

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE BLIDA 1

Faculté Des Sciences Technologiques

Département de Génie des Procédés



MEMOIRE DE MASTER PROFESSIONNEL

En Génie Des Procédés

Spécialité : Pharmacie Industrielle

Thème

**Etude comparative entre deux méthodes analytique HPLC et
UV-visible : validation de conformité de PHANAZOL 1%**

Présenté par:

Mahmoud Bacha Naserine

Ben Moussa Dallal

Amrani Rihab

Encadré par :

Mme: H. Laribi

Promotion : 2024

RESUMES

L'analyse de contrôle physico-chimique d'une crème pharmaceutique nécessite des techniques analytiques spécifiques et sensibles.

Les méthodes comme la chromatographie à haute performance (HPLC) et ultraviolet visible (UV-visible) sont très sollicitées dans ce domaine.

Notre étude vise à choisir la méthode la plus précise et spécifique pour déterminer la teneur en nitrate éconazole dans un produit fini, la crème dermique PHANAZOL 1%.

Nous avons comparé les résultats obtenus par ces deux méthodes analytiques, Les résultats montrent que la HPLC offre une spécificité et une sélectivité supérieures par rapport à la méthode UV-visible.

المخلص

يتطلب التحليل الفيزيو-كيميائي لكريم صيدلاني تقنيات تحليلية محددة و حساسة .

تستخدم الطريقتين الكروماتوغرافيا السائلة عالية الضغط و الأشعة فوق البنفسجية-المرئية بشكل كبير في هذا الميدان.

تهدف دراستنا الى اختيار الطريقة الاكثر دقة و تحديدا و ذلك لتحديد تركيز نترات الايكونازول في منتج نهائي على شكل كريم جلدي فنazol 1%

لقد قمنا بمقارنة النتائج التي تم الحصول عليها باستخدام هاتين الطريقتين التحليليتين.تظهر النتائج ان الكروماتوغرافيا السائلة عالية الضغط نتائجها محددة و انتقائية اعلى مقارنة بطريقة الأشعة فوق بنفسجية –و المرئية.

ABSTRACT

The physicochemical control analysis of a pharmaceutical cream requires specific and sensitive analytical techniques. HPLC and UV-visible methods are commonly used in this field. Our study aims to choose the most accurate and specific method to determine the content of econazole nitrate in Phanazol 1% dermal cream. We compared the results obtained by these two analytical methods. The results show that HPLC offers superior specificity and selectivity compared to the UV-visible method.

REMERCIEMENTS

Louange à Allah, salut et paix sur notre prophète.

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre gratitude au notre DIEU pour sa miséricorde et sa force qui nous ont permis d'atteindre ce stade durant la réalisation de ce modeste travail. Nos profondes reconnaissances vont à tous les enseignants qui ont partagé leurs connaissances avec nous tout au long de notre parcours universitaire.

*Nous souhaitons exprimer notre sincère reconnaissance à **Monsieur EL GUERRI Mohamed Amine**, chef de ligne de fabrication forme pâteuse, ainsi qu'à Madame **SAMIA LEZAMI** pour leurs conseils et leur confiance au sein de la société SAIDAL, ainsi qu'à toutes les personnes de l'unité de **DARE LBEIDA**.*

*Un grand merci à notre promotrice, Madame **LARIBI .H**, pour ses précieux conseils et son soutien constant tout au long de ce travail.*

Nous tenons également à exprimer notre gratitude aux membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'être les examinateurs de ce travail. Nous leur adressons l'expression de notre plus haute considération.

Nous voudrions également exprimer notre profonde gratitude envers nos parents, dont les efforts et les sacrifices ont été couronnés par ce travail. Leur amour et leur dévouement pour notre éducation ont été inestimables. Que Dieu nous permette de leur rendre ne serait-ce qu'une fraction de tout ce qu'ils ont fait pour nous.

Merci !

Dédicace

À mon cher père, qui a été toujours dans mon cœur

رحمه الله

À ma très chère maman, celle qui représente un symbole de tendresse, celle qui a toujours fait des sacrifices pour me rendre heureuse, celle qui a un grand rôle dans toute la réussite que j'ai remportée.

À mes sœurs Sara, Mimi et Rania,

À mon seul frère Abderrahmane,

À toute ma famille et toute personne que j'aime,

Celles qui sont toujours à côté de moi et qui me disent nous sommes très fières de toi, en leur souhaitant plein de succès.

À ma chère cousine Amel, pour son aide précieuse tout au long de mes études.

Et bien sûr à mes deux amis Dallel et Rihab, ou plutôt mes copines, avec qui j'ai eu des moments difficiles et tristes et parfois faciles et drôles, mais nous avons défié tous ces obstacles et atteint notre objectif, Hamdoulillah. Que Dieu la protège ainsi que sa famille.

À mes amies : kessi Fatma, Meriktari Imane, pour les merveilleux moments.

Nessrine



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à:

Mes chers parents, qui ont toujours été ma source d'inspiration et de soutien inconditionnel tout au long de ce parcours. Votre amour et votre encouragement ont été essentiels pour que j'atteigne ce moment important de ma vie.

Mes sœurs adorées: Soumia, Imene, Amira,
Vous êtes des étoiles qui illuminent ma vie. Merci d'être toujours là pour moi, de partager des moments de joie et de complicité

Mon seul frère: Ramdane, mon meilleur ami ta présence est un cadeau précieux

Ma chère belle-sœur : Sara, ta présence apporte tant de bonheur et de joie à notre famille.

Mes adorables neveux: Abderraouf, Muhammed,
Rayane, Taline

Mes copines: Imen, Marwa, pour leur amitié précieuse

Toute ma famille et toute personne que j'aime
Mes collègues de promo en Pharmacie industrielle
Et sans oublier celles qui ont partagé le plaisir de ce travail avec moi, mes chères copines mon trinôme
Dallal et Nesrine

Rihab



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À mes parents, pour leur soutien inconditionnel et leur amour indéfectible, qui m'ont permis de réaliser ce rêve.

À ma famille, pour leur présence rassurante et leurs encouragements constants.

A mes grands parents

À mes frères, Rayane et Nazim, dont la joie de vivre et l'énergie m'ont toujours inspiré.

À mes cousines, pour leurs conseils avisés et leur écoute attentive.

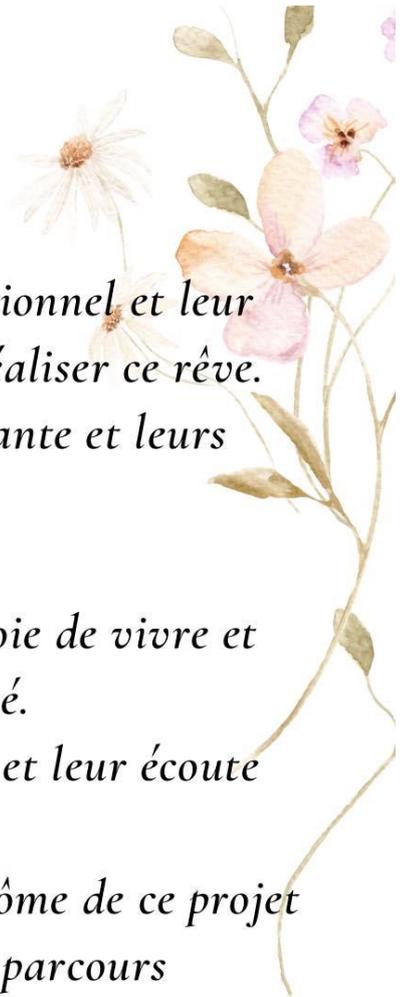
À mes chères copines Nesrine et Rihab, trinôme de ce projet de fin d'études et collègues de tout le parcours universitaire, pour leur complicité, leur travail acharné et leur amitié précieuse.

À mes amis, Imen, Wiam, Fida, Amel, Mehdi, Mohamed et Ihab, pour les moments de complicité, les rires partagés et l'amitié sincère qui m'ont accompagné tout au long de ce parcours.

À mes collègues de promo en pharmacie industrielle, promo 2020-2024, pour leur camaraderie et leur soutien durant ces années d'études.

Merci à vous tous, car sans vous, cette aventure n'aurait pas été la même.

Dallel



TABLES DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENT	
DEDICACES	
TABLES DES MATIERES	
ABREVIATIONS	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
INTRODUCTION GENERALE.....	1

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I : PRESENTATION DE L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE SAIDAL DAR EL BEIDA.

I. Présentation de l'industrie pharmaceutique SAIDAL de Dar el Beida.....	3
I.1. Présentation du groupe SAIDAL.....	3
I.2. Les filiales de groupe SAIDAL.....	3
I.3. Historique filiale pharmal de Dar El Beida.....	4
I.4. L'unité PHARMAL comprend.....	5
I.5. Structuration de l'unité PHARMAL SAIDAL.....	5
I.6. Une Station de traitement d'eau.....	6

CHAPITRE II : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES MEDICAMENTS

II.1. Définition d'un médicament.....	7
II.2. L'origine des médicaments.....	7
II.3. Composition d'un médicament.....	7
II.4. Les formes pharmaceutiques des médicaments.....	8

II.5. Voies d'administration des médicaments.....	8
II.6. Classification des médicaments.....	8
II.7. Les émulsions.....	9
II.7.1. Type des émulsions.....	9
II.7.2. Catégories d'émulsion pharmaceutique.....	10
II.7.2.1. Les pommades.....	10
II.7.2.2. Les crèmes.....	10
II.7.2.3. Les gels.....	11
II.7.2. Composition d'une émulsion pharmaceutique.....	11
II.8. Les tensioactifs.	11
II.8.1. Classement des tensioactifs.....	12
II.8.2. Comportement des tensioactifs en solution.....	13
II.9. Procédés de fabrication d'une émulsion.....	13
II.9.1. Techniques d'émulsification.....	14
II.9.2. Contrôles réalisés sur les émulsions.....	15
II.9.2.1. Détermination du sens de l'émulsion.....	15
II.9.2.2 La granulométrie d'émulsion.....	16
II.9.2.3. Détermination du pH.....	16
II.9.2.4. Essais microbiologiques.....	16
II.9.2.5. Dosage du principe actif.....	17
II.9.2.5.1. Spectroscopie Ultraviolet.....	17
II.9.2.5.2. Chromatographie à Haute Performance (CLHP) ou (HPLC).....	18
II.9.2.5.3. Spectroscopie infrarouge.....	20
II.9.3. Phénomènes de déstabilisation d'une émulsion.....	21

II.9.4 Effet des différents paramètres dans la stabilité des émulsions.....	23
---	----

CHAPITRE III: ETUDE DE LA CREME DERMIQUE PHANAZOL 1%

III .1. Définition de PHANAZOL 1%.....	25
III.2 Composition de PHANAZOL 1%.....	25
III.3. Proprétés de PHANAZOL 1%.....	27

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

Introduction.....	28
I. Matériels et méthodes.....	28
I.1. Matériels.....	28
I.2. Méthodes.....	28
I.2.1. Echantillonnage.....	28
I.2.2. Contrôle physico-chimique des matières premières.....	29
I.2.2.1. Analyses du principe actif : Econazol nitrate.....	29
I.2.2.2. Analyses d'eau purifiée.....	33
I.2.3. Procédé de fabrication de crème dermique PHAZNAZOL 1%.....	35
I.2.4. Contrôle qualité de produit fini PHANAZOL crème dermique.....	39
I.2.4.1. Contrôle physico-chimique de produit fini.....	39
I.2.4.2. Contrôle microbiologie de produit fini PHANAZOL.....	44
I.2.5. Conditionnement de PHANAZOL1% crème dermique	46

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Introduction.....	48
II.1. Résultats et interprétations du contrôle physico-chimique des matières premières.....	48

II.1.1. Résultat du contrôle physico-chimique du principe actif : Econazole nitrate.....	48
II.1.2. Résultat du contrôle physico-chimique et microbiologique d'eau purifié.....	50
II.2. Résultats de contrôle physico chimique et microbiologique du produit fini PHANAZOL 1%.....	51
II.2 .1. Résultats de contrôle physico-chimique du crème PHANAZOL 1%.....	51
II.2.1.1. Caractères organoleptique.....	51
II.2.1.2. Résultats de dosage du principe actif.....	51
II.2.1.3. Comparaison entre les deux méthodes analytique UV-visible et HPLC.....	57
II.2 .2. Résultats de contrôle microbiologique du produit fini PHANAZOL.....	59
II.3. Résultats de rendement (conditionnement).....	59
Conclusion générale.....	61

Annexes

Références bibliographiques

LISTE DES FIGURES

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I : PRESENTATION DE L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE SAIDAL DAR EL BEIDA.

Figure I.1: Logo du groupe SAIDAL.....	3
Figure I.2: Situation géographique de SAIDAL Der El Beida.....	4
Figure I.3: Unité de Dar El Beida.....	4
Figure I.4 : organigramme de l'unité PHARML.....	5

CHAPITRE II : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES MEDICAMENTS

Figure II.1: Représentation d'une émulsion.....	9
Figure II.2: Schéma représentatif des deux types d'émulsions.....	10
Figure II.3: Schéma simplifié d'un tensioactif.....	12
Figure II.4: Schéma descriptive de chaque type de tensioactif.....	12
Figure II. 5 : Formation de micelle dans une solution.....	13
Figure. II .6 : Principe de fonctionnement de spectroscopie UV/Visible.....	18
Figure. II .7: Schéma d'une chaine d'HPLC.....	19
Figure II .8: Chromatogramme.....	20
Figure II .9 : Système du spectromètre infrarouge : A, spectromètre ; B, spectre.....	20
Figure II.10: Mûrissement d'Ostwald.....	21
Figure II.11: Floculation.....	22
Figure II.12: Crémage et sédimentation.....	22
Figure II.13: Phénomène de coalescence.....	22
Figure II.14 : L'inversion de phase.....	23

CHAPITRE III: ETUDE DE LA CREME DERMIQUE PHANAZOL 1%

Figure III.1 : présentation de boîte de crème dermique PHANAZOL1% 25

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

Figure I.1. Boîte d'échantillon du principe actif « Econazole nitrate »..... 29

Figure I.2. Un fusiomètre..... 30

Figure I. 3. Spectrophotométrie d'absorption infrarouge I.R..... 31

Figure I.4. Recherche des substances oxydables..... 34

Figure I.5.Schéma de procédé de fabrication PHANAZOL crème à 1%..... 38

Figure I .6. Spectrophotomètre d'absorption UV-Visible..... 39

Figure I.7. Chromatographie liquide haute performance (HPLC)..... 41

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSIONS.

Figure II.1 : Spectre IR d Econazole nitrate analysée..... 49

Figure II.2 : Spectre IR d Econazole nitrate(SCR)..... 49

Figure II.3 : Chromatogramme de Dosage de l'Éconazole Nitrate dans la crème PHANAZOL1%..... 53

Figure II.4 : Chromatogramme de dosage de conservateur Nipagine dans la crème PHANAZOL1%..... 56

LISTE DES TABLEAUX

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE II : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES MEDICAMENTS

Tableau II.1 : Les différentes formes pharmaceutiques.....	8
Tableau II.2: rôle des tensioactifs en fonction du HLB.....	13

CHAPITRE III: ETUDE DE LA CREME DERMIQUE PHANAZOL 1%

Tableau III.1: Rôle des composants du PHANAZOL1%.....	26
Tableaux III.2 : les différents propriétés de crème dermique PHANAZOL1%.....	27

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

Tableau I.1 : les étapes de fabrication PHANAZOL1%.....	35
Tableau I .2: Formulation d'échantillon de placebo de 50g.....	40

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableaux II.1. Résultats du contrôle du principe actif Econazole nitrate.....	48
Tableau II.2. Résultats de contrôle physico chimique et microbiologique d'eau purifier.	50
Tableau II.3. Résultats du contrôle physico chimique du crème préparé.....	51
Tableau. II 4. Résultats d'analyse de crème PHANAZOL1% par UV-vis.....	52
Tableau II.5. Résultats d'analyse de placebo du crème PHANAZOL1% par UV.....	52
Tableau II.6. Les avantages et les limites de HPLC et UV –vis pour PHANAZOL 1%....	58
Tableau II.7. Résultats d'analyses microbiologiques de PHANAZOL 1%.....	59

Abréviations

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Amph : Amphiphiles

E/H : Émulsion dans l'eau

E/H/E : Émulsion eau dans huile

H/E : Émulsion huile dans eau

H/E/H : Huile dans eau dans huile

Sys.eq : système d'équilibre

TA : Tensioactif

DCI : Dénomination Commune Internationale

DC : Dénomination Chimique

°C : Degrés Celsius

% : Pourcentage

g/mol : Gramme par mole

cm³ : Centimètre cube

mg·l⁻¹ : Milligramme par litre

pH : Potentiel Hydrogène

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

UV-vis : Spectrophotométrie Ultraviolette-Visible

PA : Principe Actif

EX : Excipients

IR : Infrarouge

SCR : Spectre de Référence

T (%) : Pourcentage de Transmittance

cm⁻¹ : Centimètre inverse

C-N : Carbone-Azote

C-H : Carbone-Hydrogène

C-C : Carbone-Carbon

Pv : Poids du creuset vide

Pe : Poids de l'échantillon

Pf : Poids final

ml : millilitre

M : concentration molaire

min : temps

mm : millimètre

trs/min : tours par minute

UFC : Unités Formant Colonies

UFC/ml : Unités Formant Colonies par millilitre

UFC/g : Unité Formant Colonie par gramme

R : Réactif

λ: Longueur d'onde

WS : Water for Injection

DGAT : Dénombrement des Germes Aérobieux Totaux

DLMT : Dénombrement des Levures et Moisissures Totales

TSA : Agar Trypticase Soja (milieu de culture)

TSB : Bouillon de Soja Triptyque (milieu de culture liquide)

MS/cm : Millisiemens par centimètre

DOE : Densité optique de l'essai

DOT : Densité optique du témoin

PT : Prise d'essai du témoin

PE : Prise d'essai

Tr : Temps de rétention

STD : Standard

Ti : Taux d'impureté

Tpa : Taux de Pureté Apparente

D : Dilution

Bcs : clinical science biologique

R2A: La gélose R2A (Reasoner's 2A)

INTRODUCTION GENERALE.

