

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**UNIVERSITÉ de BLIDA 1**

**Faculté de Technologie**

**Département de Génie des Procédés**



# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER EN GENIE DES PROCEDES**

**Spécialité : Pharmacie industrielle**

Intitulé du mémoire

**CONTRIBUTION A LA VALIDATION D'UNE  
METHODE D'ANALYSE D'UN PRODUIT  
FINI PAR UV ET HPLC. APPLICATION A LA  
CREME LAMIDAZ<sup>®</sup> 1%.**

**Présenté par :**

Mr. HADIBI Abd elkader.

**Encadré par :**

Mme. BENSACIA

Année universitaire 2015/2016

## خلاصة

الهدف من هذه الدراسة إلى اقتراح استراتيجية تساهم في دراسة التنظيم والفهم أساليب التحليل و فحص العنصر المكون من النشط تيربينافين هيدروكلوريد كريم، من أجل فهم أفضل الظروف الممكنة لإنشاء التحقق من الصحة تقوم هذه الاستراتيجية بشكل رئيسي على أساليب التحليل وهذا من أجل الحصول على النتائج التي يتم استخدامها لصنع القرار؛ ينبغي أن تفسر هذه النتائج وصالحة لتقديم متطلبات نافذة المفعول، وبالتالي تلبية احتياجات العملاء من شركات الأدوية

## ABSTARACT

The aim of this study was to propose a proven strategy, based on the study of regulation and understanding of the assay process of the active ingredient terbinafine hydrochloride cream LAMIDAZ ® 1 %, in order to understand the best possible conditions the establishment of a validation.

This strategy is based mainly on the analysis methods and this in order to get results that are used for decision making; these results should be interpreted and valid to present the requirements to take effect and thus meet the needs of customers of the pharmaceutical company.

## RESUME

Le but de ce travail a été de proposer une stratégie éprouvée, basée sur l'étude de la réglementation et la compréhension du procédé de dosage du principe actif terbinafine chlorhydrate de la crème **LAMIDAZ** ®1%, afin d'appréhender dans les meilleures conditions possibles, la mise en place d'une validation.

Cette stratégie repose principalement sur les méthodes d'analyses et cela dans le but d'obtenir des résultats qui sont utilisés pour une prise de décision ; ces résultats doivent être interprétables et valide afin de présenter les conditions requises pour produire leurs effets et ainsi répondre aux besoins des clients du laboratoire pharmaceutique.

## REMERCIEMENT

Tout d'abord je remercie Dieu le tout puissant  
de m'avoir aidé et guider dans le bon chemin afin d'aboutir à  
la réalisation de ce travail.

Je tiens tout d'abord à remercier ma promotrice **M<sup>me</sup> BENSACIA** maitre  
de conférence de l'université Blida1 pour m'avoir dirigé au cours de cette étude  
qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier les membres de jury qui ont accepté de faire partie  
du jury de ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma respectueuse gratitude.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à **M<sup>er</sup> ABED** et **M<sup>me</sup> Hakim**  
de SAIDAL pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail.

Enfin, je souhaite associer à ces remerciements tous ceux qui ont contribué  
à la réalisation de ce travail que ce soit au département de Génie  
des procédés de l'université de Blida 1 ou bien au niveau  
de SAIDAL.

## SOMMAIRE

Introduction générale.....	12
<b>CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES MEDICAMENTS</b>	
<b>I.1. Les médicaments.....</b>	<b>14</b>
<b>I.1.1.Historique .....</b>	<b>14</b>
<b>I.1.2. Définition du médicament .....</b>	<b>14</b>
<b>I.1.2.1. Médicaments d'origine naturelle .....</b>	<b>14</b>
<b>I.1.2.1.1. Médicaments d'origine végétale .....</b>	<b>14</b>
<b>I.1.2.1.2. Médicaments d'origine animale .....</b>	<b>14</b>
<b>I.1.2.1.3. Médicaments d'origine marine .....</b>	<b>14</b>
<b>I.1.2.1.4. Médicaments d'origine microbiologique .....</b>	<b>15</b>
<b>I.1.2.1.5. Médicaments d'origine minérale .....</b>	<b>15</b>
<b>I.1.3. Médicament de synthèse .....</b>	<b>15</b>
<b>I.1.4. Définition d'un médicament générique .....</b>	<b>15</b>
<b>I.1.5. Composition d'un médicament .....</b>	<b>15</b>
<b>I.1.5.1. Le principe actif .....</b>	<b>15</b>
<b>I.1.5.2. Excipients.....</b>	<b>16</b>
<b>I.1.5.3. Additifs .....</b>	<b>16</b>
<b>I.1.6. Diverses manières d'administrer les médicaments .....</b>	<b>16</b>
<b>I.1.6.1. Administration per os .....</b>	<b>16</b>
<b>I.1.6.2. Administration sublinguale .....</b>	<b>17</b>
<b>I.1.6.3. Administration rectale .....</b>	<b>17</b>
<b>I.1.6.4. Placement d'implants .....</b>	<b>17</b>
<b>I.1.6.5. Administration épithéliale .....</b>	<b>17</b>
<b>I.1.6.6. Administration par inhalation .....</b>	<b>17</b>
<b>I.1.6.7. Administration par injection .....</b>	<b>17</b>
<b>I.1.7. Formes galéniques du médicament .....</b>	<b>18</b>
<b>I.1.8.Différentes formes pharmaceutiques .....</b>	<b>18</b>
<b>I.1.8.1. Ampoules .....</b>	<b>18</b>
<b>I.1.8.2. Comprimés .....</b>	<b>18</b>
<b>I.1.8.3. Dragée .....</b>	<b>18</b>

<b>I.1.8.4. Elixir .....</b>	<b>18</b>
<b>I.1.8.5. Emulsion .....</b>	<b>18</b>
<b>I.1.8.6. Gélule ou capsule dure .....</b>	<b>19</b>
<b>I.1.8.7. Sirops .....</b>	<b>19</b>
<b>I.1.8.8. Pommades.....</b>	<b>19</b>
<b>I.1.8.9. Suppositoires .....</b>	<b>19</b>
<b>I.2. Les crèmes .....</b>	<b>20</b>
<b>I.2.1. Définition .....</b>	<b>20</b>
<b>I.2.2. Types des crèmes .....</b>	<b>20</b>
<b>I.2.2.1. Crèmes hydrophobes .....</b>	<b>20</b>
<b>I.2.2.2. Crèmes hydrophiles .....</b>	<b>20</b>
<b>I.2.3. Emulsions .....</b>	<b>20</b>
<b>I.2.3.1. Formulation des émulsions .....</b>	<b>21</b>
<b>I.2.4. Surfactifs.....</b>	<b>23</b>
<b>I.2.5. Balance lipophile-hydrophile .....</b>	<b>23</b>
<b>I.2.5.1. Définition .....</b>	<b>23</b>
<b>I.2.6. Contrôles effectués sur les crèmes .....</b>	<b>24</b>
<b>I.2.6.1. Homogénéité .....</b>	<b>24</b>
<b>I.2.6.2. Détermination de la consistance .....</b>	<b>24</b>
<b>I.2.6.3. pH .....</b>	<b>24</b>
<b>I.2.6.4. Viscosité .....</b>	<b>24</b>
<b>I.2.6.5. Stabilité .....</b>	<b>25</b>
<b>I.2.6.6. Conservation .....</b>	<b>25</b>
<b>I.3. Caractéristiques de la Crème LAMIDAZ<sup>®</sup> 1% .....</b>	<b>26</b>

## **CHAPITRE II : GENERALITES SUR LA VALIDATION ET LA QUALITE**

<b>II.1. Définition d'une procédure de validation .....</b>	<b>27</b>
<b>II.2. Objectifs de validation .....</b>	<b>27</b>
<b>II.3. Type de validation .....</b>	<b>28</b>
<b>II.3. 1. Validation des essais biologiques .....</b>	<b>28</b>
<b>II.3.2. Validation des essais analytiques .....</b>	<b>28</b>
<b>II.3.3. Validation des procédés .....</b>	<b>30</b>
<b>II.4. Etude statistique des critères de validation .....</b>	<b>32</b>
<b>II.4.1. Linéarité .....</b>	<b>32</b>

II.4.1.1. Régression linéarité simple .....	32
II.4.1.2. Coefficient de corrélation de la droite de régression .....	33
II.4.1.3. Teste de linéarité .....	33
II.4.1.4. Test de comparaison de l'ordonnée à l'origine avec zéro .....	34
II.4.1.5. Test d'évaluation statistique de l'homogénéité des variances .....	35
II.4.2. Fidélité .....	35
II.4.2.1. Détermination du coefficient de variation .....	35
II.4.3. Exactitude .....	36
II.5.1. Définition de la qualité .....	37
II.5.2. Assurance de la qualité .....	38
II.5.2.1. Objectifs de l'assurance de qualité .....	38
II.5.3. Bonnes pratiques de fabrication (BPF) .....	38
II.5.4. Autorisation de mise sur le marché .....	39
<b>CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE</b>	
III.1. Préparation de la crème LAMIDAZ® 1% .....	40
III.1.1. Matériel .....	40
III.1.2. Les étapes de préparation de la crème .....	41
III .2. Les contrôles effectués sur la crème .....	43
III.2.1. Contrôle technico-réglementaire (contrôle visuel) .....	43
III.2.2. Contrôle physico-chimique .....	43
III.2.2.1. pH .....	44
III.2.2.2. Dosage du principe actif Chlorhydrate de terbinafine par .....	44
III.2.2.2.1. Spectrophotométrie -UV-Visible .....	44
III.2.3. Etude de la stabilité .....	46
III.2.3.1. Dosage du principe actif CHLORHYDRATE DE TERBINAFINE par HPLC .....	46
III.4. Vérification des critères de la validation sur la crème .....	47
III.4.1. la spécificité .....	47
III.4.2. La linéarité .....	47
III.4.3. Exactitude .....	48
III.4.4. Fidélité .....	48
III.5. Contrôle microbiologique .....	48
III.5.1. Mode opératoire microbiologique .....	49

## CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

<b>IV.1. Contrôle physico-chimique .....</b>	<b>51</b>
<b>IV.1.1. Dosage du principe actif en cours de fabrication (produit semi-fini) .....</b>	<b>51</b>
<b>IV.1.2. Dosage du produit fini .....</b>	<b>51</b>
<b>IV.1.2. Etude de la stabilité .....</b>	<b>52</b>
<b>IV.1.3. Etude des critères de la validation .....</b>	<b>53</b>
<b>IV.1.3.1. Spécificité .....</b>	<b>53</b>
<b>IV.1.3.2. Linéarité .....</b>	<b>53</b>
<b>IV.1.3.2.1. Principe actif seul .....</b>	<b>54</b>
<b>IV.1.3.2.2. Forme reconstituée .....</b>	<b>58</b>
<b>IV.1.3.3. Exactitude .....</b>	<b>62</b>
<b>IV.1.3.4. Fidélité.....</b>	<b>64</b>
<b>IV.2. Contrôle Microbiologique .....</b>	<b>66</b>
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>71</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I-1 : les excipients.....</b>	26
<b>Tableau II-1: Caractéristiques à prendre en compte pour les différents types des méthodes analytiques .....</b>	30
<b>Tableau II-2 : Analyse des variances.....</b>	34
<b>Tableau IV-1: Paramètres physico-chimiques du principe actif en cours de fabrication des méthodes analyses .....</b>	51
<b>Tableau IV-2: Paramètres physico-chimiques du principe actif sur le produit fin .....</b>	51
<b>Tableau IV-3:Etudes de la stabilité dans les conditions réal.....</b>	52
<b>Tableau IV-4: Etudes de la stabilité dans les conditions accélérées .....</b>	52
<b>Tableau IV-5 : Etude de la spécificité .....</b>	53
<b>Tableau IV-6 : Résultats de la linéarité du principe actif seul .....</b>	54
<b>Tableau IV-7 : Droite de régression linéaire du principe actif .....</b>	55
<b>Tableau IV-8 : Comparaison de l'ordonnée à l'origine avec zéro du principe actif .....</b>	55
<b>Tableau IV-9 : Test d'homogénéité des variances du principe actif .....</b>	55
<b>Tableau IV-10 : Existence d'une pente significative du principe actif .....</b>	56
<b>Tableau IV-11 : Test de validité de la droite de régression du principe actif .....</b>	56
<b>Tableau IV-12 : Résultats récapitulatif de la linéarité du principe actif .....</b>	56
<b>Tableau IV-13: Résultats de la linéarité de la forme reconstituée <math>\lambda=283\text{nm}</math> .....</b>	58
<b>Tableau IV-14: Droite de régression linéaire de la forme reconstituée .....</b>	58
<b>Tableau IV-15 : Comparaison de l'ordonnée à l'origine avec zéro de la forme reconstituée.....</b>	59
<b>Tableau IV-16:Test d'homogénéité des variances de la forme reconstituée .....</b>	59
<b>Tableau IV-17 : Existence d'une pente significative de la forme reconstituée .....</b>	59
<b>Tableau IV-18 : Test de validité de la droite de régression de la forme reconstituée .....</b>	60

<b>Tableau IV-19</b> : Résultats récapitulatif de la linéarité de la forme reconstituée.....	60
<b>Tableau IV-20</b> :Les différents essais sur l'exactitude.....	62
<b>Tableau IV-21</b> :Essais effectués sur l'exactitude (le recouvrement) .....	63
<b>Tableau IV-22</b> :Test d'homogénéité des variances (le recouvrement). .....	63
<b>Tableau IV-23</b> : Test des validités moyennes (le recouvrement). .....	63
<b>Tableau IV-24</b> : Résultats de la fidélité intermédiaire .....	64
<b>Tableau IV-25</b> : Résultats de la fidélité sur le recouvrement.....	65
<b>Tableau IV-26</b> :Homogénéité des variances intra-groupes.....	65
<b>Tableau IV-27</b> : Variances de répétabilité, intergroupes et reproductibilité .....	66
<b>Tableau IV-28</b> : comparaison de valeurs trouvées et norme (Test microbien).....	66

## LISTES DES FIGURES

<b>Figure I-1:</b> Proportions des trois constituants pour chaque point d'un diagramme ternaire.....	22
<b>Figure I-2:</b> Diagramme ternaire ; zones des émulsions.....	22
<b>Figure III.1 :</b> Schéma d'atelier de fabrication des formes pâteux.....	43
<b>Figure VI-1 :</b> Variation de l'absorbance en fonction de la prise d'essai (principe actif Terbinafine chlorhydrate) .....	5
<b>Figure VI-2 :</b> Variation de l'absorbance en fonction de la prise d'essai (la forme reconstituée).....	61

## ANNEXE

<b>Figure III.2 :</b> Spectrophotomètre UV-Visible « SHIMA DZU UV-1700 » .....	67
<b>Figure III-3:</b> Les appareils de Chromatographie en phase liquide à haute performance HPLC .....	67
<b>Figure VI-3 :</b> Chromatogramme de la crème dans les conditions réal.....	68
<b>Figure VI-4:</b> Chromatogramme de la crème dans les conditions accélérer.....	69
<b>Figure VI -5 :</b> Spectre UV-Visible du crème LAMIDAZ.....	70

## LISTE DES ABREVIATIONS

- ISO** : Organisation internationale de normalisation.
- BPF** : Bonne pratique de fabrication.
- OMS** : Organisation mondiale de la santé.
- AMM** : Autorisation de mise sur le marché.
- DGAT** : Dénombrement des germes aérobies totaux.
- DMLT** : Dénombrement des moisissures /levures totales.
- UFC/ml** : Unité formants colonie /millilitre.
- $\bar{X}$  : Moyenne de  $x_j$ .
- Y** : Moyenne des  $y$ .
- SCL<sub>x</sub>** : Somme des carrés des écarts pour  $x$ .
- SCL<sub>y</sub>** : Somme des écarts pour  $y$ .
- SPF<sub>xy</sub>** : Somme des produits des écarts.
- F** : Coefficient de corrélation.
- SCE<sub>T</sub>** : Variation totale.
- SCE<sub>I</sub>** : Variation due à la régression.
- SCE<sub>R</sub>** : Variation résiduelle.
- SCE<sub>E</sub>** : Erreur expérimentale.
- SCE<sub>L</sub>** : Erreur de la régression.
- S<sub>b</sub>** : Ecart type de l'ordonnée à l'origine.
- S<sup>2</sup><sub>tr</sub>** : Variance de l'ordonnée à l'origine.
- S<sup>2</sup><sub>n</sub>** : Variance résiduelle.
- S<sup>2</sup><sub>j</sub>** : Variance mesurée sur les  $J$  groupes de mesure (la plus grande).
- S<sup>2</sup><sub>j</sub>** : Variance des valeurs dans un groupe.
- CV<sub>r</sub>** : Coefficient de variation de la répétabilité.
- CV<sub>R</sub>** : Coefficient de variation de la reproductibilité.
- S<sub>r</sub><sup>2</sup>** : Variance de répétabilité.
- S<sup>2</sup><sub>R</sub>** : Variance de reproductibilité.
- S<sup>2</sup><sub>g</sub>** : Variance inter-groupe.
- PR** : Pourcentage de recouvrement.
- Y** : Taux de recouvrement moyen.
- LS** : Limite supérieure.

