremepuich, 3^{ème} édition, 66.

[3] : EL Berbouchi, L., Optimisation du test de dissolution à l'aide de la méthodologie des plans d'expériences. Cas de l'amlodipine comprimés (Doctoral dissertation), (2010), 9-10

[4] : Kasdi, S., & Metref, Y., Application de la monographie USP pour l'étude de cinétique de dissolution comparative entre le princeps et plusieurs génériques à base d'Aspirine en comprimé à libération immédiate (Doctoral dissertation, UMMTO), (2014), 15-16

[5] : TAMAZIRT, B., mise au point et validation d'une méthode de dosage du diclofénac sodique dans des comprimés gastro-résistant de 50 mg par HPLC, en vue d'une étude du profil de dissolution (2017) 12-13.

[6] : Ridouan, K., application de certaines approches statistiques au transfert de la cinétique de dissolution du diclofénac sodique (Doctoral dissertation), (2010), 14-15, 15-16.

[7] : Chaurell J.C., Brossard, abrégé de la pharmacie galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments, 8^e édition, 2001.

[8] : Pharmacopée européenne 6.0, 2006.

[9] : Kouloughli, F., & Lekadir, A., Etude comparative entre deux procédés de granulation par voie humide : granulation dans le mélangeur-granulateur et en lit d'air fluidisé et leur influence sur la

dissolution (Doctoral dissertation,UMMTO),(2017),20-21.

[10] : Houin. G, Pharmacocinétique, support de l'enseignement de la pharmacologie générale, édition ellipse,1990.

[11] : Attjioui,H.,étude de stabilité et dosage des produits de dégradation de l'amoxicilline par chromatographie liquide à haute performance dans une forme pharmaceutique orale,université mohammed v-rabet,(2021),35-36

[12] : Camut,A.s

[13] : site université Alioune Diop De Bambey pc3513 :chimie analytique et spectroscopie
livre : spectroscopie ultraviolette et visible

[14] : Aoudjane.K. ; Belkofsi.S., Formulation de comprimés d'Acebutolol 200 Mg et étude pharmaco technique et biopharmaceutique par rapport à la forme commercial ; Université A. Mira-Bejaia,(2017) 33-34.

[15] :Gerber, F.; Krummen, M.; Potgeter, H.; Roth, A.; Siffrin,C.;Spoendlin,C.(2004).