Dans le cadre de notre projet de fin d'études, nous nous penchons sur une étude comparative entre deux méthodes d'analyse couramment utilisées en industrie pharmaceutique l'analyse par UV (Ultraviolet) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), appliquées au produit crème PHANAZOL 1%. Cette étude est menée au sein du site SAIDAL à Dar El Beida.

Une des limitations de la spectrophotométrie UV réside dans sa sensibilité aux substances absorbantes présentes dans l'échantillon, pouvant fausser les résultats d'analyse. Dans le cas du PHANAZOL1%, la présence potentielle d'autres substances absorbant dans le domaine UV peut constituer un défi pour la spectrophotométrie UV et remettre en question sa précision comparée à la HPLC.

L'objectif principal de cette recherche est d'évaluer la précision, la sensibilité et la fiabilité de ces deux méthodes d'analyse dans le contexte spécifique de ce produit pharmaceutique.

La crème PHANAZOL 1% est un médicament antifongique largement utilisé pour le traitement des infections cutanées. Son contrôle qualité est essentiel pour garantir son efficacité thérapeutique, sa sécurité et sa conformité aux normes réglementaires. Ainsi, le choix de la méthode d'analyse la plus appropriée revêt une importance capitale pour assurer la qualité et la stabilité du produit final.

Dans ce travail, nous allons examiner les principes fondamentaux de l'analyse par UV et de la chromatographie HPLC, ainsi que les avantages et les limites de chacune de ces méthodes dans le contexte de l'analyse de la crème PHANAZOL 1%. Nous discuterons également des résultats obtenus lors de notre étude comparative, mettant en lumière les performances relatives de ces deux techniques dans la détermination des paramètres clés de qualité du crème.

En fin, nous concluons en proposant des recommandations pour le choix de la méthode d'analyse la plus appropriée pour la surveillance continue de la qualité de la crème PHANAZOL 1% au sein du site SAIDAL à Dar El Beida.

Le travail présenté sur ce rapport se divise en trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à la présentation du groupe SAIDAL et l'unité de Dar El Beida;
- Le deuxième chapitre donne une étude théorique générale sur les médicaments, et les pommades ainsi que les méthodes d'analyses;

- Le troisième chapitre est dédié à la partie expérimentale qui détaille la fabrication du PHANAZOL 1 % (contrôle des matières premières, la fabrication des médicaments, contrôle de conformité du produit fini avec deux méthodes analyses HPLC et UV-vis et leurs résultats et jusqu'au conditionnement, selon les normes de la pharmacopée européenne.

PARTIE THÉORIQUE

CHAPITRE I

PRESENTATION DE L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE SAIDAL DAR EL BEIDA.

I. Présentation de l'industrie pharmaceutique SAIDAL de Dar el Beida.

I.1. Présentation du groupe SAIDAL.

- En 1969 ; la pharmacie centrale algérienne (PCA) a été créée par une ordonnance présidentielle lui confiant la mission d'assurer le monopole de l'état sur l'importation, la fabrication et commercialisation de produit pharmaceutique à usage humain, suite à restructuration de la pharmacie centrale algérienne (PCA).
- L'entreprise nationale de production pharmaceutique est créée en avril 1982 suite de la restructuration de la Pharmacie centrale algérienne le groupe est considéré actuellement comme le leader de l'industrie pharmaceutique en Algérie.
- En 1985, elle change de dénomination pour devenir SAIDAL.
- En 1989, SAIDAL devient une entreprise publique économique, l'une des premières entreprises nationales à acquérir le statut de société par actions en 1993.
- En 1997, SAIDAL est transformée en groupe industriel auquel sont rattachés Biotique, Pharma et Antibiotical. [1]



Figure I.1: Logo du groupe SAIDAL [1]

I.2. Les filiales de groupe SAIDAL.

SAIDAL a plusieurs filiales sur le territoire national : filiale BIOTIC, filiale PHARMAL, filiale ANTIBIOTICAL et autres [2]

➤ **Filiale PHARMAL.**

- **Usine de Constantine** : qui se caractérise par la production des formes liquides.

- **Usine d'Annaba** : elle est spécifiée par la production des formes sèches.
- **Usine de DAR EL-Beida** : qui se caractérise par la production des formes sèches et liquides.

I.3. Historique filiale pharml de Dar El Beida.

L'usine de dar el Beida est la plus ancienne des unités PHARMAL elle existe depuis 1958 elle appartenait au laboratoire français LABAZ avant sa nationalisation. L'activité de cette unité était limitée en la fabrication de quelques médicaments et produits cosmétiques, mais actuellement elle produit une gamme de médicaments très large dans plusieurs formes galéniques:

- Comprimés,
- Gélules,
- Sirops (solutés buvables),
- Forme pâteuses (pommades, gel, crème),
- Suspension buvable,
- Sels,
- Solution dermique.



Figure I.2: Situation géographique de SAIDAL Der El Beida. [1]



Figure I.3: Unité de Dar El Beida.

I.4. L'unité PHARMAL comprend.

- **Les ateliers de fabrication.**
 - Des formes sèches
 - Des formes liquides
 - Des formes pâteuses
 - Des formes gélule
- **Les laboratoires de contrôle de qualité.**
 - Analyse de matières premières (avant la production)
 - Analyse des produits finis et semi fini
- **Chaudières.**
- **Les magasins de stockage.**
- **Salle de stockage des rebuts de production.**
- **Atelier de maintenance.**
- **Autres.**
 - Atelier de pesée.
 - Atelier de préparation.
 - Atelier de salle de lavage et rinçage.

I.5. Structuration de l'unité PHARMAL SAIDAL.

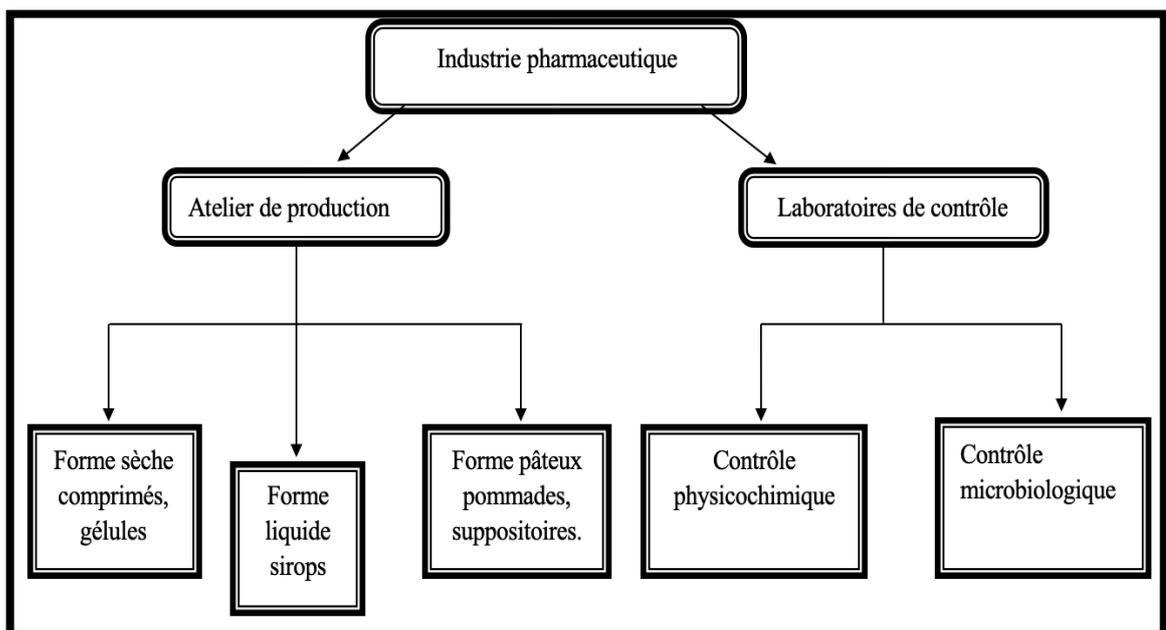


Figure I.4: Organigramme de l'unité PHARMAL. [1]

I.6. Une Station de traitement d'eau.

Toute production de médicaments nécessite en amont un traitement d'eau. Cette dernière est destinée à la fabrication du médicament et le nettoyage du matériel utilisé dans la production. La qualité d'eau traitée doit être vérifiée en permanence et doit répondre à des normes spécifiées. Les tests effectués en physico-chimie peuvent se résumer à :

- L'aspect (incolore et inodore),
- Conductivité inférieure à 4,3,
- pH compris entre (5 – 7),
- Les substances oxydables,
- Les métaux lourds et les nitrates.

• Les Etapes du Traitement.

- Filtration du sable.
- Filtration du charbon actif : est destiné à enlever le chlore restant (résiduel), ainsi que la matière organique dissoute dans l'eau
- Adoucissement: est obtenu par échange d'ions, transforme l'eau dure en eau douce par l'adoucisseur.
- Filtration par membrane osmose inverse ou il reste 5% seulement du sel minéral.
- Déminéralisation: consiste à enlever les 5% du sel restant.
- Filtration antibactérienne
- Après chaque traitement on procède toujours au test par titrant qui contient le calcium et le magnésium, dont la couleur est verte. Dans le cas des impuretés la couleur vire au rose, cette opération est répétée 3 fois par jours. L'eau traitée est purifiée.

CHAPITRE II

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES MEDICAMENTS.

II.1. Définition d'un médicament.

Le médicament est défini par l'Organisation Mondiale de la Santé « OMS » comme suit: «On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique. [3]

II.2. L'origine des médicaments.

- Naturelle
- Végétale
- Animale
- Synthétique
- Médicaments semi-synthétiques
- Microbiologique

II.3. Composition d'un médicament.

Le médicament est composé de deux (02) sortes de substance : d'une ou plusieurs substance actives (ou principe actif) d'un ou plusieurs excipients.

➤ Principe actif.

Substance d'origine chimique ou naturelle caractérisée par un mécanisme d'action curative ou préventif précis. P.A est susceptible de prévenir ou de faire cesser un trouble déterminé dans l'organisme. En d'autres termes, c'est l'élément possédant les propriétés curatives et/ou préventives du médicament.

➤ **Excipient.**

Selon la pharmacopée européenne: « l'excipient est une substance d'origine chimique ou naturelle qui facilitent l'utilisation du médicament mais ne présentent pas d'effet curatif ou préventif ». [4]

Les excipients sont classés en plusieurs catégories :

- Les diluants,
- Les liants,
- Les agents d'écoulement,
- Les lubrifiants,
- Les agents tensio-actifs,
- Les colorants.

II.4. Les formes pharmaceutiques des médicaments.

Elles sont résumées dans le tableau ci-dessous;

Tableau II.1 : Les différentes formes pharmaceutiques.

Forme solide	Forme liquide	Forme semi-solide
Sachet	Sirops	Pommades
Gélule	Solution	Crème
Comprimé	Ampoules	Gels
Granulé	Goutte	

II.5. Voies d'administration des médicaments.

Il existe plusieurs voies d'administration des médicaments [5].

- **Voie orale** : comprimés, gélule, sirop...
- **Cutané** : crème, gel...
- **Voie parentérale** : voie cutanée, sous cutanée et inter dermique (injection)
- **Voie Trans-muqueuse** : voie vaginale, rectale et nasale.

II.6. Classification des médicaments.

- Classification réglementaire
- Classification thérapeutique
- Classification par voie d'administration

- Classification par origine
- Classification par prescription

II.7. Les émulsions.

Une émulsion est, selon la définition courante, une dispersion d'un liquide en fines gouttelettes dans un autre liquide, les deux liquides étant non miscibles;

- le liquide sous forme de gouttelettes est qualifié de phase dispersée, phase discontinue ou phase interne,

- l'autre liquide est appelé phase dispersante, phase continue ou phase externe, Les deux phases non miscibles de l'émulsion n'ont pas la même solubilité.

L'une est hydrophobe ou lipophile. On parle couramment de phase huileuse (mais elle n'est pas forcément lipidique). L'autre est hydrophile, on parle aussi de phase aqueuse.

Cependant les émulsions sont des systèmes thermodynamiquement instables qui se séparent, plus ou moins rapidement, en deux phases. On parle de systèmes hors équilibre.

En raison de cette instabilité les émulsions comportent toujours des émulsifiants, ou émulsionnants, Il s'agit le plus souvent de petites molécules amphiphiles appelées tensioactifs, surf actifs, surfactants ou agents de surface. [6]

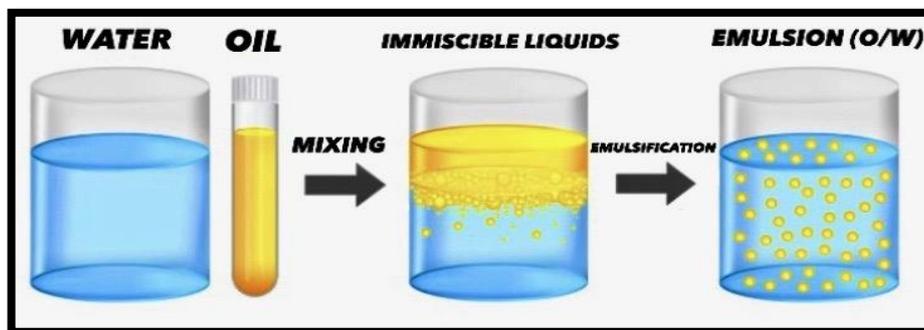


Figure II.1: Représentation d'une émulsion. [6]

II.7.1. Type des émulsions.

Il existe différentes classifications des émulsions, une selon le sens de l'émulsion et une autre selon la taille des particules.

➤ Les émulsions simples.

Ce sont des composées d'une phase lipophile, d'une phase hydrophile et d'un émulsifiant.

On distingue :

- **Émulsion simple** : Il s'agit de gouttes d'eau dispersées dans l'huile.
- **Émulsion inverse** : Il s'agit de gouttelettes d'huile dispersées dans l'eau.

➤ **Les émulsions multiples.**

Il existe deux principaux types d'émulsions multiples sont les émulsions doubles eau-dans-huile-dans-eau (E/H/E) et huile-dans-eau-dans-huile (H/E/H).

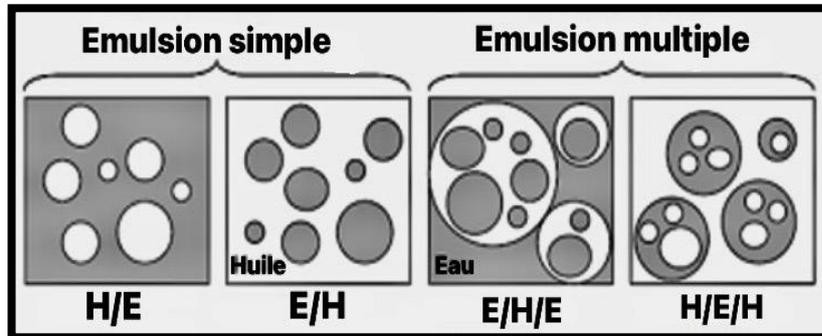


Figure II.2: Schéma représentatif des deux types d'émulsions. [7]

II.7.2. Catégories d'émulsion pharmaceutique.

Plusieurs classes de préparations semi-solides pour application cutanée peuvent être distinguées :

II.7.2.1. Les pommades.

Les pommades sont des préparations de consistance semi-solide destinées à l'application locale ou de réaliser la pénétration percutanée de principes médicamenteux. Elles présentent un aspect homogène. On distingue trois types des pommades: [8]

- Pommades hydrophobes ou lipophiles,
- Pommades absorbant l'eau,
- Pommades hydrophiles.

II.7.2.2. Les crèmes.

Ce sont des préparations multiphasiques de consistance fluide. Elles sont généralement constituées d'une phase lipophile et d'une phase hydrophile. Afin de stabiliser ces deux phases, on utilise un ou plusieurs tensioactifs et un agent épaississant, [9]

On distingue :

- Les crèmes hydrophobes.
- Les crèmes hydrophiles.