**LI** : Limite inférieure.

**ICH** : International conférence on harmonisation.

**FPR** : Forme pharmaceutique reconstitué.

**PAS** : Principe actif seule.

**HPLC** : Chromatographie liquide haute performance.

**UV-Visible** : Ultra-Violet Visible

**mg** : milligramme

**g** : gramme

**mL** : millilitre

**µL** : microlitre

**mn** : minute

**pH** : potentiel d'Hydrogène

## INTRODUCTION GENERALE

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

La validation est l'expression complète d'une séquence d'activités ayant pour but de démontrer et documenter qu'un médicament peut être fabriqué de façon fiable par des procédés déterminés, avec une qualité appropriée pour leur utilisation destinée. Les contrôles en cours de procédé et l'analyse à libération seuls ne sont pas suffisants pour assurer cette qualité, par conséquent tous les facteurs qui pourraient affecter la qualité de produit doivent être correctement conçus et démontrés pour fonctionner efficacement. La validation est la preuve qu'un procédé fonctionne : elle doit être effectuée en utilisant des principes scientifiques, afin d'établir l'efficacité du procédé et de confirmer l'acceptabilité du médicament.

Par conséquent, le manuscrit présentant ce travail est entamé par cette introduction générale qui donne une idée sur l'importance du thème abordé tout en exposant clairement l'objectif visé.

Le premier chapitre présente une revue bibliographique sur les axes étudiés en évoquant des généralités sur les médicaments en passant par les crèmes, la fin de chapitre sera consacrée aux critères de validation.

Le deuxième chapitre décrit les procédures expérimentales concernant la préparation de la crème, les différents contrôles effectués sur la crème ainsi les différents critères telles que: la stabilité, la spécificité, la linéarité, l'exactitude et la fidélité, la fin du chapitre est dédiée aux contrôles microbiologiques.

Le troisième chapitre présente les interprétations des résultats concernant les différentes parties abordées dans le chapitre 2.

Enfin, nous achevons le manuscrit par une conclusion générale qui récapitule les principaux résultats obtenus.

## **CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES MEDICAMENTS**

### **I.1. Les médicaments**

#### **I.1.1. Historique:**

Avant les XXe siècles les remèdes employés étaient principalement des plantes sous forme de potions, ce ne fut que vers la moitié des XIXe siècles que les premiers efforts sérieux furent réalisés en vue d'isoler et de purifier les principes actifs de ces remèdes (c'est à- dire les substances chimiques qui sont responsables de leur action pharmacologique)

Le succès de tels travaux de recherche aboutit à la création d'une bonne part des sociétés pharmaceutiques qui sont connues aujourd'hui. Depuis, les chercheurs ont pu extraire et déterminer la structure de nombreuses substances médicamenteuses d'origine naturelle [1]. Les plantes ont été la base de la majorité des traitements. La pharmacopée englobe l'ensemble des médicaments, elle comportait déjà près de 250 espèces de plantes pour soin [2].

#### **I.1.2. Définition du médicament**

On entend par médicament toute substance ou une composition possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical favorable ou de restaurer, rétablir leurs fonctions vitales [3]. Le médicament peut être d'origine naturel ou synthétique.

##### **I.1.2.1. Médicaments d'origine naturelle**

###### **I.1.2.1.1. Médicaments d'origine végétale**

Les plantes et les arbres ont été toujours un réservoir très riche dans lequel des composés phares très intéressants comme têtes de séries ont pu être isolés. Par exemple olivier, menthe, eucalyptus, lavande, verveine, la cocaïne, la digitaline, la tubocurarine, la nicotine et à bien d'autres substances [1].

###### **I.1.2.1.2. Médicaments d'origine animale**

Les animaux constituent parfois une source de nouveaux composés phares, le règne animal comme les abeilles et les bovins ; donne surtout des substances appelées hormones exemple : hypophysaire, insuline pepsine...etc. [4].

###### **I.1.2.1.3. Médicaments d'origine marine**

Ces dernières années beaucoup d'attention a été accordée à la possibilité d'isoler des composés phares à partir d'organismes marins, les coraux et les éponges contiennent

une profusion de produits extrêmement actifs du point de vue biologique. Ces substances semblent très prometteuses en tant que futurs médicaments anti-inflammatoires, antiviraux et anticancéreux. A titre d'exemple la curacine qui a été extraite d'une cyanobactérie marine, présente une puissante activité anti-cancérogène [1].

#### **I.1.2.1.4. Médicaments d'origine microbiologique**

Les micro-organismes comme les bactéries et les champignons ont également permis de réaliser de riches cueillettes de médicaments ou de composés phares, ces organismes produisent une grande diversité de substances antimicrobiennes lesquelles se sont modifiées au cours de leurs évolutions concurrents cet univers microbiologique [1]. Certains champignons donnent des antibiotiques dont la pénicilline et la streptomycine [4].

#### **I.1.2.1.5. Médicaments d'origine minérale**

Le règne minéral donne des produits employés directement, ils sont soumis à des traitements spéciaux qui les débarrassent de leurs impuretés et forment la base d'un très grand nombre de produits chimiques tel que les sels de : Na, Ca, K, Ag, ...etc. [4]

#### **I.1.3. Médicament de synthèse**

Vue la vaste consommation des médicaments et la forte demande, les plantes et les animaux étaient incapable de fournir les quantités et ne pouvaient pas satisfaire le besoin humain. Les tests de toxicité et la mise au point d'un procédé de synthèse à grande échelle vont généralement de pair, même ainsi la découverte et le développement d'un nouveau procédé pour la synthèse d'un médicament peuvent prendre 10 ans. La synthèse de plus de 10000 composés a coûté plus de 350 millions d'euros [4].

Les médicaments de synthèse sont d'innombrables produits de synthèse : les sulfamides, hormones et vitamines synthétiques...etc.

#### **I.1.4. Définition d'un médicament générique**

Le médicament générique stipule que la dose du principe actif doit être identique dans le médicament générique et le médicament référence. Ce sont donc l'ensemble des excipients, et des procédés de fabrication qui diffèrent [1].

#### **I.1.5. Composition d'un médicament**

Les médicaments se composent des substances actives ; d'excipients et des additifs.

##### **I.1.5.1. Le principe actif**

Le principe actif est la molécule qui possèdent un effet thérapeutique, cette substance est la plus part du temps en très faible proportion dans le médicament par rapport aux excipients [1].

### I.1.5.2. Excipients

Les excipients sont des auxiliaires inertes sur le plan pharmacologique et servant à la formulation de la forme galénique et facilite l'administration du médicament. Ce sont par exemple les diluants permettant d'augmenter le volume et faciliter la prise par le patient ; les lubrifiants, les liants, les édulcorants, les délitant...etc. Bien que n'étant pas des principes actifs, les excipients peuvent avoir un effet qu'il ne faut pas négliger. Certains sont même classés comme « excipients à effet notoire » et doivent figurer expressément dans la composition déclarée du médicament, tant en qualité qu'en quantité (exemple le cérat de Galien) [1].

### I.1.5.3. Additifs

Substance naturelle ou chimique ajoutée dans les aliments dans un but technique bien précis. Il existe 4 groupes des familles d'additifs alimentaires. Les arômes naturels ou artificiels ne sont pas considérés comme des additifs et doivent figurer en toutes lettres sur l'étiquette [1].

- **Colorant** : Colorant alimentaire est une substance ou pigment, qui peut donner de la couleur quand elle est ajoutée ou appliqué à un aliment. [5].
- **Conservateur** : Egalement appelé agent de conservation, empêche les fermentations, le développement des bactéries, des moisissures et des levures.
- **Antioxydant** : S'oppose au phénomène d'oxydation du principe actif ou des excipients ou des additifs.
- **Agents de texture** : C'est une opération ayant pour but d'améliorer les propriétés physiques des médicaments synthétisés.

### I.1.6. Diverses manières d'administrer les médicaments

Il existe de nombreux moyens d'administrer les médicaments. Les voies principales d'administration sont : par la bouche, la voie sublinguale, la voie rectale, la voie épithéliale, inhalation et par injection [1].

#### I.1.6.1. Administration per os :

Les médicaments qui sont administrés per os, c'est –à-dire par la bouche, représentent l'option préférée de la plupart des patients. Il faut cependant faire attention aux médicaments qui interagissent avec certains aliments, les tétracyclines par exemple : se lient assez fortement aux ions calcium, ce qui ralentit l'absorption du médicament. De ce fait, on évitera de boire du lait en prenant de tels médicaments.

Il existe aussi des médicaments qui se fixent à d'autres et empêchent ainsi leur absorption.

Par exemple : la cholestyramine qui est employée en tant qu'hypocholestérolémiant, se lie à la warfarine et aussi à la thyroxine. De sorte que ces médicaments doivent être pris séparément.

#### **I.1.6.2. Administration sublinguale**

Dans ce mode d'administration, le médicament est appliqué sous la langue, ce qui implique une absorption rapide de celui-ci via la circulation sanguine de la cavité buccale. Ceci permet d'éviter tout contact du médicament avec l'acidité stomacale ou avec les enzymes hépatique, bref fournit un moyen d'empêcher l'effet métabolique de premier passage. C'est de cette manière que le trinitrate de glycéryle est administré [1]. A l'époque, déjà les incas se dopaient ainsi à la cocaïne en mâchant des feuilles de coca.

#### **I.1.6.3. Administration rectale**

Les médicaments qui sont administrés par cette voie sont en générale destinés à exercer un effet locale. L'absorption dans la circulation sanguine est en fait très efficace par voie rectale [1].

#### **I.1.6.4. Placement d'implants**

Des minis pompes permettant une libération osmotique contrôlée d'insuline ont été mises au point : celles-ci peuvent libérer cette hormone en quantité variable en fonction de la valeur de la glycémie. On place ces implants dans le tissu cellulaire sous cutané et apparemment, il s'agit là de la meilleure solution au problème de la délivrance d'insuline en concentration correcte aux moments appropriés [1].

#### **I.1.6.5. Administration épithéliale :**

Il y'a plusieurs manières d'appliquer ses médicaments sur des cellules épithéliales (c'est-à-dire de recouvrement). Les médicaments topiques sont ceux que l'on applique sur la peau et qui agissent directement à cet endroit. C'est ainsi, par exemple certains stéroïdes sont appliqués en usage local et classiquement sous forme de pommade pour traiter les irritations de la peau [1].

#### **I.1.6.6. Administration par inhalation**

Il existe aussi des sprays particuliers (aérosols doseurs, nébuliseurs...etc.) qui sont plutôt destinés à projeter des médicaments volatils ou gazeux comme des anesthésiques et des antiasthmatiques vers les voies aériennes.

#### **I.1.6.7. Administration par injection**

Des médicaments peuvent être injectés sous la peau (sous-cutanée), dans l'épaisseur d'un muscle (injection intramusculaire), à l'intérieur d'une veine (injection intra veineuse) ou encore dans le liquide céphalo-rachidien (injection intrathécale) [1].

### **I.1.7. Formes galéniques du médicament**

C'est le résultat de la mise en œuvre d'opération pharmaceutique sur les principes actifs associés aux excipients. La forme galéniques assure la présentation physique d'un médicament sert de support à l'administration d'un principe actif (comprimés, suppositoires, sirops...etc.) [4].

La pharmacie galénique est la science qui étudie la fabrication, la présentation, le dosage, la voie d'administration et la conservation des médicaments [1].

### **I.1.8. Différentes formes pharmaceutiques**

#### **I.1.8.1. Ampoules**

Des solutés buvables contiennent le plus souvent des fortifiants, ou antianémiques.

#### **I.1.8.2. Comprimés**

Un comprimé est un médicament solide, de forme cylindrique le plus souvent, destiné à être pris par voie orale. Le comprimé contient un principe actif (substance médicamenteuse) qui est concentré et solidifié sous la forme d'une dose. Certains comprimés contiennent un excipient qui va permettre l'enrobage ou qui va modifier la couleur ou le goût de la substance ou qui va modifier le système de libération dans le tube digestif. Le comprimé peut être avalé, sucé, sublingual, effervescent.[6]

#### **I.1.8.3. Dragée**

En galénique, une dragée est une forme galénique solide à usage oral. Il s'agit d'un comprimé, en général rond ou ovale, qui est dragéifié, c'est-à-dire recouvert. La couche externe peut avoir des propriétés impliquant que les dragées ne se décomposent que dans l'estomac ou l'intestin (enrobage entérique). Il peut également y avoir plusieurs couches qui libèrent qu'une partie du principe actif, puis une autre ...etc., ce qui donne un effet retard.

#### **I.1.8.4. Elixir**

Liquide hydro-alcoolique transparent, aromatisé et sucré qui contient des agents médicinaux dissouts. Il est destiné à l'usage oral. Par exemple calme de toux ou des douleurs de l'estomac.

#### **I.1.8.5. Emulsion**

Une émulsion est un mélange homogène de deux substances liquides non miscibles comme l'eau et l'huile. Une substance est dispersée dans la seconde substance sous forme de petites gouttelettes. Le mélange reste stable grâce à, un troisième ingrédient appelé émulsifiant.

#### **I.1.8.6. Gélule ou capsule dure**

Constituée d'une enveloppe de forme cylindrique à base hémisphérique renfermant une unité de prise du médicament. L'enveloppe est constituée de deux capsules à emboîtement dont la paroi à base de gélatine dure et mince. Le contenu peut être pulvérulent ou granuleux. Elle se conserve à l'abri de la chaleur (température inférieure à 30°C). Formes industrielles très utilisées. Avantages : fabrication simple et rapide, principe actif très vite libéré dans le tube digestif par destruction de l'enveloppe, en pédiatrie on peut vider la gélule dans les aliments. Il est possible de fabriquer des gélules gastro-résistantes ou à libération modifiée, elles ne doivent pas être ouvertes [7].

#### **I.1.8.7. Sirops**

Le sirop est un liquide assez épais fabriqué depuis plusieurs siècles afin de soulager certains maux. Le sirop est souvent très sucré mais depuis peu, il peut être sans sucre afin d'être moins cariogène. Il devient alors une substance édulcorée. Ce sirop aide à lutter contre la toux et il est souvent prescrit aux enfants afin que ces derniers prennent plus facilement un médicament. Le sirop est un complément médical prescrit souvent avec d'autres médicaments pour soigner une pathologie. [8]

#### **I.1.8.8. Pommades**

Sous le terme de pommade, on désigne des préparations de consistance molle obtenues en mélangeant des substances médicamenteuses avec des corps gras, simple ou complexes, qui servent d'excipients au sein desquels ces substances se trouvent dispersées ou dissoutes. L'excipient des pommades doit pouvoir se mélanger au sébum et céder facilement le principe actif aux tissus sur lesquels elles sont appliquées. La conservation des pommades s'est assez difficile, car de nombreux facteurs interviennent pour compromettre leurs stabilités. A l'officine, le plus souvent sont conservés dans des tubes métalliques ou plastiques [4].

#### **I.1.8.9. Suppositoires**

Le suppositoire est un médicament de forme conique que l'on introduit dans l'anus et qui fond dans le rectum. Bien qu'il soit parfois prescrit pour les adultes, il est surtout administré aux nourrissons et aux enfants en cas de fièvre, de vomissements ou pour traiter la constipation.[9]

## **I.2. Les crèmes**

### **I.2.1. Définition**

Les crèmes sont des préparations semi-solides destinées à être administrées en usage topique, elles sont des préparations multi phases composées d'une phase lipophile et d'une phase aqueuse. Pour éviter la séparation des deux phases, on ajoute des tensioactifs qui diminuent la tension inter faciale et augmente la stabilité des crèmes.

### **I.2.2. Types des crèmes**

#### **I.2.2.1. Crèmes hydrophobes**

Dans les crèmes hydrophobes, la phase externe est la phase lipophile. Ces préparations contiennent des agents émulsifiants eau- dans -huile tels que la graisse de laine, des esters de sorbitanne, des mono glycérides.

#### **I.2.2.2. Crèmes hydrophiles**

Dans les crèmes hydrophiles, la phase externe est une phase aqueuse. Ces préparations contiennent des agents émulsifiants huile -dans eau tels que des savons de sodium ou triéthanolamine, des alcools gras sulfatés, des polysorbates en combinaison éventuellement avec des agents émulsifiants eau-dans-huile.

### **I.2.3. Emulsions**

Toutes les crèmes et lotions sont des émulsions. Une émulsion est formée par un système de deux liquides non miscible dont l'une est finement divisée en gouttelettes dans l'autre, la phase dispersée est encore appelée phase interne ou discontinue.