II.7.2.3. Les gels.

On peut définir un gel comme un système colloïdal; les molécules gélifiantes appelées également hydro colloïdes sont des macromolécules qui en se solvant vont former un réseau.

On distingue :

- Les gels lipophiles (oléogels)
- Les gels hydrophiles (hydrogels)

II.7.2. Composition d'une émulsion pharmaceutique.

Quel que soit la catégorie de l'émulsion, elle est principalement constituée :

D'un ou plusieurs principes actifs: la molécule qui définit l'efficacité de l'émulsion pharmaceutique, [9]

Des excipients : Les types des excipients utilisés sont :

- **Acidifiant ;**
- **Conservateurs ;**
- **Émulsifiant ou tensioactif:** agent de surface, surfactant qui permet la formation d'une émulsion.
- **Solvant ;**
- **Stabilisant :** stabiliser les émulsions et moduler la texture.

II.8. Les tensioactifs.

Le terme « tensioactif » (TA) signifie « agent actif de surface ». Les tensioactifs possèdent la capacité de modifier l'interface entre les différentes phases. Dans un système composé de deux phases non miscibles (phase aqueuse et phase grasse), les tensioactifs vont s'orienter en fonction de leur polarité. La tête polaire (hydrophile) du tensioactif va s'orienter vers la phase plus polaire (hydrophile) tandis que la partie apolaire (lipophile) aura plus d'affinité avec la phase apolaire (lipophile), [10]. Il se place donc à l'interface de ces deux phases et permet de faire chuter la tension inter faciale. Ceci permet donc de solubiliser deux phases initialement non miscibles. [11]

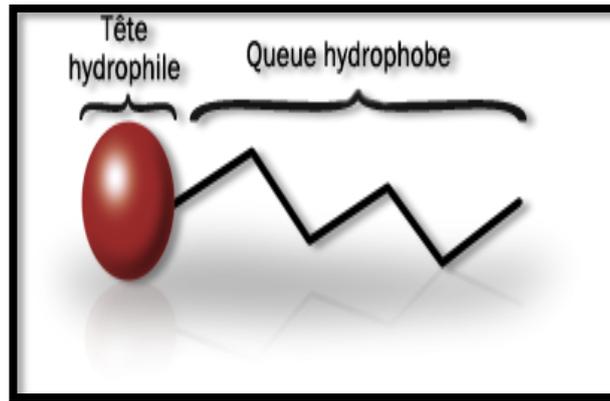


Figure II.3: Schéma simplifié d'un tensioactif. [12]

II.8.1. Classement des tensioactifs.

Il existe deux classements de tensioactifs :

a. Classement selon la charge.

- Les tensioactifs non ioniques
- Les tensioactifs zwitterioniques ou amphotères : La combinaison dans une même molécule, des deux caractères anionique et cationique
- Tensioactifs anionique
- Tensioactifs cationiques
- Tensioactifs naturels

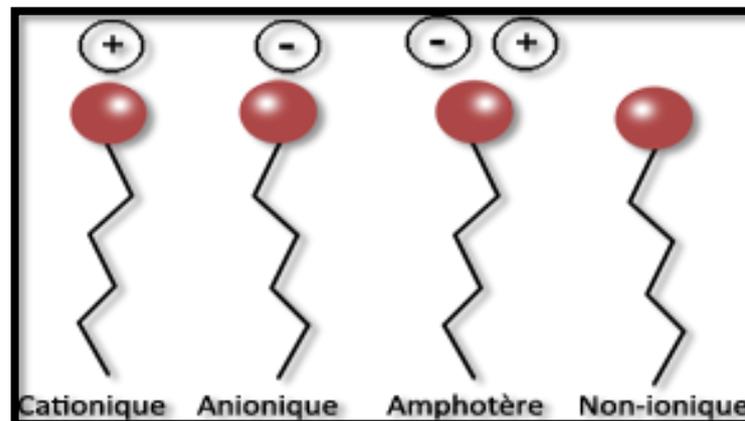


Figure II.4: Schéma descriptive de chaque type de tensioactif. [12]

b. Classement selon la Notion de balance hydrophi-lipophile(HLB).

HLB = $7 +$ valeurs associées aux groupes hydrophiles $+ \text{valeurs associées aux groupes hydrophobes}$.

Tableau II.2: rôle des tensioactifs en fonction du HLB. [7]

Valeur HLB	Rôle
3 à 6	Emulsifiant E/H
8 à 18	Emulsifiant H/E

II.8.2. Comportement des tensioactifs en solution.

En solution, les tensioactifs sont susceptibles de s'organiser spontanément en différentes structures : les micelles pour les tensioactifs hydrophiles, les micelles inverses pour les tensioactifs lipophiles.

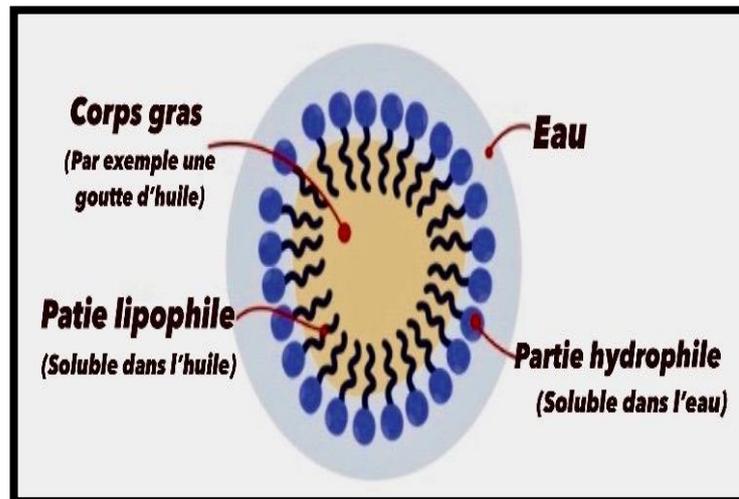


Figure II. 5 : Formation de micelle dans une solution. [13]

II.9. Procédés de fabrication d'une émulsion.

Il existe plusieurs procédés de fabrication d'émulsions, le plus commun et le plus souvent employé est le procédé à deux étapes. Cependant, d'autres méthodes peuvent être employées.

- **Procédé à deux étapes.**

Ce procédé est le plus courant, car c'est le plus simple et le plus facile à maîtriser. Une première émulsion (O/W ou W/O) est réalisée. Cette émulsion est ensuite immédiatement dispersée dans la phase externe contenant un surfactant approprié.

- **Procédé en continu en une étape.**

Ce procédé est plus complexe car il nécessite une formulation particulière ainsi qu'un matériel très performant. Les différents éléments de la formule sont ajoutés au système tout en maintenant une agitation très rapide. En raison des contraintes de cisaillement très élevées, les gouttelettes d'huiles injectées s'allongent et forment des structures concaves qui encapsulent ainsi des gouttelettes d'eau. Ce procédé est peu courant car très difficile à contrôler. Il dépend en particulier, dans la quantité de tensioactif lipophile, du taux de cisaillement des viscosités des deux phases et de la tension inter faciale.

- **Procédé par inversion de phases.**

Ce procédé est également rare car complexe à mettre en œuvre et nécessite un matériel spécifique. Une première émulsion W/O est préparée. Puis une phase aqueuse contenant un tensioactif hydrophile est ajoutée progressivement jusqu'à atteindre un seuil de quantité d'eau. Au moment où ce seuil est atteint, l'apport d'eau est arrêté, formant ainsi une émulsion W/O/W stable. Cette méthode nécessite une grande précision lors de l'ajout de la phase aqueuse.

- **Procédé utilisant les diagrammes ternaires.**

Ce procédé, parfois compliqué, nécessite la préparation de trois solutions initiales :

- un isotrope aqueux ;
- un isotrope huileux ;
- une mésophase cristalline.

Ces trois phases sont ensuite mélangées dans des proportions définies afin de former une émulsion multiple.

II.9.1. Techniques d'émulsification.

Les procédés d'émulsification sont le plus souvent classés en deux grandes catégories:

- **Générateurs de cisaillement:** Ils comprennent les dispositifs rotor-stator, les mobiles Spécifiques à l'émulsification (turbines et hélices) et les broyeurs colloïdaux.
- **Des procédés utilisant le phénomène de cavitation:** Comme les techniques ultrasoniques et les homogénéisateurs à haute pression.

Il est nécessaire d'apporter par agitation mécanique une énergie favorisant la formation des gouttelettes dispersées. En effet, il est tout à fait possible de réaliser une émulsion à température ambiante. Cependant, un apport d'énergie thermique permettant la liquéfaction des composés constituant une émulsion constitue un complément (cet apport thermique reste insuffisant pour former une émulsion). Le cisaillement favorise la fragmentation des gouttelettes dans les émulsions, avec des outils comme les homogénéiseurs, les ultrasons, ou les techniques à membranes. Ces méthodes permettent de contrôler la taille des gouttelettes, mais la stabilité peut varier. L'homogénéisation mécanique est la plus courante, produisant des gouttelettes de quelques micromètres de diamètre grâce à un fort taux de cisaillement. La taille des gouttelettes diminue initialement puis se stabilise, bien que l'agitation prolongée puisse conduire à une polydispersité importante, en raison de l'augmentation de la viscoélasticité du milieu.

II.9.2. Contrôles réalisés sur les émulsions.

II.9.2.1. Détermination du sens de l'émulsion.

Elle est réalisée soit par:

- **Méthode de dilution:** Le contact avec l'émulsion se faisant par la phase externe, les propriétés de mouillabilité et de dispersion sont celles de la phase continue. Par exemple, une petite quantité d'émulsion H/E va s'étaler sur un substrat hydrophile comme un morceau de verre propre ou de papier filtre, alors que l'émulsion E/H ne s'étalera pas. Si une petite quantité d'émulsion H/E est versée dans un milieu aqueux, sa phase externe va se dissoudre dans la phase aqueuse et les gouttelettes d'huile vont se disperser, ce qui n'est pas le cas pour une émulsion E/H.
- **Méthode par les colorants:** On peut aussi utiliser la méthode des colorants, c'est-à-dire qu'on ajoute à l'émulsion un colorant liposoluble en poudre (du soudan III par exemple): si l'émulsion est du type E/H, la coloration se propage dans l'émulsion, si elle est du type H/E, elle ne s'étend pas.
- **Conductivité électrique:** La variation de conductivité est proportionnelle à la variation de proportion de phase externe quand il s'agit d'une émulsion H/E et la conductivité ne varie quasiment pas pour des changements de proportion d'une émulsion E/H. Cela est dû au fait que la conductivité d'une phase huileuse est 100 à 1000 fois inférieure à celle d'une phase aqueuse salée. Par conséquent

le point où l'émulsion change de type correspond à une grosse variation de conductivité qui peut être détectée facilement, à la seule condition qu'il y ait une agitation suffisante pour assurer un système homogène. [14]

II.9.2.2 La granulométrie d'émulsion.

Après avoir caractérisé le type de l'émulsion, la seconde information importante est la granulométrie correspond à la taille des gouttelettes de la phase dispersée: distribution de taille et diamètre moyen. Si la distribution de taille des gouttelettes ou distribution granulométrique est généralement monomodale (les diamètres se distribuent en un pic unique), dans certains cas, on observe des distributions bimodales. Si la distribution est resserrée, on parle d'émulsion homogène ou mono disperse, sinon d'émulsion hétérogène ou poly disperse. [10] La taille des gouttes peut être mesurée par plusieurs techniques : turbidité, diffraction laser, atténuation ultrasonore, comptage individuel ou fractionnement capillaire. [14]

II.9.2.3. Détermination du pH.

La mesure du pH est nécessaire, car il peut réagir, soit sur l'aspect technologique, soit sur l'aspect thérapeutique d'une préparation dermique.

En effet, il peut avoir une influence sur la stabilité physique d'une crème ou d'un gel, ou sur celle d'un principe actif, ou modifier les caractères rhéologiques ou l'activité des conservateurs, ou être responsable d'une incompatibilité entre excipient et substances médicamenteuses. La mesure du pH doit être déterminée par potentiomètre (pharmacopées européenne) à l'aide d'un pH mètre, sur toutes les préparations hydrophiles et dans certains cas, sur des préparations lipophiles.

Cette mesure est effectuée, soit directement sur la préparation, soit sur une dilution ou une dispersion, le plus souvent au dixième dans de l'eau distillée bouillie. Toutes fois des électrodes, de forme adaptée, peuvent rendre cette dilution inutile. La mesure du pH peut se faire aussi avec des réactifs colorés. [15]

II.9.2.4. Essais microbiologiques.

Ils concernent l'étude de l'efficacité de la conservation antimicrobienne ou « challenge test », par un test de contamination artificielle, et le contrôle de la contamination microbienne dite propreté microbiologique, par numération des germes.

La propreté microbiologique doit être réalisée en routine ou en périodique, selon le risque de contamination de la préparation [15].

II.9.2.5. Dosage du principe actif.

L'essai est destiné à vérifier que le contenu du médicament en principe actif est dans une certaine tolérance par rapport à la teneur spécifiée. Ceci, pour vérifier que le produit contient la quantité correcte de la substance médicamenteuse. Les principales techniques analytiques utilisées pour le dosage sont la spectrophotométrie UV, HPLC, et le titrage. [16]

II.9.2.5.1. Spectroscopie Ultraviolet (UV).

a. Définition.

La spectroscopie ultraviolet-visible ou spectrométrie ultraviolet-visible est une technique de spectroscopie mettant en jeu les photons dont les longueurs d'onde sont dans le domaine de l'ultraviolet (100 nm - 400 nm), du visible (400 nm - 750 nm) ou du proche infrarouge (750 nm - 1 400 nm). Soumis à un rayonnement dans cette gamme de longueurs d'onde, les molécules, les ions ou les complexes sont susceptibles de subir une ou plusieurs transitions électronique(s). Cette spectroscopie fait partie des méthodes de spectroscopie électronique. Les substrats analysés sont le plus souvent en solution, mais peuvent également être en phase gazeuse et plus rarement à l'état solide. [17]

b. Principe d'une spectroscopie.

On dissout la substance à analyser dans un solvant et la solution obtenue est versée dans une cuve destinée à être placée dans l'appareil. Afin de ne pas fausser les mesures, la cuve et le solvant choisis ne doivent pas absorber les rayonnements émis par le spectroscope. [18]

c. Absorbance.

Lorsque la solution placée dans un spectroscope reçoit un rayonnement elle en diffuse une partie et absorbe l'autre. L'intensité (I) du rayonnement issu de la cuve est donc inférieure à l'intensité du rayonnement initial (I_0) (Figure. II.6).

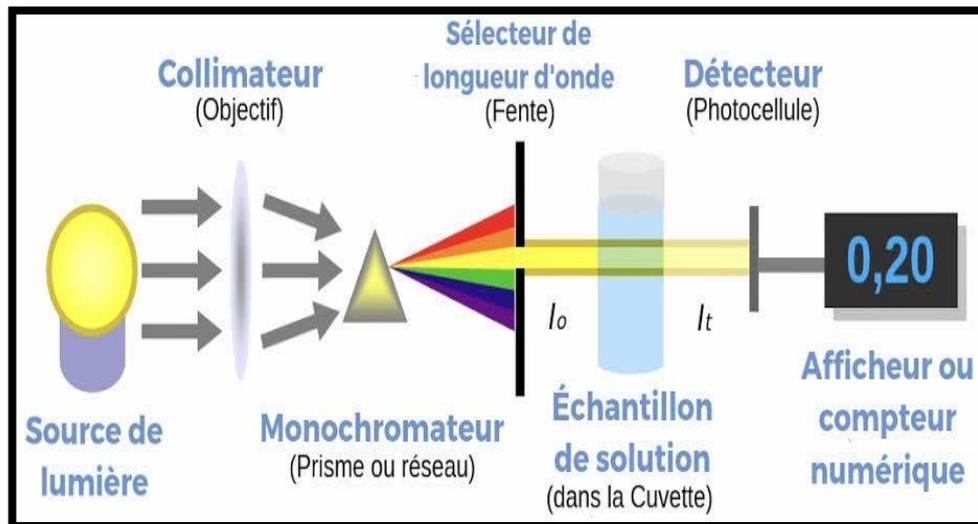


Figure. II.6 : Principe de fonctionnement de spectroscopie UV/Visible [19]

A partir de ces intensités on définit l'absorbance A : $A = -\log(I_0)$

L'absorbance est une grandeur sans unité qui d'autant plus grande que le rayonnement est absorbé.

➤ **La loi de Bér Lambert.**

L'absorbance(A) mesurée par un spectroscope dépend de plusieurs facteurs:

- La largeur (L) de cuve de spectroscopie
- La concentration (C) de la substance dissoute
- Le coefficient d'absorption molaire(ϵ) aussi appelé coefficient d'extinction molaire.

Il s'agit d'une grandeur qui dépend de l'espèce dissout en solution, du solvant utilisé et de la longueur d'onde du rayonnement.

Ces grandeurs sont liées par la loi de Bér Lambert :

$$A = \epsilon \times C \times L \dots \dots \dots (1)$$

Avec: ϵ : en ($L. mol^{-1} .cm^{-1}$), C en $mol. L^{-1}$, L en cm , A sans unité.

II.9.2. 5.2 Chromatographie à Haute Performance (CLHP) au (HPLC)

a. Définition

La chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) ou plus fréquemment l'abréviation anglaise HPLC (High pressure liquid chromatography) (1990) est une technique de séparation analytique et/ou préparatrice de molécules présentes dans un

mélange, elle permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification.

b. Principe :

A l'origine la chromatographie en phase liquide se faisait sur des colonnes en verre. Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression. Puis pour augmenter le débit, des manipulations ont été réalisées sous pression plus forte. C'est ce que l'on a appelé la chromatographie liquide sous haute pression (HPLC) (Figure. II.7).

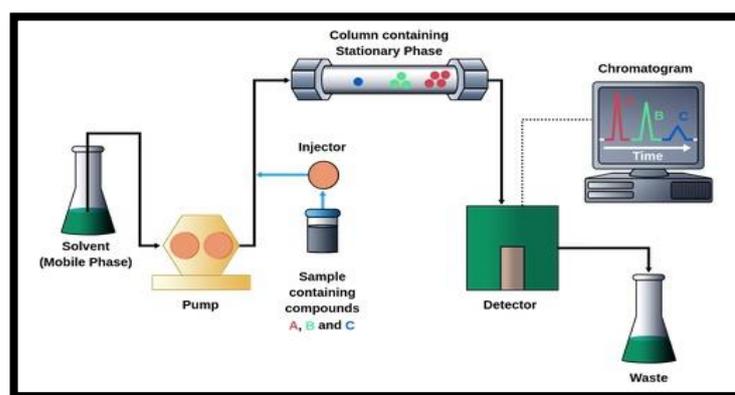


Figure. II.7: Schéma d'une chaîne d'HPLC. [20]

L'échantillon à analyser est poussé par un liquide (appelé phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie (les « grains » sont de très petite taille). Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé ce qui entraîne une augmentation de la pression dans le système. Ce débit élevé diminue le temps nécessaire pour séparer les composés le long de la phase stationnaire. En effet, pour un même volume de phase stationnaire la surface d'échange augmente si les « grains » qui la composent sont de diamètre plus petit. Les pics obtenus sont plus étroits donc la résolution est améliorée, le seuil de détection est également plus bas la combinaison de ces attributs rapidité et résolution élevées conduit à l'appellation « haute performance ». Les phases mobiles utilisées sont des mélanges d'eau et d'un solvant organique miscible ou des combinaisons de solvants organiques miscible entre eux. Souvent, la composition de la phase mobile est modifiée au cours de l'analyse, c'est le mode dit « gradient » ou « élution graduée » (en opposition au mode « isocratique », pour lequel la composition de la phase mobile reste la même tout au long de la séparation). Les résultats obtenus sont sous la forme d'un chromatogramme, qui retrace représentativement la concentration de chaque constituant en fonction du temps, dont un pic représente une molécule [20].

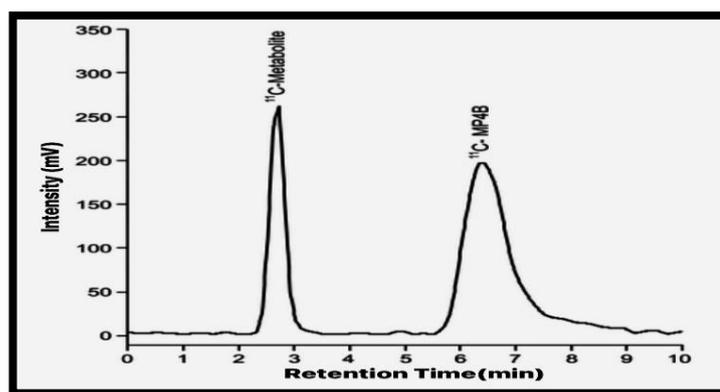


Figure II.8: Chromatogramme. [20]

II.9.2.5.3. Spectroscopie infrarouge.

Le rayonnement infrarouge (IR) fut découvert en 1800 par Frédéric Wilhelm Hershel. Ces radiations localisées au-delà des longueurs d'onde dans le rouge, sont situées entre la région du spectre visible et des ondes hertziennes. Le domaine infrarouge s'étend de 0,8 μm à 1000 μm . Il est arbitrairement divisé en 3 catégories, le proche infrarouge (0,8 à 2,5 μm soit 12500- 4000 cm^{-1}), le moyen infrarouge (2,5 à 25 μm soit 4000-400 cm^{-1}) et le lointain infrarouge (25 à 1000 μm soit 400-10 cm^{-1}). Dès 1924, on s'est aperçu que l'énergie du rayonnement infrarouge moyen coïncidait avec celle des mouvements internes de la molécule [21], Ainsi, la relation entre l'absorption d'un rayonnement IR par une molécule et sa structure moléculaire est mise en évidence, Même si les régions du proche IR et du lointain IR ont suscité un certain intérêt, l'utilisation de la spectroscopie moyen IR reste la plus adaptée pour l'élucidation de la composition moléculaire d'un composé. Les spectromètres IR sont construits à partir d'éléments principaux, avec quelques différences au niveau des matériaux utilisés, ou de leur montage selon le domaine de l'IR exploité et selon le type d'interaction entre la matière et le rayonnement [22].

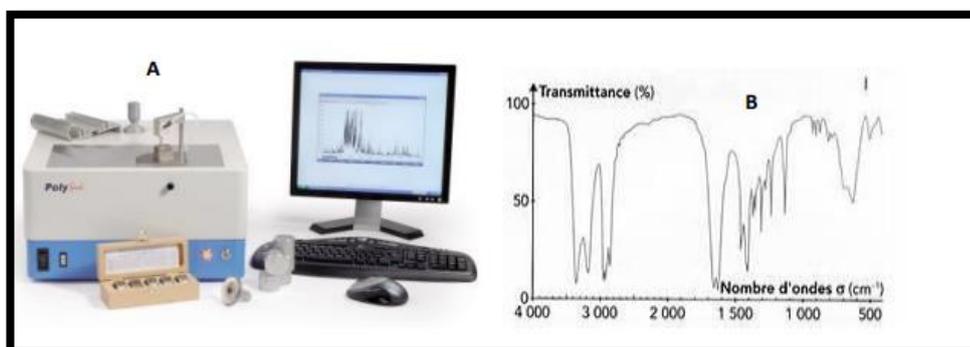


Figure II.9 : Système du spectromètre infrarouge : A, spectromètre ; B, spectre. [22]

II.9.3. Phénomènes de déstabilisation d'une émulsion.

Une émulsion est un système métastable : ce sont des systèmes thermodynamiquement instables mais potentiellement cinétiquement stables sur une échelle de temps modérée. Ainsi, afin de tendre vers le minimum d'énergie libre du système, des phénomènes de déstabilisation de phases apparaissent, de nature réversible ou irréversible. Ce minimum d'énergie est atteint lorsque l'aire minimale de contact entre les deux phases (H/E) est observée, ce qui conduit à une séparation de phases, On peut alors dénombrer plusieurs types de déstabilisation.

➤ Mûrissement d'Ostwald.

Le mûrissement d'Ostwald est un phénomène irréversible pendant lequel les plus petites gouttelettes en solution dans la phase continue se dissolvent et se déposent sur des gouttelettes plus grosses afin d'atteindre un état thermodynamiquement plus stable dans lequel le rapport surface / surface est minimisé(Figure II.10). La force motrice pour le mûrissement d'Ostwald est la différence de pression de Laplace entre petites et grandes gouttelettes. La pression plus élevée chez les plus petites gouttes les mène à migrer vers les gouttes de diamètre plus important. [6] Dans une gouttelette de rayon R, la pression de LAPLACE est donnée par la formule suivante: $\tau = 2\gamma/R$ (2)

Avec : γ = la tension inter faciale à la limite de séparation (N/m),

R = rayon de la gouttelette (m), τ = La pression de LAPLACE.

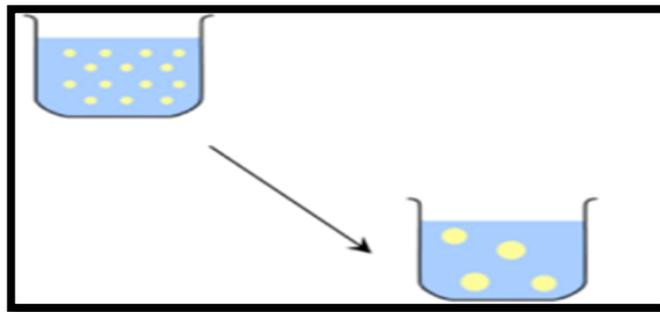


Figure II.10: Mûrissement d'Ostwald. [6]

➤ Flocculation.

La flocculation résulte de l'agrégation des gouttelettes dispersées dans la phase continue sous l'action d'interactions attractives (comme les forces de Van Der Waals ou la déplétion). Des agrégats ainsi formés sont appelés floccs dans lesquels les gouttelettes conservent leur intégrité et forment des entités séparées(figure II.11). Ce phénomène, tout comme le crémage et la sédimentation est non destructif et donc réversible.

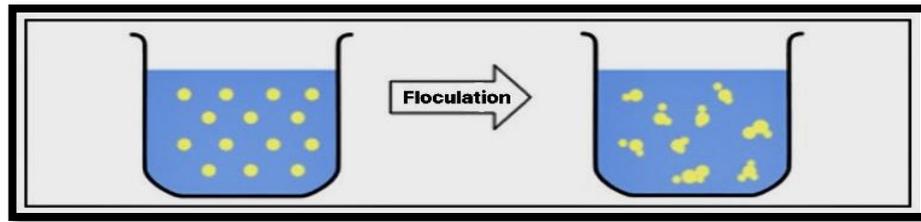


Figure II.11: Flocculation. [6]

➤ **Sédimentation et Crémage.**

Pour des huiles à densité moindre par rapport à celle de l'eau, un phénomène de crémage est observé. On retrouve ainsi la phase dispersée, moins dense, en haut du système. L'inverse se passe pour le phénomène de sédimentation où la phase dispersée est plus dense (phase aqueuse) (Figure II.12). Ce phénomène de crémage est contrecarré par une force, le Mouvement Brownien, qui résulte de l'agitation thermique des molécules.

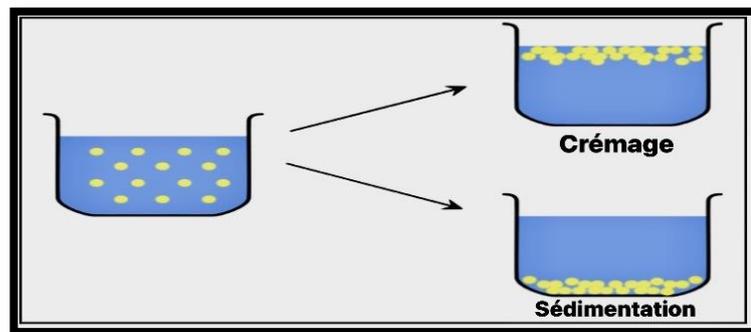


Figure II.12: Crémage et sédimentation. [6]

➤ **Coalescence.**

La coalescence est un phénomène irréversible qui résulte de la rupture du film interfaciale entre les gouttelettes de la phase dispersée (Figure II.13). Elle engendre une réduction de la surface interfaciale, ainsi les forces qui s'exercent sur la gouttelette sont moindres, aboutissant à un état plus stable.

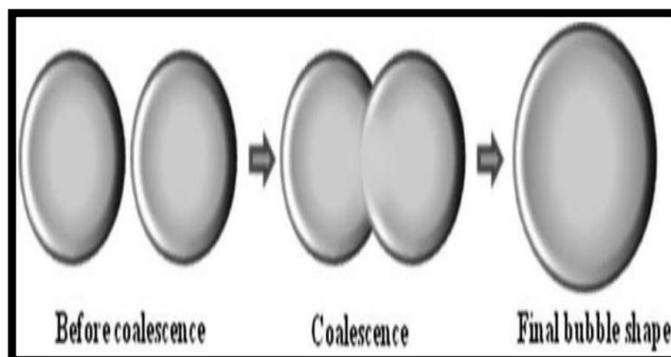


Figure II.13: Phénomène de coalescence. [6]

➤ **L'inversion de phase.**

L'inversion de phase est la transformation de l'émulsion H/E à l'émulsion E/H, ou l'inverse (Figure II.14). Ce phénomène d'inversion de phase indiqué peut modifier les propriétés physicochimiques de l'émulsion. Cette dernière peut être maîtrisée en contrôlant la concentration de l'émulsion ou la température, le type et la concentration de l'émulsifiant.

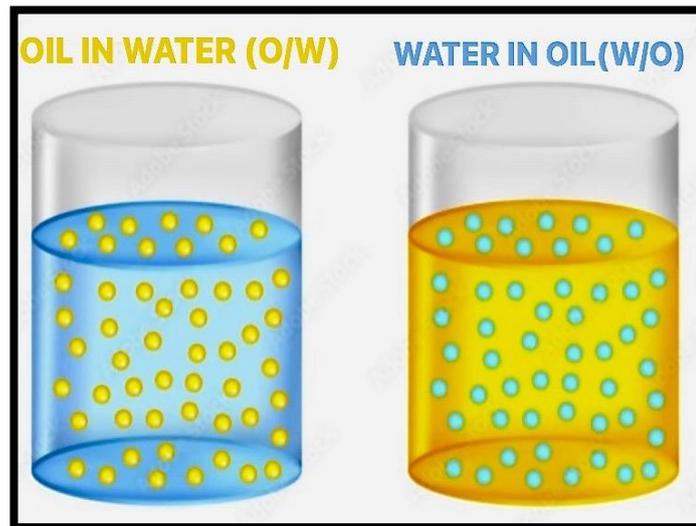


Figure II.14 : L'inversion de phase. [6]

II.9.4 Effet des différents paramètres dans la stabilité des émulsions.

Pharmaceutiques Plusieurs paramètres peuvent influencer sur la stabilité des émulsions pharmaceutiques comme suit:

A/ Effet du type de tensioactif sur la stabilité des émulsions.

L'agent émulsifiant ou tensioactif peut être défini comme « un composé qui abaisse la tension superficielle et forme un film à l'interface de deux liquides non miscibles les rendent miscibles ».

L'efficacité d'un agent émulsifiant est liée à sa structure chimique, sa solubilité, son pH et ses propriétés physiques. Il existe deux types d'agents émulsifiants en fonction de leur effet ;

- Les agents primaires (véritables émulsifiants) peuvent former et stabiliser à eux seuls des émulsions.
- Les agents auxiliaires (stabilisants) seuls ne forment pas d'émulsions fines, mais assistent les agents émulsifiants primaires.

B/ Effet de la concentration des surfactants sur les émulsions.

La quantité d'agents émulsifiants est l'un des facteurs les plus importants ayant une influence sur la stabilité de l'émulsion. A faible concentration d'émulsifiant, l'émulsion est instable en raison de l'agglomération des gouttelettes d'huile. A une concentration élevée d'émulsifiant, l'instabilité de l'émulsion se produit en raison de la coalescence rapide.

C/ Effet de la température sur les émulsions.

Les émulsions préparées à basse température sont stables; cependant, des émulsions plus stables peuvent être préparées à une température de 30°C. Il est clair que la tension superficielle de la plupart des liquides diminue avec l'augmentation de la température.

D/ Effet du temps de mélange.

Le temps de mélange est un facteur clé lors de l'émulsification. Selon Gonglun et Daniel, les rayons des gouttelettes de la phase dispersée diminuent avec l'augmentation de la vitesse d'agitation et du temps de mélange. Un temps de mélange long augmente l'efficacité des agents émulsifiants; cependant, un temps de mélange trop long entraînera une diminution de l'efficacité des agents émulsifiants, car une agitation forte et sévère entraînera la chute des agents émulsifiants à l'interface des liquides. [23]

CHAPITRE III

ETUDE DE LA CREME DERMIQUE PHANAZOL 1%.

III .1. Définition de PHANAZOL 1%.

Est une préparation semi solide topique renferme un antifongique appartenant a la famille des imidazoles. Il est prescrit pour traiter diverses affections cutanées, unguéales et muqueuses causées par des champignons microscopiques (mycose) telles que la candidose, le pityriasis versicolore et les dermatophytoses.



Figure III.1 : présentation de boîte de crème dermique PHANAZOL1%

III.2 Composition de PHANAZOL 1%.

A. Le principe actif.

- **Nom commercial** : Phanazol® Econazole nitrate à 1% crème tube de 30g.
- **DCI**: éconazole nitrate.
- **DC**: Nitrate de 1-[2-[(4-chlorobenzyl) oxy] -2-(2,4-dichlorophényl) éthyl] imidazole
- **Classe pharmaco-thérapeutique** : C'est un Antifongique de la famille: imidazolés
- **Condition de conservation**: Conserver dans un récipient fermé et protégé contre la lumière et l'humidité entre 15 et 30°C.