Actuellement selon la pharmacopée:

- Les émulsions dans lesquelles la phase dispersée est lipophile. (L), huile végétale ou minérale par exemple et la phase dispersante hydrophile(H), eau par exemple, sont dites de types aqueux L/H (anciennement/E: huile dans eau),
- Les émulsions dans lesquelles la phase dispersée est hydrophile et la phase dispersante lipophile sont dites de type huileux H/L (anciennement E/H : eau dans huile).
- il existe aussi des émulsions dites multiples, par exemple H/L/L: (anciennement eau dans huile dans eau)

L'émulsifiant peut agir sur la stabilité d'une émulsion de trois façon :

- Soit en diminuant la tension interfaciale, c'est le cas des surfactifs dont les molécules forment un film à l'interface, l'extrémité de chaque molécule est placée dans l'eau et l'autre dans l'huile:
- Soit en augmentant la viscosité de la préparation: cas des gommes par exemple;

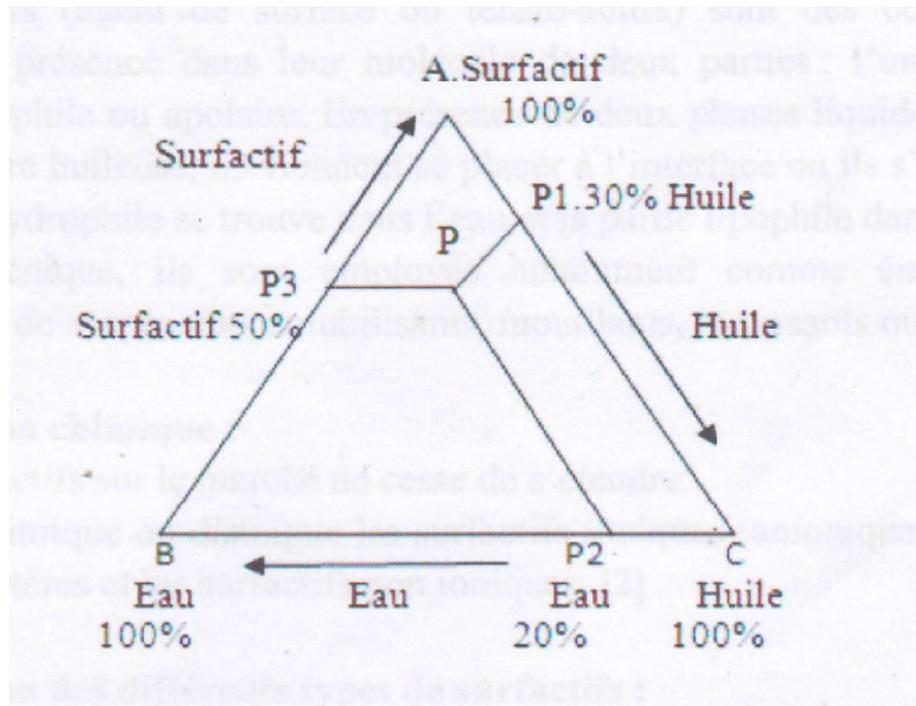
- Soit en agissant à la fois sur la tension interfaciale et sur la viscosité: c'est ce qui se produit lorsqu'on met un surfactif non ionique en gros excès dans une émulsion L/H. une partie agit à l'interface et l'autre augmente la viscosité de la phase aqueuse dispersante. [10]

#### **I.2.3.1. Formulation des émulsions**

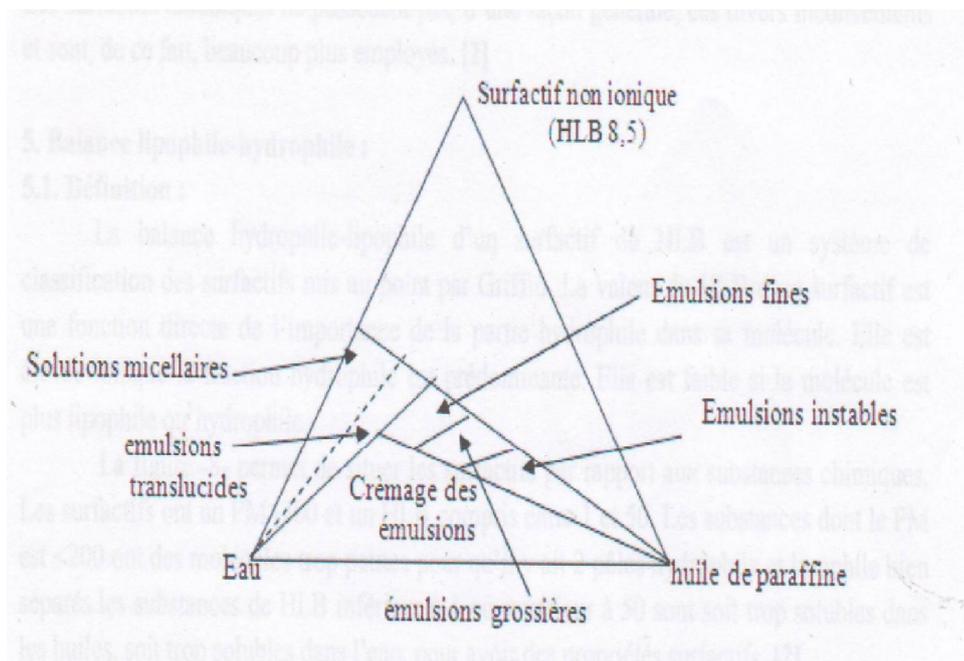
Dans une émulsion pharmaceutique, dont les trois éléments de base (huile, eau et tensioactif), il s'ajoute des additifs divers : principes actifs, épaississants, aromatisants, colorants, conservateurs. Les trois constituants de base doivent être choisis avec beaucoup de soin pour avoir une émulsion aux caractéristiques bien déterminées.

Pour les émulsions fluides, on peut choisir le surfactif pour se placer au HLB critique pour les émulsions fermes on compte surtout sur la viscosité pour assurer la stabilité. Pour ce qui est des proportions, c'est souvent par tâtonnements qu'on arrive à une formule stable et de consistance adaptée à l'utilisation.

Pour des études systématiques on peut avoir recours aux diagrammes ternaires : avec une huile, de l'eau et un surfactant. (Ou un mélange de surfactif de HLB donné) on fait des mélanges en proportions diverses. On note les caractères des mélanges obtenus et les résultats sont portés sur un triangle équilatéral dont chaque point de la surface correspond à des proportions bien définies des trois constituants. En général on n'obtient des émulsions que pour certaines proportions c'est à dire pour les mélanges correspondant à une certaine zone du triangle, la zone des émulsions fines est stable étant assez réduite.



**Figure I-1:** Proportions des trois constituants pour chaque point d'un diagramme ternaire.



**Figure I-2:** Diagramme ternaire ; zones des émulsions

### **I.2.4. Surfactifs**

Les surfactifs (agent de surface ou tensioactif) sont des corps amphiphiles caractérisés par la présence dans leur molécule de deux parties: l'une hydrophile ou polaire et l'autre lipophile apolaire. En présence de deux phases liquides non miscibles, l'une aqueuse, l'autre huileuse, les tensioactifs se placent à l'interface ou ils s'orientent de telle sorte que la partie hydrophile se trouve dans l'eau et la partie lipophile dans l'huile.

En pharmacie galénique, ils sont employés notamment comme émulsionnants (ou émulsifiants), agent de coulissants, mouillants, moussants ou détergents.

- **Classification chimique:**

La gamme des surfactifs sur le marché ne cesse de s'étendre. Du point de vue chimique on distingue les surfactifs ioniques (anionique et cationiques), les surfactifs amphotères et les surfactifs non ioniques.

- **Comparaison des différents types de surfactif :**

Les surfactifs anioniques et cationiques présentent les inconvénients suivants:

*Nombreuses incompatibilités:*

- Les anioniques n'agissent qu'en milieu alcalin,
- Les cationique n'agissent qu'en milieu acide,
- Les savons alcalins sont sensibles aux sels dissous et en particulier aux sels de calcium des eaux dures. ils sont transformés en savons de calcium dont les propriétés sont différentes.

*Irritants pour la peau et les muqueuses:*

Les plus irritants sont les anioniques mais parmi ceux-ci les sels de bases organiques sont mieux tolérés que les autres cationiques présentent des propriétés antiseptiques qui sont mises à profit dans diverses préparations.

### **I.2.5. Balance lipophile-hydrophile**

#### **I.2.5.1. Définition**

La balance hydrophile-lipophile d'un surfactif ou HLB est un système de classification de surfactifs mis en point par méthode de Griffin. La valeur du HLB d'un surfactif est une fonction directe de l'importance de la partie hydrophile, si cette dernière elle est élevée la fraction hydrophile est prédominante, si elle est faible la molécule est plus lipophile qu'hydrophile.

## **I.2.6. Contrôles effectués sur les crèmes**

Les produits semi-solides sont souvent des systèmes complexes d'une stabilité relative, ce qui explique la diversité des essais proposés. Dans la période de conception, une grande diversité de contrôle est nécessaire pour définir les caractéristiques du nouveau médicament. Les contrôles à effectuer ont pour but de s'assurer la reproductibilité de produit ; leur choix varie avec la stabilité de la forme et avec les paramètres critiques du procédé de fabrication. Ils sont en général simples et d'autant moins nombreux qu'il aura été démonté en cours de validation qu'il y a des interdépendances entre eux. A la limite d'utilisation, les contrôles ont pour but de vérifier que la préparation est toujours conforme aux spécifications du dossier d'AMM.

### **I.2.6.1. Homogénéité**

Toute crème résulte d'une opération de mélange dont l'efficacité doit être vérifiée. Le dosage du principe actif est essentiel dans ce contrôle.

Macroscopiquement, on vérifie l'homogénéité d'une crème par étalement en couche mince sur une surface plane à l'aide d'une spatule. Cet essai est complété par un examen au microscope qui permet de contrôler la dispersion des poudres ou des gouttelettes de liquides dans une émulsion. Lorsque la taille de particules composantes incorporées a une influence sur l'activité thérapeutique, elle doit être contrôlée.

### **I.2.6.2. Détermination de la consistance**

La semi- solidité d'un produit se définit par la mesure de la consistance. Il faut tenir compte pour les modalités de fabrication et les conditions d'utilisation et quelle influe sur la facilité d'étalement, l'adhésion aux tissus et la biodisponibilité des principes actifs, ainsi que sur la stabilité dans le cas des émulsions et des suspensions.

### **I.2.6.3. pH**

Il s'agit de pH de la phase aqueuse qui peut être séparée plus ou moins facilement selon les cas, par contact avec papier filtre, par rupture de l'émulsion au bain-marie ou par centrifugation,...

Le pH d'une émulsion est intéressant à connaître car il peut avoir des influences sur la stabilité des principes actifs, sur la compatibilité avec les excipients, sur l'activité des conservateurs et surtout le pH de la peau qu'il peut modifier.

### **I.2.6.4. Viscosité**

Quand la phase continue est en excès, la viscosité de l'émulsion se rapproche de la viscosité de cette phase. Quand la proportion de la phase interne croît, la viscosité augmente progressivement jusqu'à avoir une crème épaisse. Pour modifier la viscosité

d'une émulsion on peut agir soit sur la proportion de la phase interne, soit sur la viscosité de la phase continue, soit sur le HLB de surfactif mais il est évident que ces modifications peuvent changer considérablement la stabilité de l'émulsion. Il est noté que l'homogénéisation d'une émulsion augmente sa viscosité.

#### **I.2.6.5. Stabilité**

La stabilité d'une émulsion peut être effectuée dans une éprouvette graduée par l'observation à intervalles réguliers de la sédimentation, du crémage et de la séparation des phases. Le contrôle de la stabilité est complété par des essais de conservation à l'étuve à différentes températures. On peut aussi subir faire des cycles de température de  $-10^{\circ}\text{C}$  à  $+23^{\circ}\text{C}$ .

#### **I.2.6.6. Conservation**

Les crèmes doivent être conservées dans des récipients bien clos. Ceci est particulièrement important lorsqu'il y a une phase aqueuse qui risque soit de s'évaporer, soit d'être contaminée. Les bouchons de liège doivent être évités dans la mesure de possible car ils contiennent toujours des germes de moisissures. De toute façon lorsqu'il y a une phase aqueuse, il faut ajouter des conservateurs antimicrobiens. [10]

### I.3. Caractéristiques de la Crème LAMIDAZ® 1%

- **Forme pharmaceutique** : Tube du 15g.
- **Classe pharmaco-thérapeutique** : Antifongique pour usage topique.
- **Composition:**

**Principe actif** : terbinafine chlorhydrate [11]

**Les excipients :**

**Tableau I-1** : les excipients

EXCIPIENT	FONCTION [12]
Myristate d'isopropyle	Emoliant/composant huileux
Polysorbate 60	Emulsifiant
Alcool stéarylique	Facteur de consistance
Alcool cetylique	Facteur de consistance
Cetyle palmitate	Facteur de consistance/Emulsifiant
Sorbitanmonostéarate	Emulsifiant
Alcool benzylique	Conservateur
Hydroxyde de sodium	Ajusteur de pH
Eau purifiée	Solvant /Diluant

#### - Indication :

❖ **Dermatophyties :**

✓ **Traitement :**

- Dermatophyties de la peau glabre.
- Intertrigos génitaux.
- Intertrigos des orteils : [13]

❖ **Candidoses :**

Les candidoses cutanées rencontrées en chimique humaine sont habituellement due à *candida albicans*. Cependant la mise en évidence d'un candida sur la peau ne peut constituer en soi une indication.

✓ **Traitement**

Perlèche.

Vulvite, palmite.

Dans certains cas, il est recommandé de traiter simultanément le tube digestif, traitement d'appoint des onyxis et périonyxis. [13]

## **CHAPITRE II : GENERALITES SUR LA VALIDATION ET LA QUALITE**

### **II.1. Définition d'une procédure de validation**

Une procédure de validation doit se concevoir comme une série d'études expérimentales qui permettent de calculer des critères de validation, cette dernière apporte les preuves que la méthode est d'une part, en conformité avec son domaine d'application, d'autre part, atteint les performances analytiques requises. Ce domaine d'application correspond à un choix fait par l'analyste des différentes analyses requises. Ce domaine d'application correspond à un choix fait par l'analyste des différentes analyses tels que : types de matrice, gammes de concentrations, niveaux d'incertitude acceptables pour lesquels on a le droit d'appliquer la méthode.

Tous ces renseignements sont regroupés dans un dossier qui contient en outre les objectifs des études entreprises et les résultats obtenus. Il est donc utile de prévoir une organisation de la validation qui peut suivre la séquence d'étape décrite ci-dessous ;

- Nommer un responsable qui suit l'étude de validation;
- Préparer une fiche de validation;
- Faire des séances de travail qui définit le domaine d'application et ses spécifications, en particulier la répétabilité attendue;
- Rédiger le mode opératoire préliminaire;
- Réaliser les études prévues par la fiche de validation. Si une étude démontre que la méthode n'est pas adaptée aux objectifs fixés, il convient de la rejeter ou de la modifier d'une façon à la rendre opérationnelle;
- Rédiger la version finale du mode opératoire de la méthode. [14]

### **II.2. Objectifs de validation**

La validation est un concept préventif à savoir ;

- Elle contribue à l'assurance de la qualité du produit et à l'amélioration de la productivité ;
- Elle permet la vérification des conditions opératoires qui peuvent réduire la probabilité d'une production hors norme; [10]
- Elle peut démontrer qu'une analyse est appropriée à l'usage au quelle est destinée. [15].

## **II.3. Type de validation**

### **II.3. 1. Validation des essais biologiques**

On divise les essais biologiques en trois grandes catégories : test de liaison, essais sur les cellules, essais sur les animaux, certains essais complexes appartiennent à plusieurs de ces catégories.

Les tests de liaison sont ceux qui impliquent la formation d'une liaison entre deux ou plusieurs molécules. Les épreuves immunologiques sont un exemple. On l'utilise pour suivre une molécule au cours d'un processus de purification ou pour les validations du nettoyage. En général, ils ne sont pas acceptables pour établir l'activité de la molécule étudiée. La mise en évidence de sa présence par la formation d'une liaison n'indique pas forcément qu'elle soit active. La variabilité des tests de liaison (leur imprécision) s'établit en général entre 5 et 20%.

Les essais sur les cellules sont ceux dans lesquelles le produit entraîne une réaction mesurable dans des cellules spécifiques : agglutination, Lyse, fusion ou production d'une substance chimique décelable. Ces essais peuvent donner des résultats plus variables que les précédents et l'on doit les réaliser avec beaucoup de soin pour obtenir des résultats cohérents. On les utilise souvent pour doser l'activité.

Les essais sur les animaux sont plus difficiles à réaliser et impliquent de soigner, d'entretenir et de manipuler des animaux et demande beaucoup de temps et sont très variables. On compare la réaction biologique à un principe actif dans l'espèce qui convient à la réaction à un produit de référence ou à des témoins qui n'ont pas reçu pour évaluer l'activité. On teste ainsi la pyrogénicité, l'innocuité générale et l'activité des produits. A cause de leur coût, de grand nombre d'animaux utilisés, du temps et de la variabilité, ces essais ne sont réalisés en général que pour la sortie du produit final.