B. Les excipients.

Les excipients utilisés pour la fabrication du PHANAZOL sont représentés dans le tableau ci-dessous,

Tableau III.1: Rôle des composants du PHANAZOL1%.

Composants	Fonctions
Econazole	principe actif
Myristate isopropylique	Emulsifiant
Acide stéarique	Acidifiant (Agent de durcissement)
Alcool cérylique	Stabilisant
Polyoxy-40-Stéarate	Emulsifiant
Butylhydroxytoluene	Conservateur
Parahydroxy benzoate de méthyl (Nipagine)	Conservateur
Lauryl sulfate de sodium	Emulsifiant
Propylenglycole	Agent d'hydratation
Eau purifiée	Solvant

III.3. propriétés de PHANAZOL 1%.

Le tableaux ci-dessous présenter les défférente proprétés de crème dermique PHANAZOL1%.

Tableaux III.2 : les défférents proprétes de cereme dermique PHANAZOL1%

La pharmacodynamique	<p>L'éconazole nitrate est un dérivé imidazole doué d'une activité antifongique et antibactérienne. L'activité fongicide a été démontrée in vitro et s'exerce sur la plupart des agents responsables des mycoses cutanéomuqueuses :</p> <ul style="list-style-type: none">•Dermatopytes (trichophyton, épidermophyton, microsporum)•Candida et autre levures
La pharmacocénitique	<p>Les expériences in vivo effectuées chez des volontaires sains (avec ou sans pansement occlusif) ont montré que le nitrate d'éconazole pénètre les couches cellulaires dermiques les plus profondes. Dans les couches supérieures du derme et dans l'épiderme, le nitrate d'éconazole atteint des concentrations fongicides. Le nitrate d'éconazole s'accumule en grandes quantité dans la couche cornée et demeure pendant 5 à 16 heures. La couche cornée joue ainsi un rôle de réservoir. Le taux de résorption systématique se situe entre 0,5 % et 2 % environ de la dose appliquée. Le passage transcutané peut être augmenté sur peau lésée.</p>
Effets indésirables	<p>Du fait du faible taux de résorption de l'éconazole (0,5% à 2 %) sur une peau saine, on peut pratiquement exclure le risque d'apparition d'effets systématiques. Cependant sur une peau lésée, une grande surface, et chez le nourrisson (en raison du rapport surface/poids et de l'effet d'occlusion), il faut être attentif à cette éventualité. Rares manifestation d'intolérance : sensations de brulure ou parfois prurit et rougeur de la peau. Ce médicament ne doit pas être utilisé pendant le premier trimestre de la grossesse sauf avis contraire de médecin traitant.</p>

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I

MATERIELS ET METHODES

Introduction.

Nous avons mené notre étude expérimentale au site pharmaceutique SAIDAL DAR ELBEIDA. L'objectif principal était de contrôler la qualité physico chimique de la crème pharmaceutique PHANAZOL 1% à partir de la matière première jusqu' au produit fini, nous avons utilisé deux méthodes analytique HPLC et UV-VS pour valider la méthode la plus précise, afin de vérifier sa conformité aux normes de la pharmacopée européenne

Ce travail est subdivisé en trois parties :

- ✓ Premièrement l'analyse des matières premières (PA+EX) utilisé dans la formulation en suivant les réglementations internationales de conformités,
- ✓ En suite les étapes de fabrications de crème **PHANAZOL1%**,
- ✓ En fin le contrôle physico-chimique de produit fini par deux méthodes analytique UV-vis et HPLC afin de comparer la précision des deux méthodes, et le contrôle microbiologie de produit finit, tout en suivant les étapes nécessaires de contrôle de la crème au cours de sa synthèse.

I. Matériels et méthodes.

I.1. Matériels.

Pour la réalisation de cette étude, nous avons eu besoin de :

- **Matériels utilisés:** pour la fabrication et le contrôle physico-chimique (voirannexe 1)
- **Matières utilisés:**
 - ☞ **Matières premières :** principe actif : Econazole Nitrate.
 - ☞ **Produit fini :** crème dermique PHANAZOL1%.

I.2. Méthodes.

I.2.1. Echantillonnage.

L'échantillon prélevé doit être effectué dans des conditions d'asepsie rigoureuses pour éviter toute source de contamination. Les mentions suivantes ont été indiquées pour chaque prélèvement :

- La date de prélèvement,
- La quantité prélevée,
- Le numéro de lot et l'indication du produit.

I.2.2. Contrôle physico-chimique des matières premières.

Les différentes méthodes de contrôle physico-chimique utilisées pour réaliser ce travail, selon la réglementation internationale de conformité (pharmacopée européenne 2019, 9^{ème} édition).

I.2.2.1. Analyses du principe actif : Econazole nitrate.

a. Caractères organoleptiques.

➤ L'aspect.

- ☞ **But :** L'évaluation de l'aspect implique une analyse visuelle méticuleuse de la couleur et de consistance de la substance afin de déterminer ses caractéristiques.

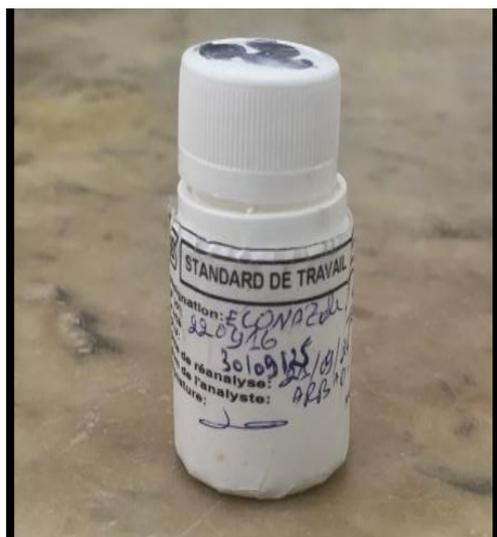


Figure I.1 : boîte d'échantillon du principe actif « Econazole nitrate ».

☞ Mode opératoire.

On pose sur un papier blanc une petite quantité d'éconazole nitrate et on examine l'aspect, la couleur.

➤ Solubilité.

- ☞ **But :** on va étudier la capacité de l'éconazole nitrate à se dissoudre dans l'eau, le méthanol et éthanol à 96%.

☞ **Mode opératoire.**

Dissoudre une quantité définie de la substance dans un volume prédéterminé de chaque solvant, agiter ensuite et procéder à une évaluation visuelle de la solubilité de chaque solution.

b. **Point de fusion.**

☞ **But :** La détermination du point de fusion est essentielle pour identifier un préparât stable sous forme de poudre. Chaque préparât pur possède une valeur précise de point de fusion, mais la présence d'impuretés ou la complexité du mélange peut altérer cette valeur, la faisant augmenter ou baisser.

☞ **Mode opératoire.**

- **Préparation de tube capillaire :** Commencez par couper un tube capillaire en segments de 5 cm de longueur et soudez-en un à une extrémité. Remplissez ensuite ce tube avec une quantité de poudre d'éconazole nitrate. Insérez le tube dans le fusiomètre. Enclenchez le fusiomètre et augmentez progressivement la température tout en observant la fusion de la poudre. Arrêtez-vous lorsque la fusion est totale, c'est-à-dire lorsque toute la poudre est liquéfiée, et notez la température.



Figure I.2.Un fusiomètre

c. **Identification de principe active par Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge.**

☞ **But:** Pour assurer la conformité de la matière première au principe actif, l'identification a été effectuée via la spectrophotométrie d'absorption infrarouge.

☞ Mode opératoire.

L'analyse implique l'introduction de la matière première dans l'appareil infrarouge, on met notre matière (PA) dans le diamant cellulaire de l'IR. Suivi d'une comparaison du spectre obtenu avec un spectre de référence Econazole nitrate SCR afin de procéder à l'identification.



Figure I. 3 : Spectrophotométrie d'absorption infrarouge I.R.

Le spectre infrarouge illustre la variation du pourcentage de transmittance T (%) en fonction du nombre d'onde (cm^{-1}), mettant en évidence les bandes distinctives des différents groupements fonctionnels dans une molécule. Il se divise généralement en deux parties principales :

- La région inférieure à 1400 cm^{-1} est appelée "empreinte digitale", où chaque molécule possède un modèle unique (sa complexité rendant son interprétation difficile). Si le spectre d'un échantillon inconnu correspond à celui d'un composé connu, l'identification de l'échantillon inconnu est possible.
- La région supérieure à 1400 cm^{-1} révèle des bandes caractéristiques telles que $3325,39 \text{ cm}^{-1}$ (liaison C-N dans l'anneau d'imidazole), $3109,35 \text{ cm}^{-1}$ (-C-H), et $1411,94 \text{ cm}^{-1}$ (liaison C-C). Ces valeurs de pics correspondent aux spectres du nitrate d'éconazole déjà documentés.

Norme : Le spectre de l'essai doit être identique à celui de l'étalon SCR.

d. Perte à la dessiccation.

☞ **Principe:** la perte à la dessiccation est la perte en masse en pourcentage (%), Cette analyse vise à évaluer le degré d'hydratation actif (quantité d'eau ou d'humidité) du principe actif.

☞ **Mode opératoire.**

- Peser 1g de econazole Nitrates (Pe) dans un creuset vide qui a été asséché et pesé à l'avance (Pv)
- Placer le creuset dans une étuve sous vide à 105 °C pendant 4h, puis pesé à nouveau pour enregistrer sa masse finale (Pf).

☞ **Formule de calcul.**

$$p\% = \frac{(Pv+Pe)-Pf}{Pe} \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

e. Cendre sulfuriques.

☞ **But:** ce test permet de déterminer la présence de composés minéraux inorganique dans un échantillon.

☞ **Principe:** Les cendres sont obtenues en calcinant l'échantillon en présence d'acide sulfurique concentré. Cela permet de décomposer les composés organique et de laisser les résidus minéraux sous forme de cendres.

☞ **Mode opératoire.**

Préchauffez le creuset à 600°C dans un four à moufle pendant 30 minutes pour éliminer toute trace de cendres résiduelles. Après refroidissement, pesez le creuset vide (**Pv**). Ensuite, mesurez 1 gramme d'Éconazole Nitrate (**Pe**) dans le creuset. Humidifiez la substance à analyser avec 1 ml (2 gouttes) d'acide sulfurique, puis chauffez doucement sur une plaque chauffante jusqu'à ce que l'échantillon soit complètement carbonisé et qu'il n'y ait plus de fumées blanches ou noires. Placez ensuite le creuset dans le four à moufle à 600°C jusqu'à ce que le résidu soit complètement incinéré, environ 1 heure. Une fois refroidi, retirez le creuset, pesez-le à nouveau (**Pf**), puis calculez le pourcentage de résidu.

☞ **Equation de calcul.**

$$CS\% = \frac{Pf-Pv}{Pe} \times 100 \dots \dots \dots (2)$$

f. Dosage de principe active par titrimétrie.

☞ **Mode opératoire.**

- Dissolvez 0.4 g d'Éconazole Nitrate dans 50 ml d'acide acétique anhydre R et ajoutez quelques gouttes de violet cristallisé comme indicateur coloré jusqu'à obtenir une couleur bleue,
- Titrez ensuite avec de l'acide perchlorique 0.1 M jusqu'à ce que la couleur devienne verte,
- Notez le volume Va,
- Parallèlement, effectuez un essai à blanc en réalisant un titrage en l'absence de la substance à doser, c'est-à-dire l'Éconazole Nitrate. Préparez une solution blanche (50 ml d'acide acétique anhydre R + quelques gouttes de violet cristallisé),
- Titrez cette solution avec de l'acide perchlorique 0.1 M jusqu'à obtenir une couleur verte et notez le volume Vb,
- Il est important de noter que 1 ml de HClO₄ 0.1 M correspond à 44.47 mg de C₁₈H₁₆C₁₃N₃O₄.

☞ **Equation de calcul :**

$$D\% = \frac{V \times 44.47 \times F}{Pe} \times 100 \times \frac{100}{100 - \text{perte}} \dots (3)$$

Pe : poids d'essai,

V : volume (Vb - Va),

Va : la quantité de HClO₄ 0.1 M pour la solution d'éconazole (ml),

Vb : la quantité de HClO₄ 0.1 M pour la solution à blanc (ml),

F : facteur de correction déterminé lors de la préparation de la solution d'acide perchlorique.

I.2.2.2. Analyses d'eau purifiée.

a. Contrôle physico chimique de l'eau purifiée.

- ☞ **Prélèvement** : le prélèvement d'eau purifiée a été réalisé dans des flacons stériles à partir de la station de traitement des eaux.
- ☞ **L'aspect** : vérification visuelle que l'eau est liquide limpide et incolore.
- ☞ **Mesure de pH** : Le pH donne l'acidité ou la basicité d'une solution à 25°C ont mesurée le pH d'eau purifié à l'aide d'un pH mètre, le pH doit être compris entre 5 et 7.

☞ **Mode opératoire :**

- Verser une quantité d'eau purifiée dans un bécher,
- Rincer l'électrode et l'essuyer légèrement,
- Immerger l'électrode dans le bécher et attendre jusqu' à ce que la valeur se stabilise,
- Lire la valeur affichée sur l'écran du pH-mètre.

➤ **Conductivité.**

La conductivité est mesurée à l'aide d'un conductimètre et doit être inférieure à $4.3\mu\text{m}/\text{cm}$ à 20°C .

☞ **Mode opératoire :**

- Calibrer l'appareille de mesure conductimètre,
- Prélever un échantillon d'eau purifiée et le mettre dans un bécher,
- Rincer l'électrode et le placer dans l'échantillon,
- Attendre la stabilisation de la lecture,
- Enregistre la valeur de conductivité.

➤ **Recherche de substance oxydable.**

☞ **Mode opératoire :**

- Dans un erlenmeyer verser 100ml d'eau purifiée et ajouter ensuite 10ml d'acide sulfurique dilué et 0.1 ml de permanganate de potassium 0.02M,
- Chauffer le mélange pendant 5 min.



Figure I.4: Recherche des substances oxydables

a. Contrôle microbiologie de l'eau purifiée.

➤ **Dénombrement des germes aérobie viables totaux : filtration sur membrane.**

- Stériliser les accessoires de la rampe de filtration dans un autoclave,

- Chauffer le milieu R2A au bain marie jusqu'à ce qu'il fonde, puis le maintenir à une température de 40-45°C,
- Verser le milieu fondu dans des boîtes de Pétri de 55 mm de diamètre et le laisser se solidifier,
- Agiter l'échantillon d'eau à analyser,
- Filtrer 10 ml de l'échantillon à travers une membrane filtrante stérile,
- Utiliser une pince stérile pour récupérer la membrane et la placer à la surface du milieu R2A,
- Incuber la boîte à 30-35°C pendant 5 jours,
- Effectuer le décompte des colonies obtenues et exprimer les résultats en UFC/ml.

➤ **Recherche de *pseudomona saéruginosa*.**

On utilise du milieu céramide qu'on fait fondre au bain marie, puis on le répartit sur les boîtes de Pétri, laisse refroidir et les incube pendant 48 heures à une température de 30-35°C. Agiter l'échantillon d'eau à analyser. Prélever 1 ml d'eau et l'ensemencer dans 100 ml du milieu BCS, puis incuber pendant 48 heures à une température de 30-37°C. En cas d'apparition de colonies sur le milieu BCS, les ensemencer sur céramide et incuber.

I.2.3. Procédé de fabrication de crème dermique PHAZNAZOL 1%.

Le procédé de fabrication de PHANAZOL nécessite plusieurs opérations, résumés dans le tableau ci-dessous,

Tableau I.1 : les étapes de fabrication PHANAZOL1%.