Les essais sur les cellules ou sur animaux peuvent avoir une variabilité qui dépasse les 50.% suivant l'utilisation des essais, différents paramètres doivent être mesurés au cours de la validation. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) et plusieurs organismes de réglementation, ainsi que les pharmacopées, ont publié des informations sur la validation des procédures analytiques. [16]

### **II.3.2. Validation des essais analytiques**

La validation des essais analytiques consiste à établir les critères suivants:

Précision, linéarité, portée, limite de détection, limite de quantification, spécificité, robustesse, suivant le type de l'essai. Pour les méthodes physico-chimiques, ces paramètres

ont des limites définies et acceptées. Les essais biologiques donnent des résultats beaucoup plus variables et font souvent appel à des animaux ou à des cellules dont leur nature est variable. Les critères d'acceptation peuvent donc être assez larges.

Dans le cadre du présent guide, nous n'aborderons que les essais analytiques à savoir:

**L'exactitude:** correspond à la proximité des valeurs réelles et dosées. Pour la mesurer, on procède à des études sur des échantillons enrichis ou des tests de rendement : on ajoute à des excipients connus et l'on compare la teneur réelle en principe actif à celle trouvée par l'essai.

**La précision:** correspond à la proximité des valeurs obtenues au cours d'un essai. Elle s'exprime par le coefficient de variation. Ce dernier est l'écart type des valeurs de l'essai, divisé par la teneur en produit analysé.

**La robustesse :** la capacité d'un essai pour résister aux changements délibérés de divers paramètres et dans une indication de sa fiabilité dans des conditions normales de réalisation. Les variations peuvent concerner la salle, la température de l'incubateur, l'humidité, la durée d'incubation, de petites modifications des pH d'un réactif ... etc.

**La linéarité :** représente, pour un essai, la possibilité d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration des produits analysés dans l'échantillon. La détermination de ce paramètre permet d'établir les limites de l'essai analytique. On peut mesurer la linéarité au moyen de la pente de la courbe de régression et de la variance.

**La sélectivité (ou spécificité) :** est la capacité d'un essai pour doser le produit à réaliser en présence d'autres composants que l'on s'attend à trouver dans la préparation. En mesure ce paramètre pour les tests d'identification, l'analyse de contenu, l'activité où les tests de pureté, afin de s'assurer que l'essai donne bien une information exacte de l'identité, de l'activité ou de la pureté du produit.

**La limite de détection :** correspond à la plus faible quantité du produit analysé susceptible d'être quantifiée dans un échantillon sans obligatoirement établir sa concentration ou sa quantité exacte.

**La limite de dosage:** correspond à la plus faible quantité du produit analysé susceptible d'être dosée quantitativement dans un échantillon avec une exactitude et une précision exacte. Il s'agit d'un paramètre pour les tests dosant les impuretés dans un produit pharmaceutique. Le tableau ci-dessous a été établi d'après le document de l'OMS sur la

validation des essais analytiques. Il indique les paramètres à valider pour les différents types d'essais. [16]

**Tableau II-1** : Caractéristiques à prendre en compte pour les différents types des méthodes analytiques [16]

Paramètres	Identité	Impuretés		Activité	Composition
		Test quantitatif	Test qualitatif		
Exactitude		+		+	+
Précision		+		+	+
Robustesse	+	+	+	+	+
Linéarité et domaine d'utilisation		+		+	+
Sélectivité (spécificité)	+	+	+	+	+
Limite de détection			+		
Limite de dosage		+			

### II.3.3. Validation des procédés

Un procédé est une série de fonction et activité interdépendante mettant en œuvre diverse action spécifique et des équipements ou matériels pour produire un résultat défini. Pour valider la reproductibilité et l'uniformité d'un procédé, il faut exécuter celui-ci en moins trois fois dans son ensemble. Avec tout le matériel valider les modalités établies doit répondre constamment et uniformément aux critères d'acceptation à chaque fois pour pouvoir être validé. Dans de nombreux cas, on utilise la situation la plus défavorable pour s'assurer que le procédé reste valable même dans des conditions extrêmes. Parfois, pour les

systemes, ces situations les plus défavorables ne peuvent être testées en réalité que sur une longue période et elles devront donc être évaluées à l'aide d'un programme de contrôle rigoureux à long terme.

Exemples de procédés à valider dans l'industrie pharmaceutique :

- Nettoyage ;
- Assainissement;
- Fumigation ;
- Dépyrogénéation;
- Stérilisation;
- Remplissage stérile ;
- Fermentation ;
- Production en gros;
- Purification;
- Remplissage, pose des bouchons, scellage;
- Lyophilisation.

Chacune de ces catégories peut s'appliquer à plusieurs procédés distincts dans l'établissement de fabrication. Par exemple, le procédé de nettoyage peut concerner la verrerie, les locaux (sols et murs), le matériel (nettoyage sur place ou ailleurs) ou les vêtements. La stérilisation s'applique au processus de stérilisation sur place ou à la stérilisation de la verrerie ou des filtres, à la stérilisation à la vapeur ou à la chaleur sèche, etc. Chaque procédé à valider doit être clairement défini et décrit dans une formule originale. Tout le matériel, tous les paramètres et tous les spécifications techniques doivent être détaillées à chaque étape. Pour le matériel, il faut donner des descriptions complètes de l'identité, du code, la construction, la capacité et des limites réelles de fonctionnement. Il faut suffisamment détailler les paramètres de procéder à chaque étape pour qu'il soit totalement reproductible chaque fois qu'il est mis en œuvre : durées, pH, volumes, températures, dosages, spécifications, limites acceptables ...etc. Il faut aussi définir les contrôles et les tests, ainsi que leurs spécifications. En définit aussi à chaque étape les profils de pureté pour les procédés de production. Pour être validé, un procédé doit obéir uniformément à toutes les spécifications et à toutes les étapes, au moins trois fois consécutives.

Il est très important de déterminer à l'avance les spécifications techniques du procédé avant d'être validé. Il est aussi important de disposer d'un matériel nécessaire pour

mesurer au cours de la validation tous les paramètres essentiels pour lesquels des spécifications ont été définies.

La validation d'un procédé examine celui-ci dans des conditions normales d'exploitation pour établir qu'il est bien contrôlé. Une fois validé, le procédé doit rester bien maîtrisé dans la mesure où aucun changement n'est apporté. Si des modifications interviennent, s'il y a des problèmes ou si le matériel des équipements des systèmes sont changés, il faudra revalider le procédé. Très souvent, les études de validation imposent de faire plus de mesures qu'en temps normal. La validation doit trouver l'uniformité du procédé et donc évaluer l'efficacité et l'efficience de chaque étape dans la production du résultat requis. [16]

## II.4. Etude statistique des critères de validation

### II.4.1. Linéarité

#### I.4.4.1.1. Régression linéarité simple

Pour utiliser la méthode de régression linéarité au moindre carré, il faut que les deux variables  $x$  et  $y$  jouent un rôle différent. On dit que la variable  $y$  est expliquée ou dépendante et que la variable  $x$  est explicative ou indépendante.

$$y = b x + a \dots\dots\dots(1)$$

On prépare la solution étalon  $x_i$  et on mesure la réponse  $y_i$

La variation de  $y$  est due à la variation de  $x$ , cette hypothèse fondamentale d'étalonnage directe va permettre d'appliquer la méthode aux moindres carrés.

Le principe de la méthode consiste à calculer les coefficients  $a$  et  $b$  en essayant de minimiser la somme des distances entre les valeurs observées  $y_i$  et les valeurs prédites correspondantes  $\hat{y}_i$ . Les formules utilisées pour la détermination des paramètres de l'équation de la droite de régression  $a$  et  $b$  [8] sont :

$$a = \frac{SPE_{xy}}{SCE_x} \dots\dots\dots(2) \quad \text{avec } a: \text{ La pente ou sensibilité,}$$

$$b = \bar{y} + a \bar{x} \dots\dots\dots (3) \quad \text{avec } y: \text{ Ordonnée l'origine ou blanc analytique}$$

$$\bar{X} = \sum X_i / n \dots\dots\dots(4) \quad \text{Moyenne des } x_i$$

$$\bar{y} = \sum y_i / n \dots\dots\dots (5) \quad \text{Moyenne des } y_i$$

$$SCE_x = \sum (x_i - \bar{x})^2 \dots\dots\dots (6) \quad \text{Somme des carrés des écarts pour } x$$

$$SCE_y = \sum (y_i - \bar{y})^2 \dots\dots\dots (7) \quad \text{Somme des carrés des écarts pour } y$$

$$SPE_{xy} = \sum_i (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) \dots\dots\dots (8) \quad \text{Somme des produits des écarts}$$

#### II.4.1.2. Coefficient de corrélation de la droite de régression :

Le coefficient de corrélation a été développé pour mesurer la corrélation, c'est-à-dire la liaison entre deux variables  $x$ ,  $y$  et sa valeur est toujours comprise entre -1 et +1.

Il est très efficace pour contrôler un étalonnage. [17]

$$r = \frac{SPE_{xy}}{\sqrt{SCE_x * SCE_y}} \dots\dots\dots (9) \quad \text{avec } r: \text{ coefficient de corrélation de la droite de régression.}$$

#### II.4.1.3. Teste de linéarité

La relation qui lie la réponse à la concentration doit être réellement linéaire, c'est pourquoi une des premières études de validation consistera à définir un domaine de concentration où on est sûr que le modèle d'étalonnage est bien linéaire (Si on observe une courbure du droit étalon, il est indispensable de réduire la gamme étalon de façon à obtenir un véritable domaine de linéarité). Le teste de linéarité est appliqué pour vérifier si une courbe d'étalonnage est bien une droite. [17]

Dans les formules on introduit deux indices car il est indispensable de répéter les mesures sur chaque solution étalon pour faire le test : l'indice  $i$  ( $3 \leq i \leq p$ ) désigne le numéro de la solution étalon et  $j$  ( $2 \leq j \leq ni$ ) celui de la répétition avec  $ni$  le nombre de répétition pour une solution.

$y_i$  : réponse mesure

$\bar{y}$  : moyenne générale.

$\hat{y}_{ij}$  : la réponse prédite par modèle

$\bar{y}_i$  : est la moyenne pour les  $ni$  répétition de la solution  $i$

##### a) Test d'existence d'une pente significative

La procédure pour conduire le test nécessite le calcul des sommes suivantes :

$$SCE_T = \sum Y_{ij}^2 - 1/N (\sum Y_{ij})^2 \dots\dots\dots (10) \quad \text{Variation totale}$$

$$SCE_L = b^2 - \sum nx_j^2 - \frac{\sum (nx_j)^2}{N} \dots\dots\dots (11) \quad \text{Variation due à la régression (variation intergroupe)}$$

$$SCE_R = SCE_T - SCE_L \dots\dots\dots (12) \quad \text{Variation résiduelle (l'ensemble des erreurs)}$$

n : nombre des  $Y_{ij}$  par groupe

N : nombre total des  $Y_{ij}$

K: nombre de groupe

b: pente de la droite régression

L'analyse des variances est décrite dans le tableau I-3ci -dessous :

**Tableau II-2 : Analyse des variances**

Source de variation	Somme de carrés	Degrés de liberté	Variances	F de Fisher
Linéarité	$SCE_L$	1	$S_L^2 = SCE_L$	$F_1 = \frac{S_L^2}{S_R^2}$
Résiduelle	$SCE_R$	N- 2	$S_R^2 = \frac{SCE_R}{N-2}$	
Totale	$SCE_T$	N-2		

Le test est valide si  $F_1 \text{ calculé} \geq F \text{ théorique}$  au risque choisi.

**II.4.1.4. Test de comparaison de l'ordonnée à l'origine avec zéro :**

Ce test permet de vérifier si la valeur de l'ordonnée à l'origine n'est pas significativement différente de zéro

Les formules utilisées dans ce test sont :

$$T = \frac{a}{S_b} \dots \dots \dots (13)$$

Avec

T : test de Studette.

a : Pente de la droite de régression

$S_b$  : Ecart type de l'ordonnée à l'origine

$$S_b = \sqrt{S_b^2}$$

$$S_b^2 = S_e^2 \left( \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{SCE_X} \right) \dots \dots \dots (14) \quad \text{Variance de l'ordonnée à l'origine}$$

$$S_e^2 = \frac{SCE_Y - a SPE_{XY}}{n-2} \dots \dots \dots (15) \quad \text{Variance résiduelle}$$

A partir de ces formules, on peut vérifier très facilement si la droite passe par le zéro

Ce test est valide si  $T_{\text{calculé}} < T_{\text{théorique}}$  au risque 1% et 5% de la table student [18]

#### **II.4.1.5. Test d'évaluation statistique de l'homogénéité des variances (Test de Cochran) :**

Le test de Cochran permet de vérifier l'homogénéité des variances à l'intérieur de groupe des résultats. Les formules utilisées dans ce test sont :

$$T = \frac{S_j^2 \text{max}}{\sum S_j^2} \dots \dots \dots (16) \text{ Test de Cochran}$$

$S_j^2 \text{max}$  : est la plus grande des variances mesurées sur les j groupes de mesures

$S_j^2$  : Variances des valeurs dans un groupe.

$$S_j^2 = \frac{SCEX}{n-1} \dots \dots \dots (17)$$

En toute rigueur il faut que le nombre de mesure soit exactement identique dans chacune des groupes. Si T est inférieur à la valeur critique de la table au seul 0,05% ; Le test de Cochran n'est pas significatif ; l'ensemble des variances est considéré comme homogène. [18]

#### **II.4.2. Fidélité**

##### **II.4.2.1. Détermination du coefficient de variation**

Le coefficient de variation(CV) est l'écart type relatif à une moyenne, les analystes ont l'habitude de l'utiliser pour mesurer l'incertitude d'une méthode d'analyse. On peut exprimer la fidélité d'une méthode par un coefficient de variation de la répétabilité.

(CV<sub>r</sub>) et le coefficient de variation de la reproductibilité(CV<sub>R</sub>). [18]

$$CV_r = 100 \frac{S_r}{\bar{X}} \dots \dots \dots (18) \text{ équation du coefficient de la répétabilité}$$

$$CV_R = 100 \frac{S_R}{\bar{X}} \dots \dots \dots (19) \text{ équation du coefficient de la reproductibilité}$$

Pour cela on doit calculer Sr S<sub>R</sub>

$$T_1 = \sum_{j=1}^k n_j \bar{y}_j (1) \quad , \quad T_2 = \sum_{j=1}^k n_j \bar{y}_j^2 (2)$$

$$T_3 = \sum_{j=1}^k n_j \quad (3) \quad , \quad T_4 = \sum_{j=1}^k n_j^2 \quad (4) \quad , \quad T_5 = \sum_{j=1}^k (n_j - 1)S_j^2 \quad (5)$$

$$S_r^2 = \frac{T_5}{(T_3 - k)} \text{ Variance de répétabilité}$$

$$S_R^2 = S_r^2 + S_g^2 \text{ Variance de reproductibilité}$$

$$S_g^2 = \left[ \frac{(T_2 T_3) T_1^2}{T_3 (K-1)} \cdot S_r^2 \right] \cdot \left[ \frac{T_3 (K-1)}{T_3^2 - T_4} \right] \text{ Variance intergroupe}$$

### II.4.3. Exactitude

Ce test permet d'informer si le recouvrement sur tout l'intervalle de mesure est satisfaisant. Le pourcentage de recouvrement (récupération) entre les valeurs  $X_i$  et les valeurs  $X_i^*$  est calculé par la formule suivante : [18]

$$PR = \frac{X_i}{X_i^*} \times 100\% \dots\dots\dots (20) \text{ Le pourcentage de recouvrement}$$

Avec :

$X_i$  : La quantité retrouvée;

$X_i^*$  : La quantité introduite.

Le taux de recouvrement moyen  $\bar{Y}$  est calculé par la formule suivante :

$$\bar{Y} = \frac{\bar{X}_i}{X_1^*} \times 100\% \dots\dots\dots (21) \text{ Le taux de recouvrement moyen}$$

L'intervalle de confiance

$$LS = \bar{Y}_1 + t(\alpha, N-1) \frac{S_r}{\sqrt{N}} \dots\dots\dots (22) \text{ La limite supérieure}$$

$$LS = \bar{Y}_1 - t(\alpha, N-1) \frac{S_r}{\sqrt{N}} \dots\dots\dots (23) \text{ La limite inférieure}$$

Avec :

$t(\alpha, N-1)$  : Coefficient de Student

$N$  : L'écart type de recouvrement

$\bar{Y}_1$  : Taux de recouvrement moyen

### II.5.1. Définition de la qualité

La **Qualité** peut se définir comme la capacité à atteindre les objectifs caractéristiques d'une entité qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites

Tandis que la norme **ISO 9000 : 2000** la définit comme l'aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques à satisfaire des exigences. [17]

Dans la pratique la qualité se décline sous deux formes :

- **La qualité externe**, c'est lorsqu'un produit ou service répond parfaitement aux besoins et attentes des clients. Au quotidien, de nombreuses entreprises perdent des parts de marchés, car elles ne peuvent pas répondre efficacement aux exigences des clients. [18]
- **La qualité interne**, correspondant à l'amélioration du fonctionnement interne de l'entreprise, l'objet de la qualité interne est de mettre en œuvre des moyens permettant de décrire au mieux l'organisation, de repérer et de limiter les dysfonctionnements. Les bénéficiaires de la qualité interne sont la direction et les personnels de l'entreprise. Cette dernière passe généralement par une étape d'identification et de formalisation des processus internes réalisés grâce à une démarche participative. [10]

### II.5.2. Assurance de la qualité

L'assurance de la qualité remonte aux années 1950, elle tend à maîtriser la mise en place des systèmes et structures organisés au département de la défense américaine, vis-à-vis de ses fournisseurs. Elle a été créée par des clients exigeants, qui voulaient être sûrs avant même le démarrage des études ou de la fabrication que le produit commandé satisfait ses exigences en ce qui concerne :

- Les caractéristiques techniques du produit ;
- Les délais de livraison ;
- Les coûts de la réalisation.

En d'autres termes ces clients voulaient être assurés avant de passer la commande ou de signer un contrat qu'ils avaient toutes les chances d'obtenir exactement à savoir :

- Ce qu'ils voulaient ;
- Quand ils le voulaient;
- Au prix convenu.

Selon la norme **ISO** : l'assurance qualité regroupe les actions préétablies est systématique nécessaire pour donner la confiance appropriée en ce qu'un produit ou un service satisfera aux exigences données relatives à la qualité. [17]

Dans le domaine pharmaceutique l'assurance de qualité est un large concept qui couvre tout ce qui peut individuellement ou collectivement influencer la qualité d'un produit. Elle représente l'ensemble des mesures prises pour s'assurer que les médicaments fabriqués sont de la qualité requise pour auquel ils sont destinés. [10]

#### **II.5.2.1. Objectifs de l'assurance de qualité**

- Assurer la conformité du produit en prenant toutes les mesures et précautions nécessaires avant que le produit soit fabriqué ou que le service soit rendu,
- Démontre que la qualité peut être obtenue au moyen de document décrivant de façon clair et accessible toutes les précautions et mesures prises en faveur de la qualité. [20]

#### **II.5.3. Bonnes pratiques de fabrication (BPF)**

Les bonnes pratiques de fabrication constituent un des éléments de l'assurance de qualité ; elles garantissent que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon cohérente et selon les normes de qualité adaptées à leur emploi et requises par l'autorisation de mise sur le marché.

Le seul objectif des BPF est donc de reproduire la qualité de produit telle qu'elle est décrite dans le dossier d'AMM (Autorisation de mise sur le marché).

Pour les aspects de la qualité, il existe des normes ISO (Organisation internationale de normalisation) dont surtout les normes ISO 9000. [10]

#### **II.5.4. Autorisation de mise sur le marché**

Le dossier complet de demande d'AMM comprend quatre parties :

- Pharmaceutique (galénique et analytique);
- Toxicologique;
- Pharmacologie;
- Clinique.

Le dossier pharmaceutique a pour objet de définir le médicament de façon aussi précise et indiscutable que possible, à la fois par les conditions de fabrication et par les contrôles effectués sur les matières premières. En cours de production et sur le produit fini. Il comprend par conséquent, les éléments suivants :

- Composition quantitative et qualitative;
- Description des procédés de fabrication;
- Contrôles des matières premières et des articles de conditionnement;
- Contrôle des produits finis;
- Description des conditions de conservation et du mode d'administration. [10,21]

De fait que chaque médicament est un cas particulier, des explications doivent être données pour justifier le choix qui a conduit à l'établissement de chacun de ces éléments.

Toutes ces justifications reposent essentiellement sur les données de recherche antérieure faite sur le produit, dont en particulier les études galéniques et analytiques approfondies dites de préformulation, réalisées au cours de la période de conception au cours de ces études, il est tenu compte des recherches faites pour l'établissement des autres parties du dossier d'AMM (pharmacocinétique, biodisponibilité et marge thérapeutique) ainsi que des contraintes réglementaires, technologique et économiques.

## CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

Cette partie décrit les différentes étapes effectuées au cours de notre projet de valider la méthode de dosage de produit fini LAMIDAZ<sup>®</sup>1%.

L'objectif de cette partie est d'évaluer la fiabilité de la méthode de dosage. Cette étude a été effectuée au niveau du laboratoire de contrôle de qualité de l'unité de production pharmaceutique SAIDAL BIOTIC –EL HARRACH, un stage pratique a été réalisé pour envisager la validation de la méthode de dosage analytique du principe actif (Terbinafine chlorhydrate) de la crème LAMIDAZ<sup>®</sup>1%.

### III.1. Préparation de la crème LAMIDAZ<sup>®</sup> 1%

#### III.1.1. Matériel

Dans la production de forme pâteuse, les appareils, les plus couramment utilisés sont surtout les mélangeurs-malaxeurs à mouvement planétaire, munis d'un jeu de fouets de formes diverses qui seront choisis en fonction de la consistance de la crème. Il faut dans la mesure de possible éviter l'inclusion de bulles d'air dans la masse. Pour cela on doit plonger le fouet ou crocher à une profondeur suffisante dans la masse et régler convenablement la vitesse mais le mieux est d'effectuer le malaxage sous vide.

Les mélangeurs sont en acier inoxydable, l'enceinte de ces mélangeurs doit être munie d'une double enveloppe dans laquelle on fait circuler un fluide chaud pendant le mélange puis ensuite un fluide froid pour assurer un refroidissement suffisamment rapide. Il est plus de la grande importance de pouvoir régler avec précision la température pendant toute la durée de la fabrication. [20]

En dehors des mélangeurs malaxeurs, on utilise aussi des mélangeurs à hélices, des agitateurs à turbines, des agitateurs à palettes, les palettes ou ancres épousent la forme du fond récipient. Ces différents mélangeurs suffisent dans la plupart des cas, mais il faut parfois une homogénéisation parfaite.

Pour les émulsions, on a recours soit à l'homogénéisateur à filière, soit au broyeur colloïdal. Pour la préparation d'une des phases, on utilise des cuves annexes. Le système d'agitation est comparable à celui du mélangeurs-malaxeurs.

### **III.1.2. Les étapes de préparation de la crème**

#### Etape 1 : préparation de phase aqueuse

Dans la cuve de prémélange TK113 l'eau purifiée est chauffée à 61°C ensuite en ajoutant graduellement sous agitation une quantité de terbinafine et HCl, en augmentant la température jusqu'à 75°C. Puis le mélange réactionnel est mis sous agitation jusqu'à dissolution complète.

#### Etape2 : préparation de la phase huileuse

Les réactifs ci-dessous sont introduits dans la cuve prémélange TK114 :

- Le polysorbate 60
- Le myristate d'isopropyle.

Le mélange réactionnel est chauffé jusqu'à la température de 31°C en agitant pendant 5 minutes, puis en dispersant l'alcool stéarylique et l'alcool cetylique, en maintenant l'agitation pendant 10 minutes, ensuite en ajoutant le monostéarate de sorbitane sa dissolution complète la cetyle palmitate et l'alcool benzylique seront ajoutés tout en tant maintient l'agitation pendant 15min.

#### Etape3 : préparation de la solution d'hydroxyde de sodium

L'hydroxyde de sodium est solubilisé dans l'eau distillée en utilisant un récipient adéquat.

#### Etape 4 : préparation la crème

La phase aqueuse est transférée dans la cuve de préparation DELMIX avec un faible débit ensuite la phase huileuse est ajoutée. Le mélange réactionnel obtenu est mélangé pendant 10minutes, la solution d'hydroxyde de sodium est additionnée au mélange ensuite une quantité d'eau est ajoutée. Le mélange obtenu est soumis à une agitation jusqu'à l'homogénéisation de la crème. L'agitation est maintenue pour un temps additionnels, approximativement 60minutes. Finalement la mase obtenue est maintenue sous agitation sous vide pour l'élimination éventuelle existence des bulles d'air. [20]

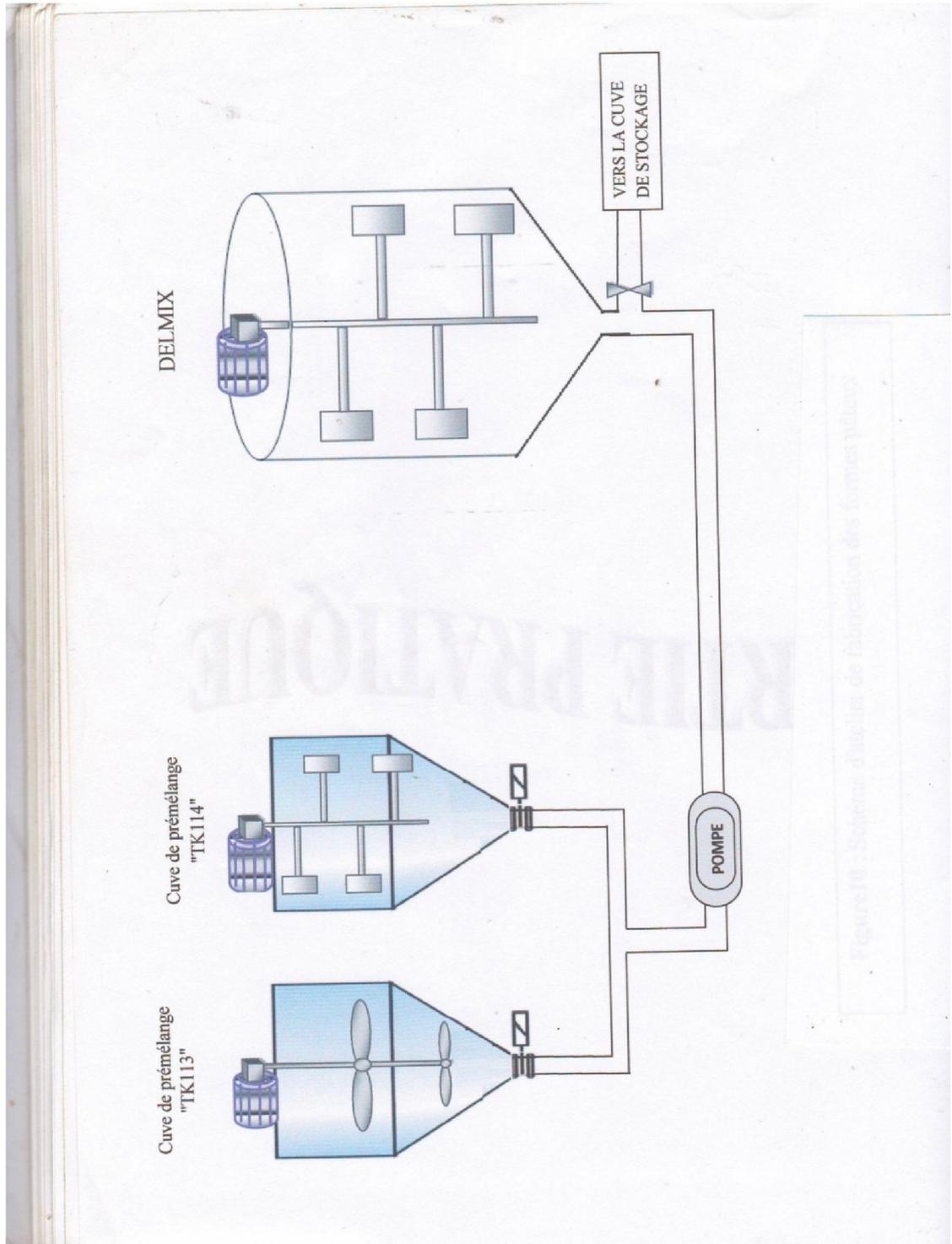


Figure III.1 : Schéma d'atelier de fabrication des formes pâteux.

## III .2. Les contrôles effectués sur la crème

### III.2.1. Contrôle visuel

Les contrôles effectués ci-dessous sont déterminés sur la base de consultation du recueil des spécimens des articles de conditionnement de la forme pâteuse.

**A-Contrôle de la pesée :** une pesée moyenne sur les 30 tubes prélevés a été réalisée, cette dernière est comparée avec les critères d'acceptabilité en prenant en considération le poids du tube vide déterminé lors du contrôle des articles de conditionnement.

Critères d'acceptabilité :  $P = [15 \pm 2] \text{ g}$

**B-Conditionnement primaire :**

Tube : lisibilité du numéro de lot et la date de péremption

Scellage et propretés du tube.

**C-Conditionnement secondaire :**

La présence des éléments ci-dessous a été vérifiée :

- Etui : Impression de N° lot, Date de FAB (et/ou) Date d'EXP
- Vignette : Impression de N° lot, Date de FAB et Date d'EXP, selon la planche des prix en vigueur.
- Notice : conforme au produit fini pâteux correspondant.

### II.2.2. Contrôle physico-chimique

Afin d'effectuer le contrôle physico-chimique de la crème étudiée, il a été nécessaire l'usage de :

#### Appareillage

- Spectrophotomètre UV-Visible de marque Perkin Elmer (**La figure III-2** dans l'annexe),
- HPLC chromatographie en phase liquide à haute performance de marque Agilent 1100 (**La figure III-3** dans l'annexe) dont les caractéristiques sont comme suit :

Colonne : Discovery<sup>®</sup>C18 (5µm), d'une longueur de 25 cm et d'un diamètre intérieur 4,6 mm,

Température : température de chambre,

Débit : 2mL/mn.

Volume injecté : 20 $\mu$ l

Détecteur UV : 220nm 

- pH-mètre.

#### **Accessoires et verreries**

- Balance analytique de marque Ba 1104AG2025. ; précision de 0,001g (pour les dosages précis).
- Bain ultrason de marque MUJIGAE SEONG DONG (chauffage, temps).
- Pipette de 2mL à deux traits de jauge de précision  $\pm 0,015$ mL.
- Fiole de 100mL à un trait de jauge de précision  $\pm 0,100$  mL.
- Fiole de 50mL à un trait de jauge de précision  $\pm 0,60$ mL.
- Bécher, spatule.

#### **Réactifs**

- Solution de potassium diacide d'ortho phosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0,01M.
- Acétonitrile.
- Acide phosphorique dilué.
- Terbinafine chlorhydrate étalon (grade de référence SCR).
- Méthanol (grade analytique R).

#### **III.2.2.1. pH :**

Préparer une solution de 10 g de crème dans 100mL d'eau purifiée.

Critères d'acceptabilité : **pH= [5  $\pm$  1]**

#### **III.2.2.2. Dosage du principe actif Chlorhydrate de terbinafine par :**

##### **III.2.2.2.1. Spectrophotométrie -UV-Visible : [22]**

Le protocole expérimental suivi pour effectuer le dosage UV-Visible est comme suit:

**-Solution témoin :** dissoudre une prise d'essai de 50mg de terbinafine chlorhydrate dans 50 mL de méthanol R. 2 mL de cette solution ont été introduits dans une fiole jaugée de 100 mL ensuite le volume a été complété avec du méthanol R jusqu'au trait de jauge.

**-Solution essai :** 0,20g de crème LAMIDAZ<sup>®</sup> a été solubilisée dans quelques millilitres de méthanol R. (Agitation jusqu' à dissolution complète dans un bac d'ultrason), ensuite la

solution a été transférée dans une fiole jaugée de 100mL et compléter au trait de jauge avec du méthanol R.

-La longueur d'onde maximale du principe actif étudié a été mesurée à  $\lambda_{max} = 283\text{nm}$

- Formule de calcul :

La teneur en terbinafine chlorhydrate est donnée par la formule suivante :

$$T = \frac{Ae * Pt * 4}{At * Pe} \dots\dots\dots (III-1)$$

**Avec :**

**Ae :** Absorbance de la solution essai.

**At :** Absorbance de la solution témoin.

**Pt :** Prise d'essai de terbinafine chlorhydrate(SCR) en mg.

**Pe :** Prisse d'essai de la crème LAMIDAZ ®1%.

**Critère d'acceptabilité ;** **T = [1,00 ± 0,05] %**

### III.2.3. Etude de la stabilité

L'étude de stabilité en cours d'utilisation permet d'établir une durée de validation et des conditions de stockage d'un produit pharmaceutique multi dose après ouverture et /ou reconstitutions.

La stabilité de crème a été étudiée dans les conditions de temps réel (trois mois, six mois jusqu'à deux ans) et d'autre part dans les conditions accélérées afin de savoir la durée de péremption et avoir une idée sur la résistance de produit en état de stress. [23]

#### III.2.3.1. Dosage du principe actif CHLORHYDRATE DE TERBINAFINE par HPLC

Le protocole expérimental suivi pour effectuer le dosage par HPLC est comme suit:

**Phase mobile :** Une solution de potassium diacide d'orthophosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0,05M 50V a été mélangée avec 50V d'acétonitrile. Le pH a été ajusté à la valeur de 2,8 à l'aide de l'acide phosphorique dilué. Ce mélange a été filtré et dégazé.