N°	Étapes critiques	Equipements	Paramètre critique
1	<p>Préparation de la phase huileuse : Mélanger les cinq excipients jusqu'à dissolution complète :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Myristateisopropylique ; • Acide stéarique ; • Alcool cérylique ; • Polyoxyl40stéarate ; • Butylhydroxy toluène. 	Cuve de FRYMA	<p>-duré d'agitation : 1heure -T de mélange : 70°C -vitesse d'agitation : 21trs/min</p>

2	<p>Préparation de la phase aqueuse (Dissolution de laurylsulfate de sodium) :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Remplir la cuve de pré mélange avec 200 litre d'eau purifiée ; -Chauffer l'eau purifiée jusqu'à 70C° ; -Sous agitation, incorporer une quantité de laurylsulfate de sodium pendant 20 min. 	Cuve de 200kg	-duré d'agitation : 20 min
3	<p>Transfert de la phase aqueuse vers la phase huileuse (Transfert de la laurylsulfate de Na) :</p> <ul style="list-style-type: none"> -introduire la solution de laurylsulfate de Na dans la cuve. - Rajouter à la fin du transfert : eau déminéralisée 20 litre et laisser agiter ; - Refroidir à température de 40°C et laisser encore agiter. 	cuve FRYMA	-Vitesse d'agitation T de mélange
4	<p>Préparation de la solution contenant le principe actif :</p> <ul style="list-style-type: none"> - on dissoudre quantité de nipagine dans le propylène glycol. -dans un fut, contenant 20 litre d'eau chaude T°=20°C, disperser sous agitation manuelle l'éconazol nitrate. -Transférer la solution, d'éconazol nitrate ,obtenue dans le mélangeur (nipagine /propylene) . -rincer avec 2 litre d'eau purifiée. -homogénéiser et filtrer le mélange avec un filtre en tissu. 	Conge en inox (petite récipient).	-T de mélange -vitesse d'agitation -homogénéités de mélange.
5	<p>Mélange final :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Ajouter la solution filtrée (éconazole nitrate) ; -Laisser agiter à température de 40°C pendant 30 min 	cuve FRYMA	T de mélange -vitesse d'agitation -Homogénéité du mélange

6	Homogénéisation de la crème : -Laisser refroidir la crème jusqu'à une température de 25°C. -Homogénéiser la crème pendant 30 min, en laissant le mélange sous agitation. -Procéder à la désaération pour libérer toute inclusion d'air pendant au moins 25 min.	Cuve FRYMA	Homogénéité du mélange
7	Stockage : Transférer le mélange final (la crème) à l'aide d'une pompe vers la cuve de stockage tout en faisant passer celle-ci à travers un filtre de tissu placé à la conduite entre deux cuves. *en attente du conditionnement après réception du bulletin d'analyse (conformité).	Cuve de stockage	-Vitesse d'agitation -Vide ligne

❖ **Validation du procédé.**

La validation du procédé de fabrication s'est faite sur huit lots de production à l'échelle industrielle. Les paramètres de validation pris en considération sont : **Aspect, PH, Poids moyens, Dosage du principe actif.**

- ✓ Ce schéma suivant présent le procédé de fabrication de PHANAZOL en manière général,

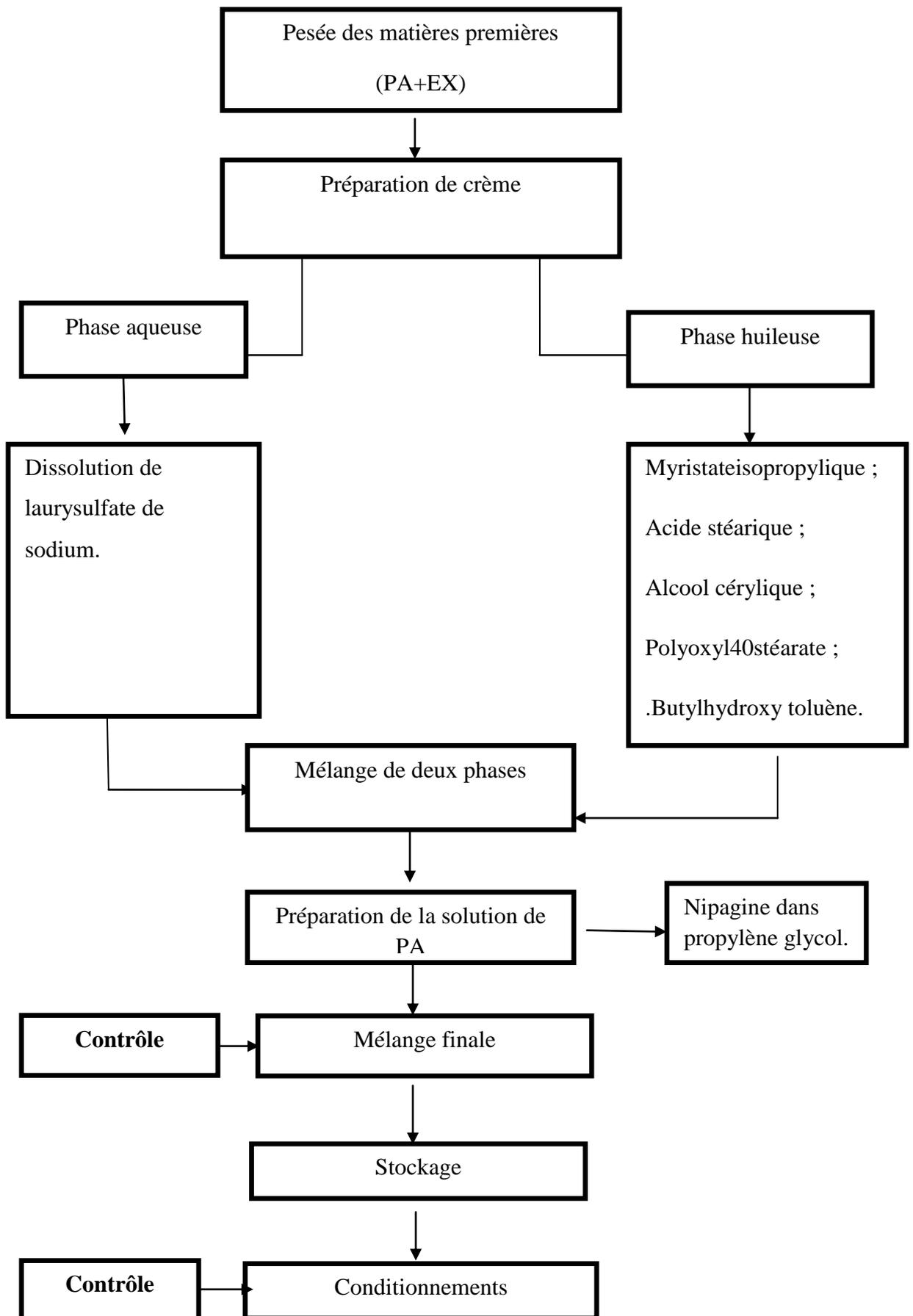


Figure I.5 : schéma de procédé de fabrication PHANAZOL crème à 1%.

I.2.4. Contrôle qualité de produit fini PHANAZOL crème dermique.

Après le déblocage des matières premières et la validation du procédé de fabrication du crème dermique PHANAZOL 1%, le contrôle qualité de produit fini est une étape critique pour garantir la qualité de la crème avant la commercialisation. Vous trouverez ci –dessous des tests rigoureux pour vérifier les caractéristiques organoleptiques, physico-chimiques et microbiologiques du crème dermique PHANAZOL 1%.

I.2.4.1. Contrôle physico-chimique de produit fini.

- a. **Aspect:** c'est une crème onctueuse blanche.
- b. **Détermination de pH:** On prend une petite quantité de Phanazol 1% dans un papier. Et Lire la valeur sur l'écran de pH mètre
- c. **Dosage du principe actif:** Pour choisir la méthode analytique la plus précise pour le dosage de principe actif de produit fini PHANAZOL1%.il est nécessaire d'effectuer une étude comparative entre la méthode analytique UV-VS et la méthode analytique HPLC dans le but de conformité la validation de la méthode analytique la plus précise et la mieux adaptée à l'objectif de notre étude.

A. La méthode 1 : Par spectrophotométrie d'absorption dans l'UV-VS.

Dans le cadre de cette étude consiste à utiliser la méthode de dosage par spectrométrie UV pour quantifier la concentration d'éconazole dans la crème Phanazole 1%.



Figure I .6: Spectrophotomètre d'absorption UV-Visible.

1. Dosage de produit fini (crémé PHANAZOL 1%).

a. Préparation de Solution à examiner.

Dans un bécher, introduire une prise d'essai voisine de 1 g de crème. Ajouter 40 ml de chloroforme R, et porter à ébullition. Transférer dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter au trait de jauge avec du chloroforme. Procéder à une filtration en utilisant du papier whatman récupérer le filtrat (solution A).

b. Préparation de Solution témoin.

Dans une fiole jaugée de 100 ml, introduire une prise d'essai de 100 mg d'éconazole nitrate et ajouter avec précision 10 mg de nipagine, et compléter au trait de jauge avec du chloroforme (solution B). Dans une fiole jaugée de 50 ml, introduire 5 ml de (solution B), et compléter au trait de jauge avec du chloroforme (solution C).

La lecture des densités optiques des deux solutions A et C sur spectrophotomètre sur une longueur d'onde $\lambda = 271$ nm, en utilisant comme blanc du chloroforme.

L'essai à blanc nous permet de calibrer le spectrophotomètre ; car l'appareil va ainsi éliminer l'absorption qui est due à la présence de solvant

Remarque : lors de l'analyse des échantillons de crème les résultats ont été parfois différents ce qui soulève la spécificité et la fiabilité de la méthode. Pour mieux comprendre ces variations, nous envisageons d'inclure une analyse de placebo, c'est-à-dire des crèmes similaires ne contenant pas le principe actif Econazole.

2. Préparation et analyse de placebo de crème Phanazol 1%.

On prépare de la même méthode de fabrication de crème Phanazole 1% un placebo (annexe 1).

Tableau I.2: Formulation d'échantillon de placebo de 50g.

Excipients	Quantité (g)
Myristate isopropylique	1.5
Acide stérique	2.5
Alcool cérylique	2.5
Polyoxy -40-stéarate	1
Parahydroxy benzoate de méthyle (nipagine)	0.05
Lauryl sulfate de sodium	0.08
Proylénglycole	1.5
Eau purifiée	93.15ml

☞ Le dosage est calculé par la formule suivante :

$$Ti = \frac{DOE}{DOT} \times \frac{PT}{PE} \times 100 \dots \dots (4)$$

DOE =Densité optique de l'essai.

DOT =Densité optique du témoin.

PT = Prise d'essai du témoin exprimer en g.

PE = Prise d'essai de l'essai exprimer en g.

B. La méthode 2 : Dosage par chromatographie haute performance (HPLC).



Figure I.7 : Chromatographie liquide haute performance (HPLC).

1. Dosage de produit fini (crème PHANAZOL1%).

☞ **Mode opératoire** :Opérer par chromatographie en phase liquide comme suit :

a. Conditions chromatographiques.

- Mode isocratique,
- Colonne C18 gel de silice octadécylsilyle pour chromatographie (5 µm) (20cm × 4.6 mm) de préférence hypersil ODS,
- Longueur d'onde : 232 nm,
- Débit : 2 ml / min,
- Volume d'injection : 20 µl,
- Le détecteur,
- Température ambiante.

b. Phase Mobile.

- 1 volume de solution tampon,
- 3 volumes de méthanol.

c. Préparation des solutions.

- **Solution tampon:** Dissoudre 2.5 g de dihydrogénophosphate de potassium K_2HPO_4 et 2.5 g d'hydrogénophosphatedipotassique K_2HPO_4 dans 1000ml d'eau.
- **Solution standard interne (1):** 0.05 % m/v de solution de nitrate de miconazole dans le méthanol.
- **Solution (2):**
 - Mélanger une quantité de crème contenant 5 mg de nitrate d'éconazol avec 10ml de solution standard interne,
 - Ajouter 27 ml de méthanol, chauffer au bain marie pendant 30 secondes puis agiter pendant 1min,
 - Ajouter 12.5 ml de solution tampon,
 - Centrifuger pendant 10 min dans la centrifugeuse et récupérer le surnageant liquide,
 - Filtrer si nécessaire.
- **Solution (3):** Préparer de la même manière comme la solution (2) mais en utilisant 10 ml de méthanol à la place de la solution standard interne.
- **Solution (4):** 10 ml d'une solution à 0.1 % m/v de nitrate d'éconazol SCR BP / WS dans du méthanol avec 20 ml de solution standard interne, 45 ml de méthanol et 25 ml de solution tampon.

☞ **Le rôle de méconazole dans le HPLC.**

Le miconazole est utilisé comme standard interne dans le dosage par HPLC de l'éconazole en raison de leurs similitudes structurelles et chimiques, ce qui assure des propriétés chromatographiques comparables, notamment des temps de rétention proches. Cette similarité permet de corriger efficacement les variations instrumentales et de préparation d'échantillons, augmentant ainsi la précision et la fiabilité des résultats. De plus, les deux composés absorbent dans des plages de longueurs d'onde similaires, facilitant la détection simultanée. La disponibilité et la facilité de manipulation du miconazole en font un choix pratique et robuste pour garantir des dosages reproductibles et précis dans la crème Phanazole 1% qui contient de l'éconazole comme principe actif.

☞ **Formule de calcul : Teneur en nitrate d'éconazol en (%).**

$$T = \frac{\frac{SECONAZOLE_{essais}}{SMECONAZOLE_{essais}}}{\frac{SECONAZOL_{standard}}{SMECONAZOLE_{standard}}} \times \frac{P_{standard}}{P_{essais}} \times \frac{10}{100} \times \frac{T_{pa}}{D} \dots\dots (5)$$

Avec :

T: Teneur en nitrate d'éconazol (%)

S éconazol essais: Surface du pic correspondant au nitrate d'éconazol dans laSolution à examiner,

S méconazole essais: Surface du pic correspondant au méconazole nitrate dans laSolution à examiner,

S éconazol standard: Surface du pic correspondant au nitrate d'éconazole dans lasolution standard,

S méconazole nitrate: Surface de pic correspondant au méconazole nitrate dans lasolution standard,

P standard : Prise d'essais du nitrate d'éconazole dans la solution standard (mg),

P essais : Prise d'essais du produit dans la solution à examiner (mg),

Tpa : Titre de l'éconazole nitrate (%),

D : Dose théorique de l'éconazole nitrate dans le produit fini (1%) = (D= 1/100).

2. Dosage des conservateurs «parahydroxybenzoate de métyle »ou nipagine.

☞ **Mode opératoire.**

a) Condition chromatographique.

- Régime gradient,
- Phase mobile: méthanol grade HPLC/Eau,
- Colonne: C18 (25 cm-4,6 mm-5um)(HYPERSIL, GOLD, THERMO SCIENTIFIC ou Equivalent),
- Débit: 1ml/min,
- Longueur d'onde: 245nm pour nipagine et 280 nm pour BHT,
- Volume d'injection: 20 ul,
- Température de la colonne: 25°c,
- Température de l'échantillon: 20°c.

b) Solution standard.

- Introduction une prise d'essai exactement pesée de 125 mg de nipagine et 12.5mg de BHT dans une fiole de 100ml,
- Dissoudre avec 50 ml de méthanol; bien agité,
- Compléter au volume avec le même solvant; bien agité,
- Dans une fiole de 50 ml, introduire 2 ml de la solution obtenue puis compléter au volume avec le méthanol.

c) Solution à examiner.

- Introduire une prise d'essai exactement pesée de 2.5g du produit PHANAZOL 1%, dans une fiole de 50 ml,
- Dissoudre avec 25 ml de méthanol,
- Compléter au volume avec le même solvant; bien agiter.
- Filtrer la solution obtenue sur un papier filtre.

☞ **Formule de calcul :**

$$\text{Teneur en conservateur (\%)} = \frac{Se}{Sst} \times \frac{Pst}{\text{dilutionst}} \times \frac{\text{dilutione}}{PE} \times \text{Pureté} \times 100 \dots (6)$$

Avec :

Se : surface du conservateur dans la solution à examiner,

S st : surface du conservateur dans la solution standard,

Pst : prise d'essai du conservateur dans la solution standard en g,

Dilution st : dilution de la solution standard en ml,

Dilution e : dilution de la solution à examiner en ml,

PE : prise d'essai du produit finit en g,

Pureté : pureté du conservateur.

I.2.4.2. Contrôle microbiologie de produit fini PHANAZOL.

- **Dénombrement des germes aérobies totaux et des levures et moisissures totales DGAT et DMLT suivant la méthode par ensemencement en profondeur.**

☞ **Mode opératoire.**

- Faire fondre au bain marie à 100C° le milieu gélosé TSA et le milieu Sabourandéxtrosé-gélosé en desserrant légèrement les fermetures et maintenir dans le bain marie en sur fusion à 40-45°C,

- Préparer la solution de 10g du produit à examiner (phanazol) dans 90 ml de la solution tampon peptone au chlorure de sodium pH 7, ou dans un autre diluant approprié ex : solution tampon phosphate pH 7.2 (solution A),
- Agiter jusqu'à homogénéisation complète, d'autre taux de dilution peuvent être employés si les caractéristiques et la sensibilité du produit l'exigent. Les dilutions suivantes sont préparées avec le même diluant,
- Prélever 4 fois 1ml de la solution A préparé et déposé chaque prélèvement dans la boîte de pétri de 90mm de diamètre,
- Couler dans 2 des 4 boîtes de pétri destiné au DGAT 15ml à 20ml du milieu gélose TSA, et dans les 2 boîtes restantes destinées au DMLT 15 à 20ml de milieu sabouraud-déxtrosé-gélosé. -Agiter doucement les boîtes par un mouvement circulaire pour assurer un mélange homogène de l'échantillon et la gélosé, sans faire les bulles et sans mouiller les couvercles des boîtes,
- Incuber les boîtes de TSA à 30-35°C pendant 3-5 jours et les boîtes sabouraud-déxtrosé- gélosé à 20-25°C pendant 5-7 jours.