**Solution standard :** une masse de 50 mg de terbinafine a été solubilisée par la phase mobile dans une fiole de 50mL en utilisant un bain ultrason pendant 15 minutes, ensuite la fiole a été remplie par la phase mobile, puis 5,0 mL de cette solution a été transférée dans une fiole de 100 mL et complétée jusqu'au trait de jauge.

**Solution Essai :** 25 mg de la crème (cette quantité de crème contient théoriquement 25mg terbinafine) a été introduite dans un erlenmeyer puis a été solubilisée par 150mL de phase mobile. Ensuite l'erlenmeyer a été placé dans un bain ultrason pendant 15mn puis la solution a été transférée dans une fiole de 250mL et complétée jusqu'au trait de jauge par la phase mobile. 50 mL de cette dernière a été filtré puis transféré dans une fiole de 100mL et complétée jusqu'au trait de jauge par la phase mobile.

Teneur en chlorhydrate de terbinafine est déterminée comme suit :

$$T = \frac{Pp * Fr * 25 * 100}{Fr * Pp * 50} \dots \dots \dots \text{(III-2)} \quad \text{Avec:}$$

**Fp :** Surface du pic du principe actif.

**Pr :** Prise d'essai de la substance de référence.

**Fr :** Surface du pic de la solution de référence.

**Pp :** Prise d'essai de la crème.

**Critère d'acceptabilité ;  $T = [1,00 \pm 0,05] \%$**

### **III.4. Vérification des critères de la validation sur la crème**

#### **III.4.1. la spécificité**

Cette solution a été préparée à partir de la forme pharmaceutique reconstituée sans principe actif terbinafine chlorhydrate. Les absorbances sont enregistrées sur le spectromètre UV- Visible dans le domaine de 283nm.

#### **III.4.2. La linéarité**

L'étude a été réalisée sur la forme pharmaceutique reconstituée de la crème LAMIDAZ et le principe actif terbinafine chlorhydrate en commençant par :

##### **1-Le principe actif**

Il a été préparé, pour le principe actif seul cinq échantillons contenant respectivement 80%, 90%, 100%, 110%,120% de la quantité théorique de principe actif.

##### **Préparation des échantillons**

Les cinq échantillons (indice j) ont été préparés de la même façon avec X= (80%, 90%, 100%, 110%,120%) et suivant le protocole ci-dessous :

- Dans un bécher, nous avons pesé une quantité de X mg de terbinafine chlorhydrate et compléter par 50mL du méthanol R, puis agiter dans un bac d'ultrason jusqu'à dissolution complète,
- La solution préparée précédemment a été diluée par le même solvant dans une fiole jaugée de 100mL.
- 2 mL de la solution précédente ont été dilués par le même solvant jusqu'au trait de jauge d'une fiole de 50mL.
- L'absorbance UV a été mesurée pour  $\lambda = 283\text{nm}$ .

##### **2. Forme reconstituée**

Après la préparation de la forme pharmaceutique reconstituée contenant les cinq échantillons respectivement 80%, 90%, 100%, 110%,120% de la quantité théorique de la crème, la dilution de la crème reconstituée a été faite en suivant le même protocole que pour le terbinafine chlorhydrate. L'absorbance a été mesurée à  $\lambda = 283\text{nm}$ .

### III.4.3. Exactitude

L'exactitude a été vérifiée sur la forme pharmaceutique reconstituée de la crème et à 100% par des études statistiques et à partir des valeurs obtenues de la linéarité.

### III.4.4. Fidélité

L'étude de la fidélité a été réalisée sur la forme pharmaceutique reconstituée. On a sept échantillons (indice j) de la forme pharmaceutique reconstituée contenant 100% de la quantité théorique de principe actif a été préparée et analysée. Cette opération a été répétée deux fois à raison d'une fois par jour (indice i).

#### *Préparation des échantillons*

- 2g de la forme reconstituée à 100% de terbinafine chlorhydrate a été pesée,
- La quantité précédente a été solubilisée par du méthanol R dans une fiole de 100mL jusqu'à dissolution complète,
- 2 mL ont été prélevés de la solution précédente et transférée dans une fiole de 50mL et cela a été fait pour les sept solutions et durant les trois jours,
- L'absorbance a été mesurée à  $\lambda = 283\text{nm}$ .

### III.5. Contrôle microbiologique

Le mode opératoire suivi dans cette étude décrit la technique de contrôle microbiologique des préparations pharmaceutiques pâteuse à savoir:

#### Domaine d'application

La méthode étudiée s'applique au contrôle microbiologique des préparations pharmaceutiques pour administration par voie cutanée forme pâteuse.

#### Réactifs et accessoires utilisés

- Solution tampon NaCl pH=7,
- Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja,
- Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja,
- Milieu sabouraud dextrose gélosé,
- Gélose céttrimide
- Gélose mannitol -sel,
- Étuve réglée 30-35°C,

- Etuve réglée à 20-25°C,
- Pipette graduée de 10mL et 5mL stériles,
- Boite de pétri 90mm de diamètre,
- Agitateur vortex,
- Bain mari réglé à 100°C,
- Bain mari réglé à 45°C,
- Balance

### **III.5.1. Mode opératoire microbiologique**

Le contrôle de pureté microbienne du produit fini est réalisé par

- Le dénombrement des germes aérobies viables totaux (DGAT),
- Le dénombrement des moisissures ; levures totales (DMLT),
- La recherche de micro-organismes spécifiés : staphylococcus aureus ; Pseudomonas aeruginosa selon la technique suivante:

#### Dénombrement des germes viables totaux

##### Préparation de l'échantillon

-A partir d'un mélange moyen des échantillons prélevés selon le plan d'échantillonnage, une masse de 10g a été pesée et diluée dans 90 mL de la solution tampon peptone au chlorure de sodium pH= 7,0 à (2% jusqu'à 5% tween 80). Cette dernière a été homogénéisée a l'aide du bain marie à une température n'excédant pas 40° C pendant 30 mn.

-Deux autres dilutions au 1/10 ont été effectuées, à partir de la première dilution, dans la même solution tampon.

##### Neutralisation /élimination de l'activité antimicrobienne

La neutralisation ou l'élimination de l'activité antimicrobienne dans la pommade nécessite l'utilisation d'un neutralisant polysorbate 80.

##### Dénombrement sur plaque

Le dénombrement peut être effectué par deux méthodes : l'ensemencement en profondeur ou bien l'étalement en surface:

### A. Ensemencement en profondeur

- Utiliser les boites de pétri d'un diamètre de 90 mm,
- Introduire dans chacune 1 mL de la dilution préparée de l'échantillon à contrôler,
- Ajouter 15 à 20 mL d'un milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja liquéfié pour les bactéries et 15 à 20 mL d'un milieu Sabouraud gélosé pour les levures et moisissures (ces ajouts se réalise à une température ne dépassant pas 45°C).
- Préparer au moins deux boites de pétri par dilution et par milieu
- Incuber à 30 -35 °C pendant 3-5 jours pour les bactéries et à 20 -25°C pendant 5-7 jours pour les levures et moisissures,

### B. Etalement en surface

- Utiliser des boites de pétri d'un diamètre de 90 mm,
- Introduire dans chacune 15 à 20 mL d'un milieu gélosé liquéfié aux peptones de caséine et de soja pour le dénombrement des bactéries et d'un milieu Sabouraud dextrosé gélosé pour les levures et moisissures,
- Étaler à la surface du milieu un volume mesuré de 0,1 mL de la solution préparée de l'échantillon à contrôler.
- Préparer au moins deux boites de pétri par milieu et par dilution
- Incuber à 35 -35°C pendant 3-5 jours pour les bactéries, et à 20-25 pendant 5-7 jours pour les levures et moisissures

### Recherche de micro- organismes spécifiques

#### Staphylococcus aureus :

A partir de homogénéisât A :

- Prélever 10mL qui correspond à 1g de produit puisensemencer 100mL de milieu liquide aux peptones de caséine et de soja
- Homogénéiser et incuber à 30-35°C pendant 18 à 24h,
- Effectuer des subcultures sur milieu gélosé mannitol-sel et incuber à 30-35°C pendant 18 à 72h

## CHIPITRE IV: RESULTATS ET DISCUSSIONS

### IV.1. Contrôle physico-chimique

#### IV.1.1. Dosage du principe actif en cours de fabrication (produit semi-fini) :

Les dosages ont été effectués par UV- vis, le tableau ci-dessous englobe les différents valeurs de paramètres physico- chimiques.

**Tableau IV-1:** Paramètres physico-chimiques du principe actif en cours de fabrication

	LAMIDAZ <sup>®</sup> 1% FAB 02/2016 lot 17.
Aspect	Conforme
pH	5,17
Absorption	A1=0,480; A2=0.482; A3=0,482
Teneur	T=0 ,96%

T conformes aux normes **T = [1,00 ± 0,05] %**

#### IV.1.2. Dosage du produit fini

**Tableau IV-2:** Paramètres physico-chimiques du principe actif sur le produit fini

	LAMIDAZ <sup>®</sup> 1% FAB 02/2016 lot 17
Aspect	Conforme
pH	5,02
Absorption	A1= 0,482 ; A2= 0,485 A3= 0,483
Teneur	T= 0,96%

T conforme à la norme. **T = [1,00 ± 0,05] %**

D'après les résultats trouvés des paramètres physico chimiques, nous avons constaté que :

- Identification de terbinafine chlorhydrate est conforme,

#### IV.1.2. Etude de la stabilité

La stabilité de la crème a été étudiée dans les conditions de temps réel (trois mois) d'une part et d'autre part dans les conditions accélérés afin de savoir la durée de péremption et avoir une idée sur la résistance de produit en état de stress.

**Temps réel** :  $T = 30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  et  $65\% \text{HR} \pm 5\% \text{HR}$

**Tableau IV-3:** Etudes de la stabilité dans les conditions réel.

Essai	001T3A	002T3A	003T3A
Aspect	Conforme	conforme	Conforme
pH	5,527	5,008	4,947
Dosage PA :	106,48	107,31	104,7
Pp	1,2969	1,2726	1,2671
Ae (surface)	7342577	72646607	6608731

Teneur T= 0,9977%  conforme à la norme

**Conditions accélérées** :  $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  et  $75\% \text{HR} \pm 5\% \text{HR}$  (3 mois)

**Tableau IV-4:** Etudes de la stabilité dans les conditions accélérées.

Essai	001T3A	002T3A	003T3A
Aspect	Conforme	Conforme	Conforme
pH	5,316	5,191	4,884
Dosage PA :	107,2	102,9	104,7
Pp	1,2595	1,2667	1,2673
Ae (surface)	7185606	6936527	7060603

Teneur T= 0,9975%  conforme à la norme

### IV.1.3. Etude des critères de la validation

#### IV.1.3.1. Spécificité

La spécificité est la vérification du non interférence du principe actif avec les excipients, pour cela un placebo a été préparé (formulation sans le principe actif). L'enregistrement des spectres UV- Visible dans le domaine 283nm. .

**Tableau IV-5** : Etude de la spécificité.

Nombre d'essai	1	2	3	4
Prise d'essai placebo en (mg)	202	200	200	200
Absorbance à 283 nm	0.002	0.000	0.000	0.000

L'enregistrement des spectres UV-Visible à  $\lambda = 283\text{nm}$ , n'a prouvé aucune absorbance dans ce domaine (les absorbances obtenues avec le placebo sont nulles). Par conséquent, la méthode de dosage est spécifique.

#### IV.1.3.2. Linéarité

La linéarité est la capacité d'une procédure à obtenir des réponses directement proportionnelles à la concentration de la substance étudiée dans l'échantillon. On détermine la droite de régression linéaire. Dans notre travail nous avons effectué des études de linéarité sur :

- Sur le principe actif seul (PA)
- Sur la forme pharmaceutique reconstituée (FR) définie comme le mélange de tous les composés correspondants à la forme pharmaceutique à étudier sauf la substance à analyser qui est ajouté en quantité variable. Pour cela nous avons préparé, cinq échantillons contenant respectivement 80%, 90%, 100%, 110%,120% de la quantité théorique de principe actif.

**IV.1.3.2.1.Principe actif seul :** Terbinafine chlorhydrate à  $\lambda= 283\text{nm}$

**Tableau IV-6 :** Résultats de la linéarité du principe actif seul

Essai n° i/j		Prise d'essai mg	Réponse (absorbance)
<b>Groupe 1</b> <b>80%</b>	1/1	1,6	0,320
	2/1	1,6	0,321
	3/1	1,6	0,320
<b>Groupe 2</b> <b>90%</b>	1/2	1,8	0,401
	2/2	1,8	0,402
	3/2	1,8	0,401
<b>Groupe 3</b> <b>100%</b>	1/3	2,0	0,480
	2/3	2,0	0,481
	3/3	2,0	0,480
<b>Groupe 4</b> <b>110%</b>	1/4	2,2	0,560
	2/4	2,2	0,562
	3/4	2,2	0,560
<b>Groupe 5</b> <b>120%</b>	1/5	2,4	0,640
	2/5	2,4	0,641
	3/5	2,4	0,640

**Interprétation**

La linéarité de la méthode de dosage a été étudiée par une régression obtenue par la méthode des moindres carrés.

❖ Terbinafine chlorhydrate :

***Droite de régression linéaire***

Droite de régression linéaire.  $y=0,399667x-0,32$

**Tableau IV-7** : Droite de régression linéaire du principe actif

$y=a*x + b$
Pente (a)= 0,399667
L'ordonnée à l'origine (a)= -0,32
Coefficient de corrélation $r= 1,0000$
Coefficient de régression ( $r^2$ )= 1,0000

***Comparaison de l'ordonnée à l'origine avec zéro :*****Tableau IV-8** : Comparaison de l'ordonnée à l'origine avec zéro du principe actif.

L'ordonnée à l'origine (b)	-0,32
Ecart type de l'ordonnée à l'origine	0,20
N	15
t calculé	1,59

L'ordonnée à l'origine de la droite n'est pas significativement différente de zéro au seuil probabilité  $p=99\%$ .

$$t_{\text{calculé}} = 1,59 < t_{\text{théorique}1\%} = 3,01$$

***Test d'homogénéité des variances*****Tableau IV-9** : Test d'homogénéité des variances du principe actif.

S 2max	0,0000
Somme des variances	0,0000
C calculé	0,5000
K (nombre d'essai)	5
n (nombre répétitions par essai)	3

L'analyse de l'homogénéité des variances à chaque concentration montre que l'ensemble des variances des différents groupes peut être considéré comme homogène au risque 5%

$$C_{\text{calculé}} = 0,50 < C_{\text{théorique}5\%} = 0,68$$

### Existence d'une pente significative

**Tableau IV-10** : Existence d'une pente significative du principe actif.

	DDL	Somme des carrés	variance	F <sub>1</sub> calculé
Variance totale	14	0,2		333728,80
Variation due à la régression	1	0,2	0,2	
Variation résiduelle	13	0,0	0,0	

### Test de validité de la droite de régression

**Tableau IV-11** : Test de validité de la droite de régression du principe actif.

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Variance	F <sub>2</sub> calculé
Erreur expérimentale	10	0,00000533	0,0000005333333333	1,33
Erreur de régression	3	0,000002132	0,00000071111111373	

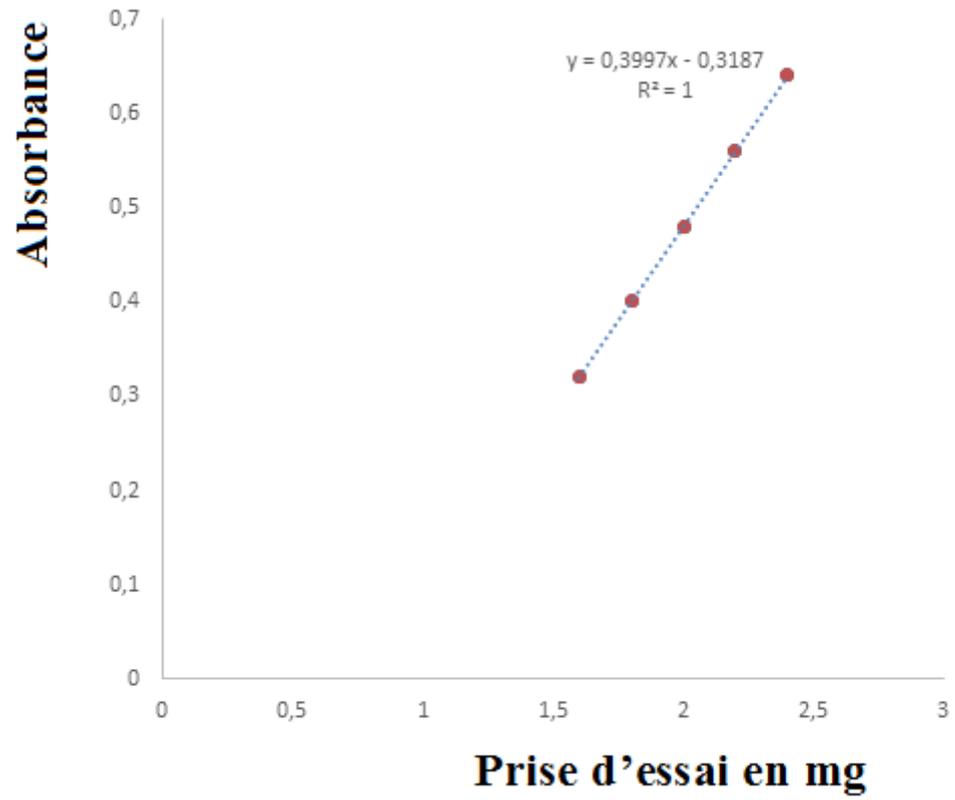
L'ajustement est considéré comme valide au seuil de probabilité  $p = 95\%$ .

$$F_{2 \text{ calculé}} = 1,33 < F_{\text{théorique } 5\%} = 3,71$$

**Tableau IV-12** : Résultats récapitulatif de la linéarité du principe actif.

Pente (a)	0,3999			
Ordonnée à l'origine (b)	- 0,32			
Coefficient de régression ( $r^2$ )	1			
<b>Comparaison de l'ordonnée à l'origine avec zéro</b>				
t calculé	t théorique 5%	t théorique 1%	Condition	Conclusion
1,59	2,16	3,01	$t < t_{\text{théorique}}$	Valide au risque 5%
<b>Homogénéité des variances</b>				
C calculé	C théorique 5%	C théorique 1%	Condition	Conclusion
0,50	0,68	0,79	$C < C_{\text{théorique}}$	Valide au risque 5%
<b>Existence d'une pente</b>				
F <sub>1</sub> calculé	F théorique 5%	F théorique 1%	Condition	Conclusion
333728,80	4,67	9,07	$F_1 > F_{\text{théorique}}$	Valide au risque 1%
<b>Validité de la droite de régression</b>				
F <sub>2</sub> calculé	F théorique 5%	F théorique 1%	Condition	Conclusion
1,33	3,71	6,55	$F_2 < F_{\text{théorique}}$	Valide au risque 5%

Il convient alors de conclure que la méthode de dosage est linéaire.



**Figure VI-1** : Variation de l'absorbance en fonction de la prise d'essai  
(Principe actif Terbinafine chlorhydrate)

### VI.1.3.2.2. Forme reconstituée

**Tableau IV-13:** Résultats de la linéarité de la forme reconstituée  $\lambda=283\text{nm}$ .

Essai n° i/j		Prise d'essai (mg)	Réponse (absorbance)
<b>Groupe 1</b> <b>80%</b>	1/1	160	0,320
	2/1	160	0,321
	3/1	160	0,320
<b>Groupe 2</b> <b>90%</b>	1/2	180	0,401
	2/2	180	0,402
	3/2	180	0,401
<b>Groupe 3</b> <b>100%</b>	1/3	200	0,480
	2/3	200	0,481
	3/3	200	0,480
<b>Groupe 4</b> <b>110%</b>	1/4	220	0,560
	2/4	220	0,562
	3/4	220	0,560
<b>Groupe 5</b> <b>120%</b>	1/5	240	0,640
	2/5	240	0,641
	3/5	240	0,640

#### Interprétation :

La linéarité de la méthode de dosage a été étudiée par une régression obtenue par la méthode des moindres carrés.

#### *Droite de régression linéaire*

L'équation de la droite de régression ;  $y=0,004x-0,32$

**Tableau VI-14:** Droite de régression linéaire de la forme reconstituée.

$y=a*x + b$
Pente (a) = 0,003997
L'ordonnée à l'origine (a) = -0,32
Coefficient de corrélation (r = 1,0000
Coefficient de régression (r <sup>2</sup> ) = 1,0000

**Comparaison de l'ordonnée à l'origine avec zéro**

**Tableau IV-15 :** Comparaison de l'ordonnée à l'origine avec zéro de la forme reconstituée.

L'ordonnée à l'origine (b)	-0,32
Ecart type de l'ordonnée à l'origine	0,12
N	15
t calculé	2,66

L'ordonnée à l'origine de la droite de régression n'est pas significativement différente de zéro au seuil probabilité  $p=99\%$ .

$$t_{\text{calculé}} = 2,66 < t_{\text{théorique}5\%} = 3,01$$

**Test d'homogénéité des variances :**

**Tableau IV-16:** Test d'homogénéité des variances de la forme reconstituée.

$S^2_{\text{max}}$	0,0000
Somme des variances	0,0000
$C_{\text{calculé}}$	0,5000
K (nombre d'essai)	5
n (nombre répétitions par essai)	3

L'analyse de l'homogénéité des variances à chaque concentration démontre que l'ensemble des variances des différents groupes peut être considéré comme homogène au risque 5%

$$C_{\text{calculé}} = 0,50 < C_{\text{théorique}5\%} = 0,68$$

**Existence d'une pente significative :**

**Tableau IV-17 :** Existence d'une pente significative de la forme reconstituée.

	DDL	Somme des carrés	variance	$F_1$ calculé
Variance totale	14	0,2		333728,80
Variation due à la régression	1	0,2	0,2	
Variation résiduelle	13	0,0	0,0	

$F_1$  calculé étant significatif, on conclut l'existence d'une pente, donc à une dépendance linéarité au seuil de probabilité  $p=99\%$ .

$$F_1 \text{ calculé} = 333728,80 > F_{\text{théorique}1\%} = 9,07.$$

**Test de validité de la droite de régression :****TableauIV-18 :** Test de validité de la droite de régression de la forme reconstituée

Source de variation	DDL	Somme des carrés	Variance	F <sub>2</sub> calculé
Erreur expérimentale	10	0,00000533	0,00000053333333333333	1,33
Erreur de régression	3	0,00000213	0,0000007111111111707	

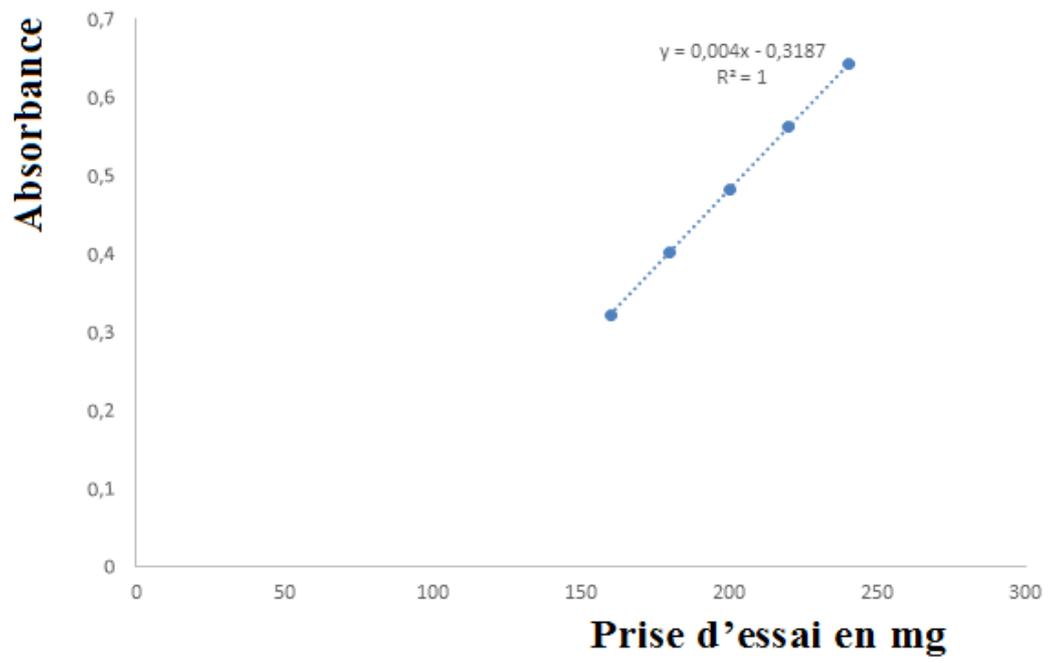
L'ajustement est considéré comme valide au seuil de probabilité  $p = 95\%$ .

$$F_{2 \text{ calculé}} = 1,33 < F_{\text{théorique } 5\%} = 3,71.$$

**TableauIV-19 :** Résultats récapitulatif de la linéarité de la forme reconstituée :

Résultats récapitulatif de la linéarité

Pente (a)	0,004			
Ordonnée à l'origine (b)	- 0,32			
Coefficient de régression ( $r^2$ )	1			
<b>Comparaison de l'ordonnée à l'origine avec zéro</b>				
t calculé	t théorique 5%	t théorique 1%	Condition	Conclusion
2,66	2,16	3,01	$t < t_{\text{théorique}}$	Valide au risque 5%
<b>Homogénéité des variances</b>				
C calculé	C théorique 5%	C théorique 1%	Condition	Conclusion
0,50	0,68	0,79	$C < C_{\text{théorique}}$	Valide au risque 5%
<b>Existence d'une pente</b>				
F <sub>1</sub> calculé	F théorique 5%	F théorique 5%	Condition	Conclusion
333728,80	4,67	9,07	$F_1 > F_{\text{théorique}}$	Valide au risque 1%
<b>Validité de la droite de régression</b>				
F <sub>2</sub> calculé	F théorique 5%	F théorique 5%	Condition	Conclusion
1,33	3,71	6,55	$F_2 < F_{\text{théorique}}$	Valide au risque 5%



**Figure IV-2** : Variation de l'absorbance en fonction de la prise d'essai (la forme reconstituée)

### IV.1.3.3. Exactitude

L'exactitude est l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir de larges séries d'essais et une valeur de référence acceptée. L'exactitude se détermine en calculant l'intervalle de confiance de l'index de recouvrement moyen calculée pour la forme reconstituée en se servant de l'équation de régression  $Y = a x + b$  obtenue pour le principe actif.

**Tableau IV-20:** les différents essais sur l'exactitude

<b>Essai n° i/j</b>	<b>Prise d'essai (mg)</b>	<b>Réponse (absorbance)</b>
1/1	160	0,320
2/1	160	0,321
3/1	160	0,320
1/2	180	0,401
2/2	180	0,402
3/2	180	0,401
1/3	200	0,480
2/3	200	0,481
3/3	200	0,480
1/4	220	0,560
2/4	220	0,562
3/4	220	0,560
1/5	240	0,640
2/5	240	0,641
3/5	240	0,640

**Recouvrement :****Tableau IV-21:**essais effectués sur l'exactitude (le recouvrement).

Essai n° i/j	Quantité introduite en (mg)	Réponse (absorbance)	Quantité retrouvée en mg	Recouvrement	nj	S <sup>2</sup>
1/1	160	0,320	133,33	83,33	3	0,022605613
2/1	160	0,321	133,75	83,59		
3/1	160	0,320	133,33	83,33		
1/2	180	0,401	167,08	92,82	3	0,017861225
2/2	180	0,402	167,50	93,06		
3/2	180	0,401	167,08	92,82		
1/3	200	0,480	200,00	100,00	3	0,014467593
2/3	200	0,481	200,42	100,21		
3/3	200	0,480	200,00	100,00		
1/4	220	0,560	233,33	106,06	3	0,047826752
2/4	220	0,562	234,17	106,44		
3/4	220	0,560	233,33	106,06		
1/5	240	0,640	266,67	111,11	3	0,010046939
2/5	240	0,641	267,08	111,28		
3/5	240	0,640	266,67	111,11		

**Test d'homogénéité des variances****Tableau IV-22:**Test d'homogénéité des variances (le recouvrement).

S <sup>2</sup> max	0,0478
Somme des variances	0,1128
C calculé	0,4240
C théorique 5%	0,68
C théorique 1%	0,79
Conclusion	Valide au risque 5%

L'analyse de l'homogénéité des variances à chaque concentration montre que l'ensemble des variances des différents groupes est considéré comme homogène au risque 5%

**Tableau IV-23:** Test des validités moyennes (le recouvrement).

	DDL	Sommes des carrés	Variance	F <sub>1calc</sub> ulé	F <sub>1thé</sub> 5%	F <sub>1 thé</sub> 1%	Conclusion
Variation totale	14	1441,70086	102,9786 3	3,28	3,48	5,99	Valide au Risque 5 %
Variation intra-groupe	10	0,22562	0,02256				
Variation intergroupe	4	1441,47524	360,3688 1				

$F_1$  calculé n'étant pas significatif, on conclut donc qu'au risque 5%, les variations des observations entre les différents groupes sont dues aux erreurs expérimentales.

#### **Estimation du recouvrement moyen**

Recouvrement moyen : 98,749 %

Intervalle de confiance : [93,13 – 104,37] %

Les limites de confiances sont comprises entre 80% et 120% pour l'ensemble des niveaux de concentration. Compte tenu des résultats obtenus, la procédure est considérée comme exacte et précise sur tout l'intervalle de dosage prédominé.

#### **IV.1.3.4. Fidélité**

La fidélité est l'étroitesse de l'accord (degré dispersion) entre une série de mesure obtenue dans des conditions prescrites à partir de prises d'essai multiples provenant d'un même échantillon homogène.

**Tableau IV-24:**Résultats de la fidélité intermédiaire

<b>Essai n° i/j</b>	<b>Prise d'essai</b>	<b>Absorbance</b>
1/1	200	0,480
2/1	200	0,481
3/1	200	0,483
4/1	200	0,480
5/1	200	0,481
6/1	200	0,480
7/1	200	0,480
1/2	200	0,481
2/2	200	0,485
3/2	200	0,482
4/3	200	0,480
5/2	200	0,481
6/2	200	0,483
7/2	200	0,480
1/3	200	0,480
2/3	200	0,481
3/3	200	0,485
4/3	200	0,482
5/3	200	0,481
6/3	200	0,480
7/3	200	0,481

**Recouvrement :****Tableau IV-25 : Résultats de la fidélité sur le recouvrement**

Essai n° i/j	Quantité introduite	Absorbance	Quantité retrouvée	Recouvrement
1/1	200	0,480	200,00	100,00
2/1	200	0,481	200,42	100,21
3/1	200	0,483	201,25	100,63
4/1	200	0,480	200,00	100,00
5/1	200	0,481	200,42	100,21
6/1	200	0,480	200,00	100,00
7/1	200	0,480	200,00	100,00
1/2	200	0,481	200,42	100,21
2/2	200	0,485	202,08	101,04
3/2	200	0,482	200,83	100,42
4/3	200	0,480	200,00	100,00
5/2	200	0,481	200,42	100,21
6/2	200	0,483	201,25	100,63
7/2	200	0,480	200,00	100,00
1/3	200	0,480	200,00	100,00
2/3	200	0,481	200,42	100,21
3/3	200	0,485	202,08	101,04
4/3	200	0,482	200,83	100,42
5/3	200	0,481	200,42	100,21
6/3	200	0,480	200,00	100,00
7/3	200	0,481	200,42	100,21

**Homogénéité des variances intra-groupes (test de Cochran) :****Tableau IV-26: Homogénéité des variances intra-groupes.**

$S^2$ max	0,1405
Sommes des variances	0,3224
$C_{calculé}$	0,4359
K (nombre essai)	3
n (nombre répétitions par essai)	7
$C_{théorique 5\%}$	0,68
$C_{théorique 1\%}$	0,76
Conclusion	Valide au risque 5%



$C_{calculé}$  est inférieur à la valeur critique de la table au seuil 5% ; le test de Cochran n'est pas significatif ; l'ensemble des variances est considéré comme homogène

**Tableau IV-27** : Variances de répétabilité, intergroupes et reproductibilité :

Variance de répétabilité	0,107473545
Variance intergroupe	0,003838341
Variance reproductibilité	0,103635204
Moyenne générale	100,2678571
CV répétabilité	0,33%
CV reproductibilité	0,32%

Les coefficients de répétabilité et de reproductibilité sont satisfaisants. Donc on peut dire que la méthode est répétable et reproductible.

Au vu des résultats obtenus au cours des tests de validation, on peut conclure que la méthode est valide pour le dosage de routine de la terbinafine chlorhydrate 1% dans LAMIDAZ<sup>®</sup> crème.