☞ **Lecture:**

- Le nombre des germes aérobies totaux (DGAT) est considéré comme égale au nombre d'UFC obtenues avec le milieu TSA : si des colonies moisissures et des levures sont détectés sur ce milieu elles sont comptabilisées dans le DGAT.
- Le nombre total de levure et moisissure (DMLT) est considérée comme égale au nombre d'UFC obtenues avec le milieu Sabouraud d'extrosé-gélosé, si des colonies des bactéries sont détectées sur le milieu, elles sont comptabilisées dans le DMLT. Si l'on prévoit que le DMLT risque de dépasser le critère d'acceptation du fait de la croissance bactérienne, du milieu Sabouraud-déxtrosé-gélosé content les antibiotiques peuvent être utilisés.
- Compter le nombre des colonies apparues dans chaque type de boîte, faire le moyenna et déduire le nombre d'unité formant colonie par gramme de produit.

➤ **Recherche de *psuedomonasaeruginosa* et *staphylococcus aureus*.**

☞ **Mode opératoire :**

- Ensemencer 10ml de milieu de TSB avec 10ml de la solution A préparé comme décrit dans le dénombrement des DGAT et DMLT, ou la quantité correspondant à 1g de produit.
- Homogénéisé et incubé à 30-35 pendant 18-24h.

- Agiter le récipient puis repiquer sur gélose cetrimide 0.1ml de milieu liquide TSB et incuber à 30-35°C pendant 18-72h pour la recherche de *pseudomonasaeruginosa*.
- Agiter le récipient puis repiquer sur gélose mannitol sel 0.1 ml de milieu liquide TSB et incuber à 30-35°C pendant 18-72 heures pour la recherche de *staphylococcus aureus*.
- La croissance des colonies sur gélose cetrimide indique la présence possible de *pseudomonasaeruginosa* à confirmer par des essais d'identification.
- La croissance de colonne sur gélose mannitol sel indique la présence possible de *staphylococcus aureus* à confirmer par des essais d'identification.
- ☞ On peut dire que le produit satisfait à l'essai dans le cas où on n'observe aucune colonie ou si les essais de conformation et l'identification sont négatifs.

❖ **Témoin négatif**

Pour vérifier les conditions opératoire, l'analyse doit :

- Effectuer un contrôle sur témoins négatif préparé en substituant le diluant à la préparation à examiner.
- Exposer les boîtes ouvertes de milieu gélosé TSA et sabouraud déxtrosé1 – gélosé sous hotte à flux laminaire.
- Aucune croissance microbienne ne doit observer l'obtention d'un résultat non conforme nécessite en investigation.

I.2.5. Conditionnement de PHANAZOL 1% crème dermique.

Le mélange crémeux du PHANAZOL est transporté à l'atelier de conditionnement pour le conditionnement primaire et secondaire.

➤ **Conditionnement primaire.**

Le conditionnement primaire consiste en remplissage des tubes, fermeture de tube par pliage et marquage en relief, les tubes utilisés sont en aluminium les plus utilisés et recommandés.

- Vérifier le vide de ligne et remplir la fiche correspondante,
- Vérifier la conformité des matériaux de conditionnements,
- Vérifier le N° de lot /Date d'expiration sur le tube.

➤ **Conditionnement secondaire.**

Le conditionnement secondaire consiste par l’emballage des boites sur lesquels on doit trouver le non de produit, quelques informations sur sa composition, sa date de péremption, et l’entreprise fabricante, une notice est aussi incrustée automatiquement

☞ **Le rendement de conditionnement.**

Le rendement de conditionnement évalue l’efficacité de la transformation des matières premières en produits finis emballés.

☞ **Formule du calcul le rendement.**

$$95\% \leq \frac{\text{nombredeubeobtenu}}{\text{nombredeubeordonncé}} \times 100 \leq 105\% \dots (7)$$

CHAPITRE II

RESULTATS ET DISCUSSIONS.

Introduction.

Cette partie présente les résultats de notre étude comparative entre deux méthodes analytiques HPLC et UV-VS, en vue de valider la conformité de PHANAZOL 1%.

Les résultats incluent l'analyse des matières premières, la fabrication du crème jusqu'à conditionnement du crème.

II.1. Résultats et interprétations du contrôle physico-chimique des matières premières.

II.1.1. Résultat du contrôle physico-chimique du principe actif : Econazole nitrate.

Le tableau ci-dessous résume les résultats du contrôle du principe actif Econazole nitrate.

Tableaux II.1 : les résultats du contrôle du principe actif Econazole nitrate.

Teste	Résultats	Norme	Conformité
Caractérisation			
Aspect	Poudre cristalline sensiblement Blanche	Poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche	Conforme
Solubilité	Eau : Très soluble	Très soluble	Conforme
	Méthanol : Soluble	Soluble	Conforme
	Chlorure de méthylène : Peu soluble	Peu soluble	Conforme
Identification			
Point de fusion	164.5	Environ 165 avec décomposition	Conforme
Spectre d'absorption IR	Identique	Identique à celui de SCR	Conforme
Essai			
Perte à la dessiccation	0	≤ 0,5 %	Conforme
Cendre sulfuriques	0	≤ 0,1 %	Conforme
Dosage par titrimétrie			
Teneur en C₁₈H₁₆CL₃N₃O₄	99.0 à 101.0	99.37	Conforme

- **Résultat d'identification IR.**
- Comparaison avec le spectre IR de référence (SCR)

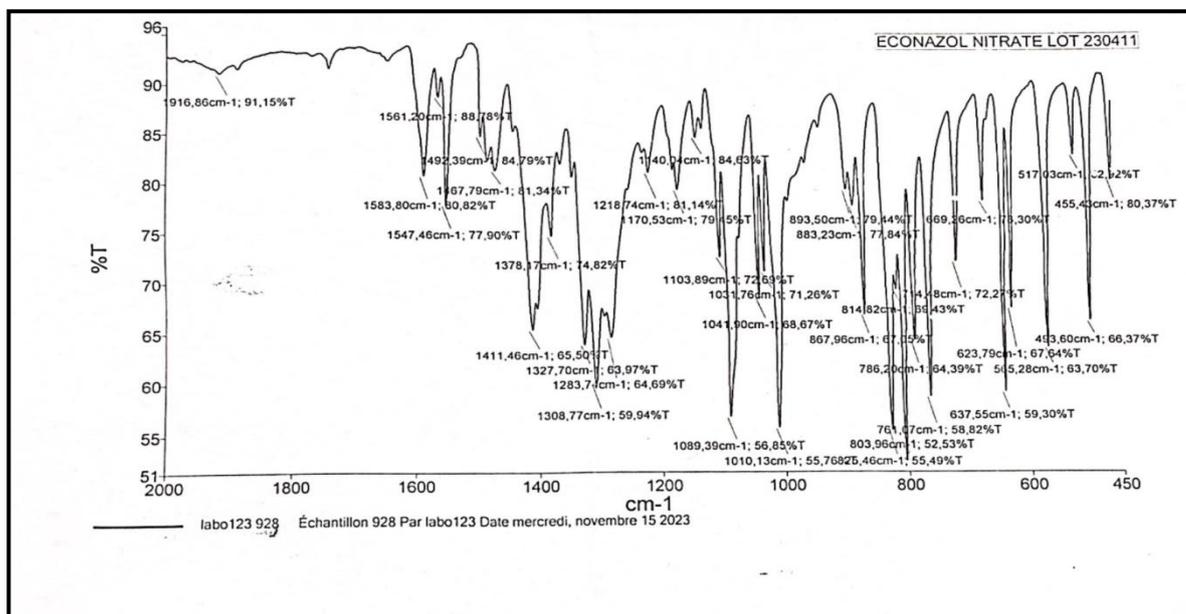


Figure II.1 : Spectre IR d Econazole nitrate analysée

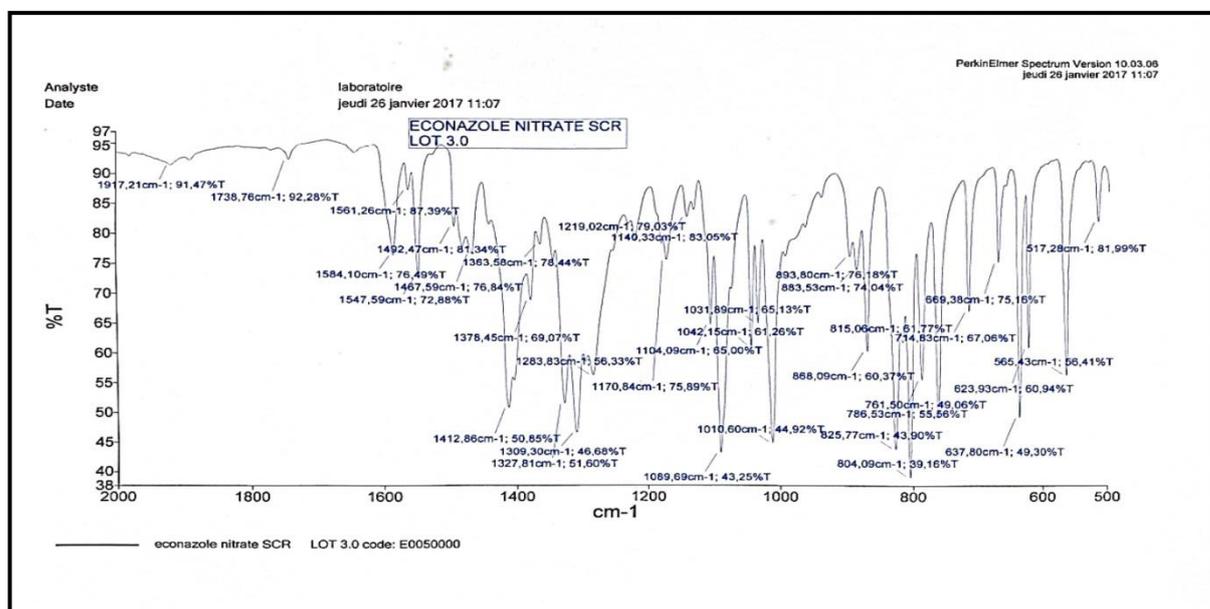


Figure II.2 : Spectre IR d Econazole nitrate(SCR)

➤ **Interprétation des résultats.**

La comparaison entre les spectres de la matière première et des substances chimiques de référence SCR confirme leur identité et leur superposition, indiquant que la molécule analysée est bien le principe actif du nitrate d'éconazole.

En se basant sur ces résultats, on peut conclure que la matière première satisfait aux normes de la pharmacopée européenne, ce qui la rend adéquate pour être utilisée dans le processus de fabrication.

II.1.2. Résultat du contrôle physico-chimique et microbiologique d'eau purifié.

On a résumé tous les résultats physico-chimiques et microbiologiques dans le tableau ci-dessus,

Tableau II.2 : résultats de contrôle physico chimique et microbiologique d'eau purifier

Tests	Résultats	Normes	Conformité
Caractères organoleptique			
Aspect	Liquide limpide et incolore	Liquide limpide, incolore	Conforme
Essais			
PH	6.15	5 à 7	Conforme
Conductivité a 20 °C (µS/cm)	2.12	≤4.3	Conforme
Substances oxydables	Couleur légèrement rose	Solution reste légèrement colorée en rose	Conforme
Contrôles microbiologique			
Dénombrement des germes aérobies totaux : par filtration sur membrane	<10	≤ 10 ² UFC /ml	Conforme

➤ Interprétation des résultats.

L'aspect de l'eau purifiée est liquide limpide et incolore, le pH= 6.15 et la conductivité 2.12 MS/ cm, la couleur rose de la solution correspond à l'absence de substances oxydables (matière organique) qui sont considérés comme matières polluants. Cela permet d'affirmer la qualité organoleptique et la pureté microbienne de l'eau conformément aux normes établies par la pharmacopée européenne.

II.2. Résultats de contrôle physico chimique et microbiologique du produit fini PHANAZOL 1%.

Dans cette étape présente les résultats détaillés dudes tests rigoureux pour vérifier les caractéristiques organoleptiques, physico-chimiques et microbiologiques du crème dermique PHANAZOL 1%.

II.2 .1. Résultats de contrôle physico-chimique du crème PHANAZOL 1%.

II.2.1.1. Caractères organoleptique.

Les résultats des caractères organoleptiques, de la mesure du pH et la masse moyenne sont regroupés dans le tableau suivant,

TableauII.3 : résultats du contrôle physico chimique du crème préparé

Tests	Résultats	Normes	Conformité
Caractères organoleptique			
Aspect	Crème onctueuse blanche	Crème onctueuse blanche	Conforme
Essais			
pH	2.91	2.8 à 4.2	Conforme
Masse moyenne (g)	30.69	27 à 33	Conforme

➤ Interprétation des résultats.

D'après les résultats de l'aspect, pH et de masse moyenne on peut dire que ces résultats sont conformes selon les normes de la pharmacopée européenne

II.2.1.2. Résultats de dosage du principe actif.

Vous trouvez ci-dessous les résultatsd'étude comparative entre HPLC et UV-VS, pour doser le nitrate Econazole dans la crème dermique PHANAZOL1%.

☞ La méthode 1 : Par spectrophotométrie d'absorption dans l'UV-VS.

1) Résultats d'analyse par UV de produit fini PHANAZOL1%.

Le tableau ci-dessous présente les résultats d'analyses du produit fini par UV-vis,

Tableau.II4. Résultats d'analyse de crème PHANAZOL1% par UV-vis

Simple ID	271.0
DOT₁	0.5846
DOT₂	0.5845
DOT₃	0.5828
DOT_{MOY} = 0.5839	
DOE₁	0.5824
DOE₂	0.5816
DOE_{MOY} = 0.582	

☞ **Calcul de dosage :**

$$Ti = \frac{0.582}{0.5839} \times \frac{101.3}{1008} \times 100 = 1.00 \%$$

➤ **Interprétation des résultats.**

D'après les résultats obtenus on peut calculer la teneur en éconazole nitrate, elle est 1.00 % qui est conforme à la norme décrite dans la pharmacopée européenne 0.9 à 1.1 %.

Malgré la conformité de la teneur, les analyses qualitatives en UV-visible révèlent une absorbance totale à une longueur d'onde spécifique de 271 nm, bien que cela ne dépasse pas les limites tolérées.

2) Résultats d'analyse par UV de Placebo

Le tableau ci-dessous présente les résultats d'analyses de placebo du crème PHANAZOL1% par UV-vis.

Tableau II.5 : résultats d'analyse de placebo du crème PHANAZOL1% par UV

Simple ID	271 nm
DOT ₁	0.687
DOT ₁	0.685
DOT ₃	0.687
DOT_{MOY} = 0.687	
DOE ₁	0.163
DOE ₁	0.153
DOE_{MOY} = 0.158	

☞ **Calcul de teneur :**

$$Ti = \frac{0.158}{0.687} \times \frac{101.3}{1008} \times 100 = 0.229 \%$$

➤ **Interprétation des résultats.**

L'absorption observée à la longueur d'onde de 271 nm dans les échantillons de placebo est significative car elle indique la présence d'une substance dans la crème qui absorbe la lumière UV à cette longueur d'onde. Cette absorption pourrait être due au conservateur nipagine présent dans les placebos, car il est connu pour absorber à des longueurs d'onde similaires malgré que 271 nm ne soit pas son pic principal mais il peut encore montrer une certaine absorption à cette longueur d'onde.

Cette observation est importante car elle suggère que le nipagine présent dans les placebos peut interférer avec les mesures de dosage par UV de l'éconazole. L'absorption du nipagine à la même longueur d'onde que l'éconazole peut fausser les mesures et entraîner des résultats variables et imprécis lors du dosage du principe actif dans les échantillons de crème contenant de l'éconazole.

☞ **La méthode 2 : Dosage par chromatographie haute performance (HPLC).**

a) Résultats de dosage de principe actif.

Vous trouvez ci-dessous les résultats d'analyses obtenue par HPLC pour calculer la teneur Teneur en nitrate d'éconazol.

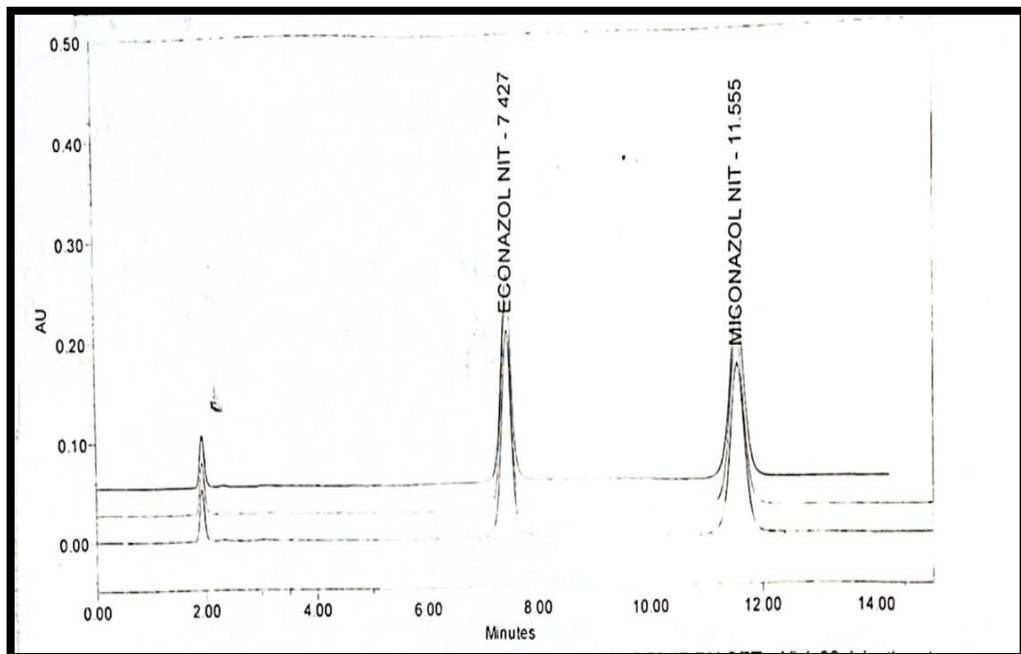


Figure II.3 : Chromatogramme de Dosage de l'Éconazole Nitrate dans la crème PHANAZOL1%.