#### **IV.2. Contrôle Microbiologique**

Au cours de cette étude des tests de dénombrement des germes variables totaux et des tests de micro-organismes spécifiques (Staphylococcus aureus) ont été faits et les résultats trouvés sont englobés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau IV-28**: Comparaison de valeurs trouvées et normes (Test microbien)

Tests	Normes	
• Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT)	≤100UFC/g	10
• Dénombrement des levures et moisissures totales (DMLT)	≤100UFC/g	00
• Recherche de Staphylococcus aureus	Absence	Absence
• Recherche de Pseudomonas aeruginasa	Absence	Absence

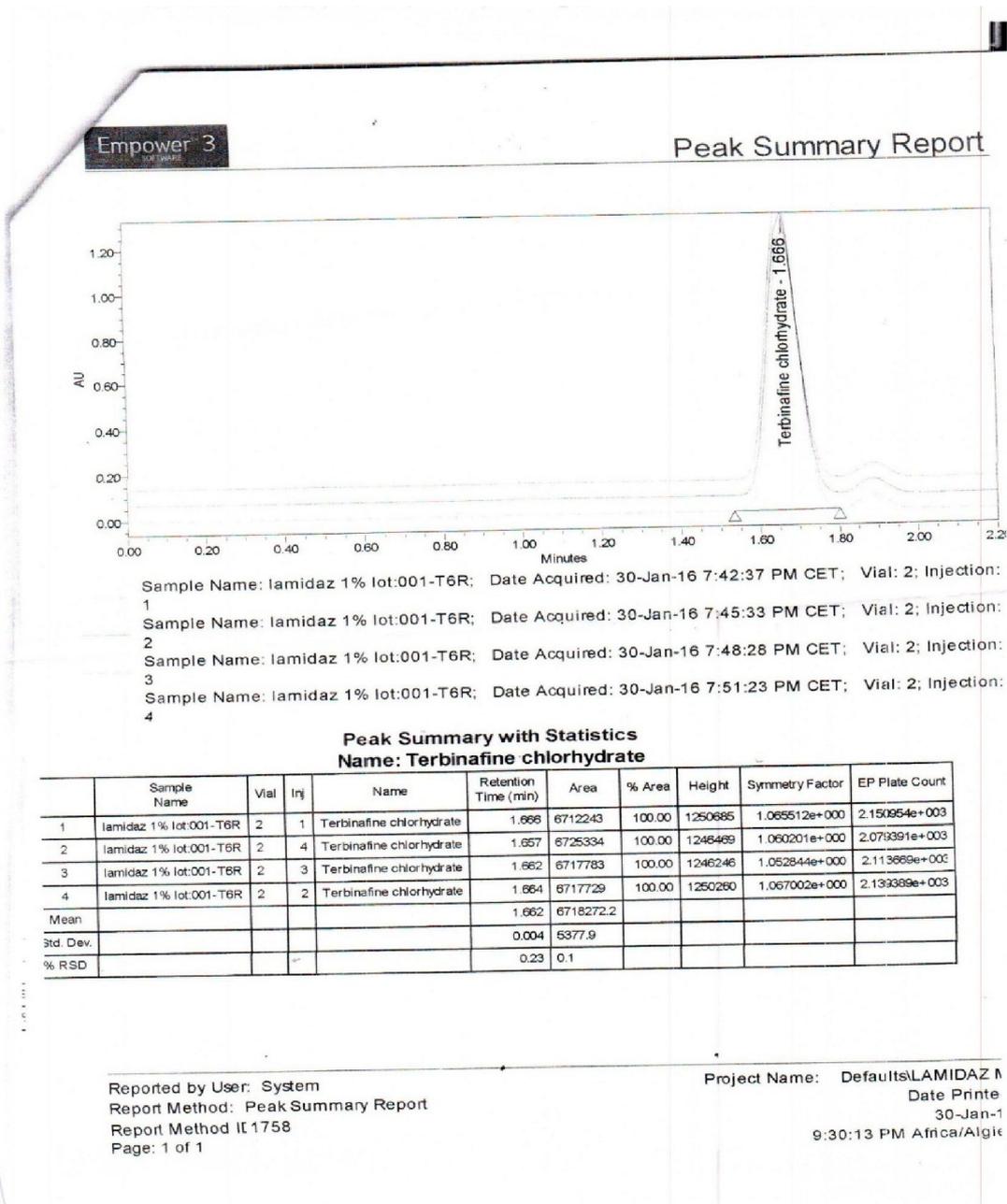
## ANNEXE



**Figure III.2 :** Spectrophotomètre UV-Visible « SHIMADZU UV-1700 »



**Figure III-3:** les appareils de Chromatographie en phase liquide à haute performance  
HPLC



**Figure IV-3 :** Chromatogramme de la crème dans les conditions réelles.

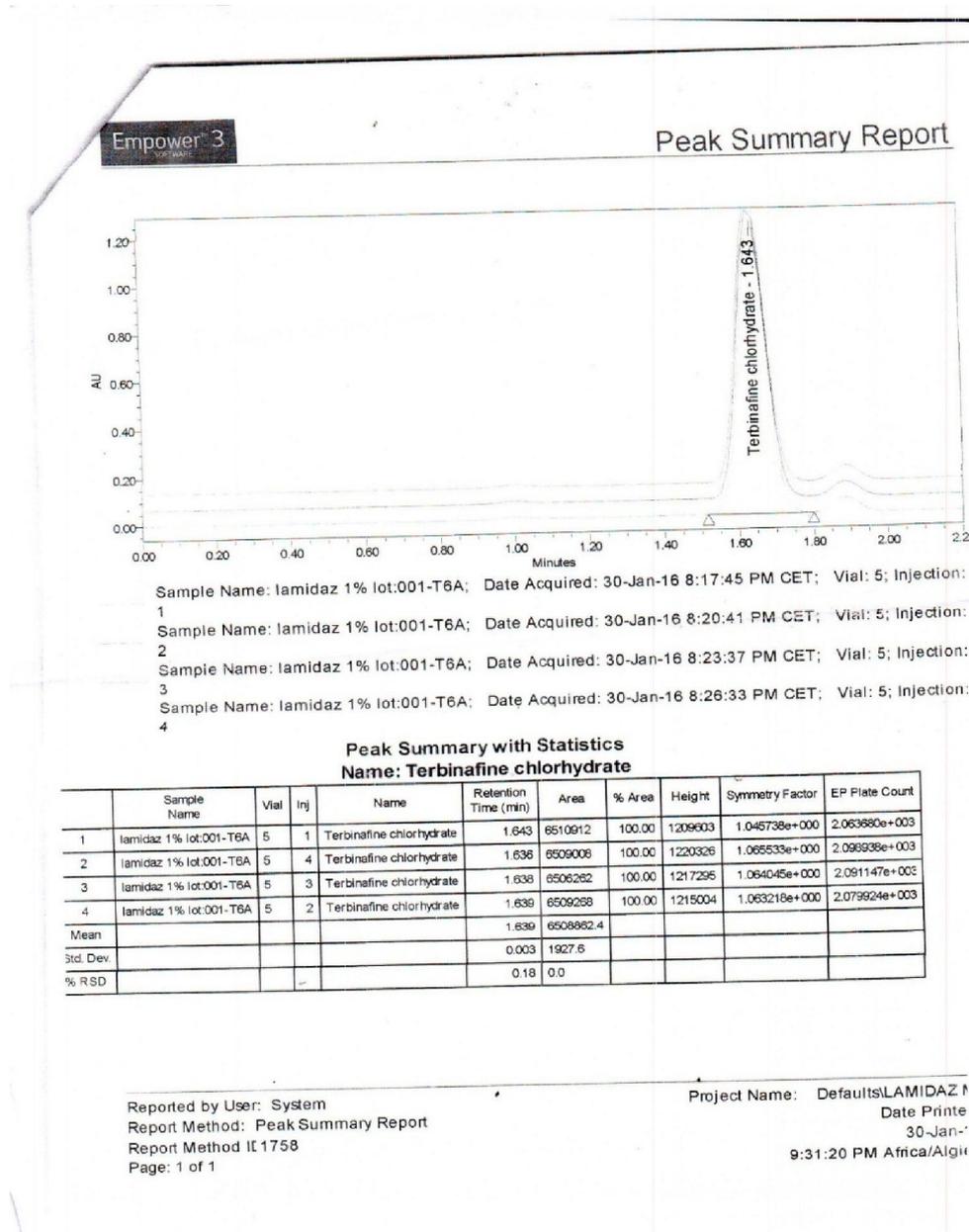
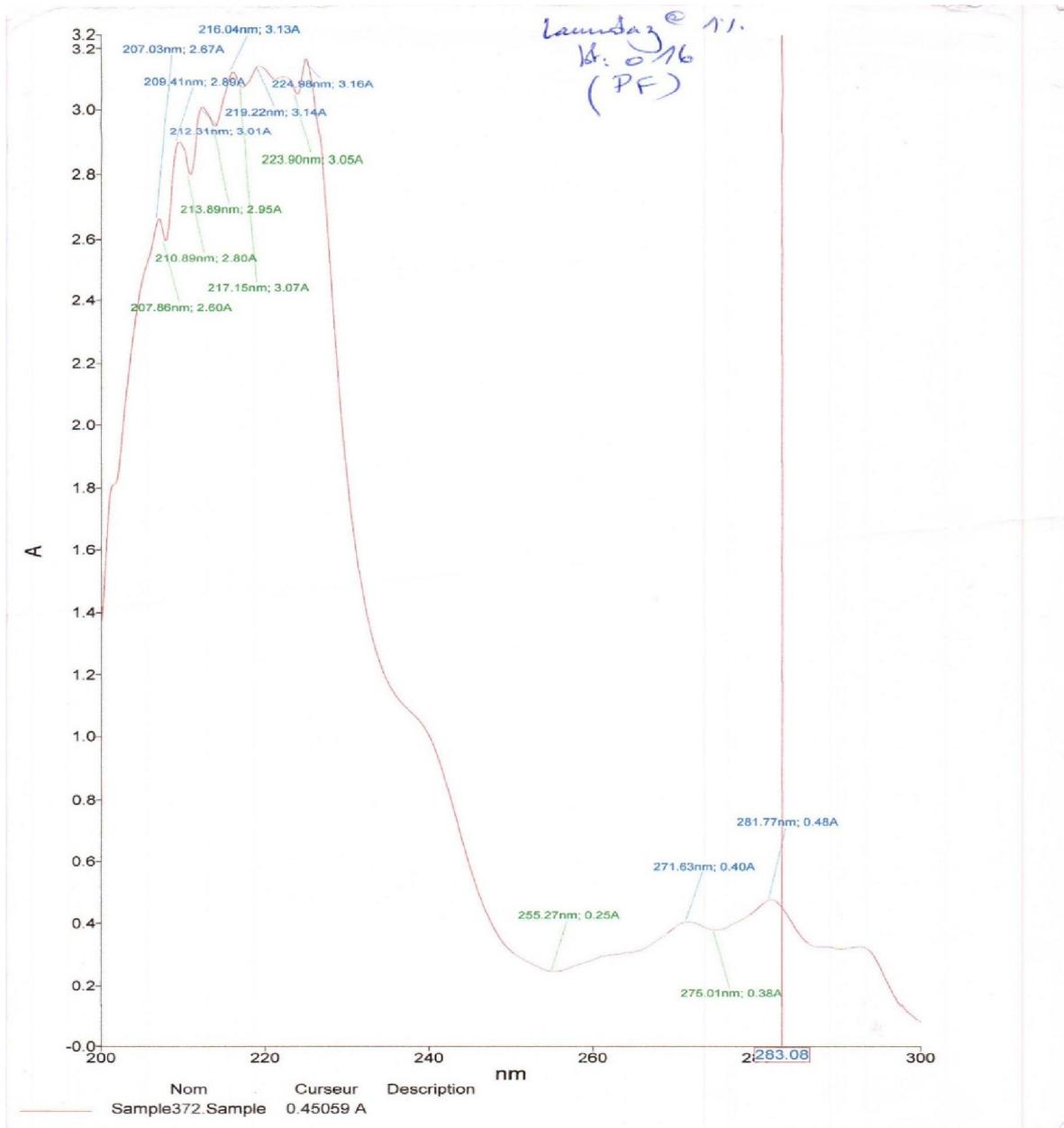


Figure IV-4: Chromatogramme de la crème dans les conditions accélérées



**Figure IV-5 : spectre UV-Visible du crème LAMIDAZ**

## CONCLUSION GENERALE

Cette étude, qui s'inscrit dans le cadre général de la validation d'un produit pharmaceutique, a pour but d'étudier les critères de la validation de la méthode de dosage du principe actif a été déterminée. Il s'agit de la spécificité, la linéarité, la fidélité, l'exactitude. Ces paramètres de validation ont été déterminés selon le protocole de validation proposé par l'ICH.

Les résultats obtenus au cours de cette étude de validation de la crème sont :

- ❖ L'ensemble des tests physico-chimiques et microbiologique sur le produit fini et semi fini sont conformes aux normes.
- ❖ La spécificité a montré qu'il n'y a pas d'interférence dans la détermination de la Terbinafine chlorhydrate,
- ❖ La linéarité a permis de conclure que la procédure est linéaire,
- ❖ La fidélité a montré que les coefficients de variation sont inférieur à 5% ainsi l'homogénéité des variances a permis de conclure que l'ensemble de ses tests sont exactes et précis.
- ❖ L'exactitude a révélé un recouvrement moyen satisfaisant et appartenant à l'intervalle de confiance.

Les résultats statistiques au risque de 5% montrent:

- Qu'une dépendance linéaire existe,
- Que la valeur du coefficient de corrélation est très satisfaisante,
- Que l'ordonnée à l'origine n'est pas significativement différente de zéro,
- Que l'ajustement est valide,
- Que l'intervalle de taux de recouvrement est satisfaisant,
- Que les coefficients de répétabilité et de reproductibilité sont satisfaisants.

D'après les résultats obtenus au cours des tests de validation, nous avons conclu que la méthode est valide pour le dosage du Terbinafine chlorhydrate de la crème **LAMIDAZ**®1%. Suite à cette étude un rapport de validation renferme tous les résultats obtenus est établi par l'expérimentateur, ce dossier passe par les directions suivantes :

- Direction technique,
- Les affaires réglementaires,
- Les filières de groupement Sidal,

- Ministère de la santé,
- Laboratoire national de contrôle des produits pharmaceutiques (LNCPP),
- Certificat libre vente (CLV) 

Le laboratoire effectue une revalidation de la méthode si des modifications sur la méthode sont apportées et que le contrôle de qualité montre que la méthode établie change au cours du temps.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- [1] : Graham L, P, « Chimie pharmaceutique », Edition 2003
- [2]: [www.novartis.ch](http://www.novartis.ch) 
- [3]: <http://fr.wikipedia.org>. Article L5111-1 du code de la Santé Publique en France 2012.
- [4] : MOHDEB, F« Etude de validation du processus de fabrication d'une forme sèche (Comprimé) », mémoire D.E.U.A E en chimie industrielle a Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumedienne 2008
- [5]:[http://fr.ambafranceus.org/IMG/pdf/fiche\\_additifs\\_et\\_colorants\\_actualisation\\_2013.pdf](http://fr.ambafranceus.org/IMG/pdf/fiche_additifs_et_colorants_actualisation_2013.pdf)
- [6] : [http://Fr\\_sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/27827-comprimes-définition](http://Fr_sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/27827-comprimes-définition)
- [7] :[www.infirmiers.com/etud/courslibre/pharmaco/formes\\_pharmaceutiques.pdf](http://www.infirmiers.com/etud/courslibre/pharmaco/formes_pharmaceutiques.pdf).
- [8] :<http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/28023-sirop-définition>
- [9] :<http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/28023-sirop-définition>
- [10] : HIR, L ; « Pharmacie galénique Bonne Pratique de Fabrication des médicaments » ; 8<sup>ème</sup> Edition Paris Masson, 2001 
- [11] : VIDAL®2002 
- [12] : Pharmacopée Européenne 5<sup>ème</sup> édition, 2006. 
- [13]: Carle. S. Pharm, B., "Les antifongiques dans le traitement des infections invasives" ; Pharmactuel, vol.36 N° 1, 2003.
- [14] : Max Feinberg, "L'assurance de la qualité dans laboratoire agroalimentaire", Paris1996
- [15]:[Www.ich.org](http://www.ich.org), Validation of analytical procedures: text and methodology
- [16] : Comité OMS d'expertise des spécifications relatives aux préparations pharmaceutiques –Validation des méthodes analytiques utilisées pour l'examen des produits pharmaceutiques. Vol. N° 823 ; Annexe 5 : OSM Genève, 1992.
- [17] : Max Feinberg, « la validation d'une méthode d'analyse », Edition masson ; Paris 1996.
- [18] : Jonvel H, « Le guide d'assurance de la qualité et de traçabilité », Paris, 1996.
- [19] : [www.axess-qualite.fr/qualite.html](http://www.axess-qualite.fr/qualite.html)
- [20] : Herssan. C, « Vade mecum assurance qualité », Edition ; Lavoisier Tec &doc 1995.
- [21] : Seghipour. F, "Préparation des médicaments en petites qualité ; Section des sciences pharmaceutiques ; cours de 2<sup>ème</sup> année de master en pharmacie », Ecole de pharmacie Genève ; Lausanne.
- [22] : Pharmacopées européennes 2006. 

[23] : [www. Santé.dz](http://www.Santé.dz), « étude de stabilité sur produit fini» formation Incpp/cecomed 2010