➤ **Interprétation les résultats.**

Le chromatogramme fourni montre les résultats du dosage de l'éconazole nitrate dans la crème PHANAZOL 1%, avec l'utilisation du miconazole comme standard interne. Voici une analyse détaillée du chromatogramme :

1. Identification des Pics.

- Éconazole Nitrate : Le pic à un temps de rétention de 7.427 minutes correspond à l'éconazole nitrate.
- Miconazole: Le pic à un temps de rétention de 11.555 minutes correspond au miconazole, utilisé comme standard interne.

2. Reproductibilité.

- Le chromatogramme montre trois injections (Injection 1, Injection 2, Injection 3) du même échantillon, avec des temps de rétention très cohérents pour les deux composés.
- Les pics pour chaque injection se superposent presque parfaitement, ce qui indique une excellente reproductibilité de la méthode.

3. Séparation des Pics.

- Les pics d'éconazole nitrate et de miconazole sont bien séparés, sans chevauchement, ce qui est crucial pour une quantification précise.
- La bonne résolution entre les deux pics permet de s'assurer qu'il n'y a pas d'interférence entre les analytes.

4. Forme des Pics.

- Les deux pics sont symétriques et bien définis, indiquant une bonne performance chromatographique.
- L'absence de queue ou d'élargissement significatif des pics suggère que les conditions chromatographiques sont bien optimisées et que la colonne HPLC est en bon état.

5. Aire des Pics.

- Les aires sous les pics peuvent être utilisées pour calculer la concentration d'éconazole nitrate dans l'échantillon en comparant ces valeurs à une courbe d'étalonnage préparée avec des concentrations connues de l'éconazole nitrate.

6. Sensibilité et Limite de Détection.

- Les hauteurs et les aires des pics indiquent une bonne sensibilité de la méthode, capable de détecter et de quantifier précisément les concentrations d'éconazole nitrate et de miconazole.
- Le chromatogramme de dosage de l'éconazole nitrate montre une méthode HPLC robuste et fiable. Les pics de l'éconazole nitrate et du miconazole sont bien séparés, symétriques et consistent entre les injections, ce qui permet une quantification précise du principe actif dans la crème PHANAZOL1%. L'utilisation du miconazole comme standard interne contribue à la précision et à la reproductibilité des résultats, assurant ainsi une méthode analytique de haute qualité pour le dosage de l'éconazole nitrate.

7. Comparaison avec le pic de la solution témoin (STD PHANAZOLE DOSAGE) : (voire l'annexe 2.3) les temps de rétention de témoin et de crème PHANAZOL (principe actif) sont presque les mêmes ce qui explique que le produit fini PHANAZOL 1% contient effectivement l'éconazole nitrates comme un principe actif.

☞ Application.

S ECONAZOLE essais = 2700090

S MECONAZOLE essais = 3507298

S ECONAZOLE standard = 2627633

S MECONAZOLE standard = 3125739

P standard = 0.102

P essais = 0.5

Tpa = 100.37%

D = 1/100

- La Teneur en nitrate d'éconazol (calculer par la formule (5)) trouvé est :

$$T = 99.92 \%$$

b) Résultats de dosage de conservateur « Parahydroxybenzoate de méthyle » par HPLC.

Vous trouvez ci-dessous les résultats d'analyses de conservateur « Parahydroxybenzoate de méthyle ou le Nipagine obtenus par la méthode HPLC.

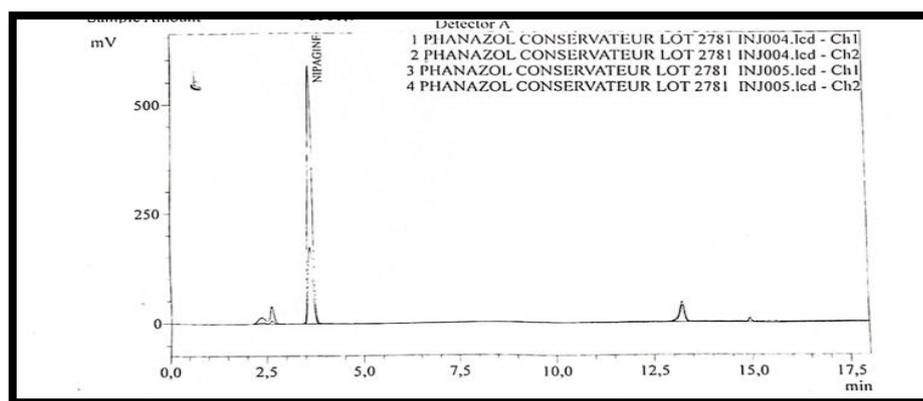


Figure II.4 : Chromatogramme de dosage de conservateur Nipagine dans la crème PHANAZOL 1%.

➤ **Interprétation des résultats.**

Le chromatogramme fourni montre les résultats du dosage de nipagine dans la crème PHANAZOL 1%, Voici une analyse détaillée du chromatogramme :

1. **Échelle des Millivolts (mV):** L'axe vertical représente la réponse du détecteur en millivolts (mV). Chaque pic sur le chromatogramme correspond à une substance détectée dans l'échantillon.
2. **Temps de Réention (Minutes):** L'axe horizontal montre le temps de réention en minutes. Il indique le temps nécessaire pour qu'un composé soit élué de la colonne HPLC et détecté.
3. **Pics Identifiés:**
 - Nipagine (Parabène): Le pic majeur identifié à environ 3 minutes correspond à la nipagine (aussi connue sous le nom de méthylparabène), qui est le conservateur utilisé dans la crème Phanzole.
 - Autres Pics : Il y a quelques autres petits pics avant et après le pic de nipagine, qui peuvent correspondre à des impuretés ou à d'autres composés présents dans l'échantillon.

➤ **Analyse les Résultats.**

1. **Quantification du Conservateur :**
 - Le pic principal de nipagine est bien défini et séparé des autres pics, ce qui permet une quantification précise.
 - La hauteur et la surface du pic sont directement proportionnelles à la concentration de la nipagine dans l'échantillon.

Teneur en conservateur (%) = 0.098 %

Situe clairement dans la plage spécifiée par les normes (0.090 à 0.110) cela signifie que la concentration du conservateur dans l'échantillon est adéquate et respecte les exigences de qualité

2. Répétabilité :

- Les quatre injections (Ch1 et Ch2 pour deux échantillons différents) montrent des pics très similaires pour la nipagine, indiquant une bonne répétabilité et reproductibilité de la méthode HPLC utilisée.

3. Qualité du Chromatogramme:

- La résolution est bonne, et les pics sont bien séparés, ce qui minimise le risque de chevauchement des pics.
- Il n'y a pas de pics significatifs après 5 minutes, indiquant que les autres composés présents dans la crème sont soit en très faible concentration, soit ils ne sont pas détectés dans les conditions de cette analyse HPLC.
- Identique à celle de pic de solution témoin (STD CONSERVATEURE) (voir l'annexe : figure 2.5)

☞ Le chromatogramme HPLC montre que le dosage du conservateur nipagine dans la crème PHANAZOL1% a été effectué avec succès. Le pic correspondant à la nipagine est bien défini à environ 3 minutes de rétention, et les résultats sont cohérents à travers plusieurs injections, ce qui atteste de la fiabilité de la méthode. Cela permet une quantification précise de la concentration de nipagine dans le produit fini.

II.2.1.3. Comparaison entre les deux méthodes analytique UV-visible et HPLC.

La méthode la plus précise dépendrait de plusieurs facteurs, notamment la nature de la substance d'intérêt, la complexité de l'échantillon, et les objectifs de l'analyse.

Le tableau suivant présente les avantages et les limites de chaque méthode analytique pour l'analyse de la crème PHANAZOL1%.

Tableau II.6 : les avantages et les limites de HPLC et UV –vis pour PHANAZOL 1%.

Caractéristique	HPLC	UV-visible
Spécificité	La capacité à séparer efficacement et à réduire les interférences de principe actif econazol et le conservateur nipagine.	Mesure direct de l'absorbance de la lumière par le principe actif econazol et le conservateur nipagine dans la crème à la longueur d'onde 271.
Sensibilité	Peut détecter et quantifier les composants de la crème à des niveaux de traces grâce à des détecteurs sensibles.	La sensibilité limitée pour les composants de la crème à des niveaux de traces.
Résolution	Permet une résolution élevée des pics facilitant la distinction entre l'éconazol et le nipagine proche sur le chromatogramme.	Ne permet pas une résolution élevée, ce qui peut rendre difficile la distinction entre les composés proches L'éconazol et le nipagine.
Temps d'analyse	Relativement long, en raison de la nécessité de préparer les colonnes de séparation et d'optimiser les conditions d'analyse. Cependant, cela peut être justifié si une séparation efficace des composants est nécessaire.	Rapide, mesure direct de l'absorption.
Coût	Elevé, en raison du matériel et des réactifs.	Relativement faible.
Facilité d'utilisation	Nécessite une expertise technique pour optimisation des conditions de séparation.	Plus simple et moins couteuse en termes d'équipement et de formation

➤ **Interprétation**

Ce tableau montre que L'HPLC offre une sensibilité, une sélectivité et une précision supérieures, cependant elle est couteuse et longue et complexité d'utilisation peut être justifiée par la séparation efficace des composants de crème PHANAZOL1%.

La méthode UV-visible, quant à elle, est plus rapide et moins coûteuse et plus simple, mais elle est moins sensible et élective et nos spécifiques, ce qui peut limiter son efficacité pour l'analyse de la crème PHANAZOL 1%.

Conclusion.

On conclure qu'il est donc recommandé de privilégier les résultats obtenus par HPLC pour quantifier la teneur en substance d'intérêt, car cette méthode offre une meilleure spécificité et sélectivité envers la substance cible, en tenant compte des interférences potentielles d'autres composés présents dans l'échantillon.

II.2 .2. Résultats de contrôle microbiologique du produit fini PHANAZOL

Les résultats de contrôle microbiologique sont résumés dans le tableau suivant,

Tableau II.7 : Résultats d'analyses microbiologiques de PHANAZOL 1%

Test	Lecture	Normes	Conformité
DGTA (UFC/g)	<10 UFC/g	≤ 100 UFC/g	Conforme
DLMT (UFC/g)	< 10UFC/g	≤ 10UFC/g	Conforme
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	Conforme
<i>Pseudomona-saeruginosa</i>	Absence	Absence	Conforme

➤ Interprétation des résultats.

D'après les résultats d'analyse microbiologique obtenus on remarque que les résultats de dénombrements de DLMT et DGTA (<10 UFC/g) sont conformes aux normes, ainsi que l'absence totale des germes pathogènes recherché (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomona saeruginosa*).

Le produit fini est donc conforme et présente une très bonne qualité microbiologique et répond aux normes. Et peut être envoyé pour le conditionnement.

II.3. Résultats de rendement (conditionnement).

Les résultats suivants présents le rendement de conditionnement de PHANAZOL 1%.

☞ **Calcule :**

$$95\% \leq \frac{9936}{10000} \times 100 \leq 105\%$$

$$\text{Alors : } 95\% \leq 99.36\% \leq 105\%$$

➤ **Interprétation de résultat.**

D'après les résultats, On conclut que le rendement de conditionnement de PHANAZOL 1% est de 99.36%, donc il appartient à la norme de pharmacopée, ce qui montre que le LOT a bien été suivi au cours du conditionnement.

CONCLUSION GENERALE.

Au cours de ce stage, l'étude effectuée a permis de suivre le processus de préparation de la crème antifongique PHANAZOL 1%, fabriquée par l'industrie pharmaceutique SAIDAL de DAR EL BEIDA.

Diverses analyses physico-chimiques ont été réalisées sur les matières premières (principe actif, excipients) ainsi que sur le produit fini. Deux méthodes analytiques, HPLC et UV-VS, ont été utilisées pour confirmer la validité de la méthode la plus précise et garantir la conformité du médicament aux normes de la pharmacopée européenne, assurant ainsi sa qualité et son efficacité thérapeutique.

Les résultats obtenus par ces deux méthodes ont été soigneusement analysés et comparés, révélant que chaque méthode présente ses avantages et ses limites.

L'UV est rapide et abordable pour mesurer la concentration du principe actif, mais il n'est pas très fiable. D'un autre côté, la HPLC offre une meilleure sensibilité et sélectivité, permettant une analyse plus précise même en présence d'impuretés mais elle peut être coûteuse et prendre plus de temps.

En conclusion, après avoir validé la conformité de méthode HPLC pour évaluer la qualité du PHANAZOL 1%, cette étude approfondie confirme également sa capacité à fournir des données fiables et significatives, renforçant ainsi la confiance dans la qualité et l'efficacité thérapeutique du médicament

En perspective, il serait intéressant de :

- Remplacement du conservateur nipagine, qui est absorbé simultanément avec le principe actif Econazol, par des conservateurs ayant des propriétés d'absorption UV à longueur d'onde différentes de celles du principe actif
- Choisir une nouvelle longueur d'onde, si la longueur d'onde maximale 271 nm présente des interférences, donc chercher une autre longueur d'onde où l'éconazol nitrate a une forte absorbance, vérifier les spectres UV pour identifier d'autres maxima d'absorbance par exemple à 265, 280 nm.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Site officiel du groupe SAIDAL, [En ligne] <https://www.saidalgroup.dz> (Consulté le 15 mars 2024)
2. Ounissi, A. (2014). « Etude de l'évolution des ventes prévisionnelles des médicaments de l'entreprise SAIDAL ». Université Abou-Bekr Belkaid Tlemcen. Mémoire du Master, pp. 16-21.
3. Gherrarba, H., & Imoudane, Z. (2015). « Etude comparative de deux médicaments, Motilium et Nauheim ». [éd.] Mémoire de master. Khemis Miliana. : Université Djilali Bounaâma, pp. 1-37.
4. [En ligne] <https://fr.scribd.com/document/423092152/cv>.(Consulté le 18 mars 2024)
5. Noura, A.AH., Razika, A., & Malia, B. (2016). "Contrôle de qualité d'un médicament non obligatoirement stérile : cas de comprimé <HISTAGAN>". Mémoire de fin d'étude, Université M'hamedBougara de Boumerdes.
6. Dupasquier, M.-L., Nazari, A., Fontaine-Vive, F., Fernandez, X., & Golebiowski, J. (2017). « Formulation cosmétique, les émulsions - 1.1. Qu'est-ce qu'une émulsion ». CDIEC, Université de Nice Sophia Antipolis. [En ligne] https://ressources.unisciel.fr/formulation_cosmetique/co/1-1.html.(Consulté le 16 mars 2024)
7. « les émulsion pharmaceutique 2021.pdf ». [En ligne] http://pharmacie.univbatna2.dz/sites/default/files/pharmacie/files/les_emulsion_pharmaceutique_2021.pdf.(Consulté le 9 mars 2024)
8. Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N., & Garcia-Celma, M.J. (2005). « Nano-emulsions ». Curr. Opin. Colloid Interface Sci, vol. 10, n° 3, p. 102-110. doi:10.1016/j.cocis.2005.06.004.
9. Saoucha, B., Lakhenache, H., & Somia. (2021). « La préparation des formes pharmaceutiques destinée à l'application sur la peau à bases d'une plante médicinale ». Thesis, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA. [En ligne] <http://localhost:8080/xmlui/handle/123456789/24754>.(Consulté le 8 mars 2024)
10. Soumia & Chadli, S. (2021). « Formulation et caractérisation d'émulsion huile/eau d'une mayonnaise à base d'huile de fruit de PistaciaLentiscus ». Thesis, UNIVERSITE AHMED DRAIA- ADRAR. [En ligne] <https://dspace.univ-adrar.edu.dz/jspui/handle/123456789/5582>. (Consulté le 8 mars 2024)
11. Nasri, F., Elhamdi, H., & Chadli, S. (2021). « Préparation et caractérisation physico-chimiques d'une émulsion O/W à base d'huile de grains de millet ». PhD Thesis, UNIVERSITE AHMED DRAIA-ADRAR.
12. « Lois physiques », hydrophobie. [En ligne] <https://tpe3hydrophobie.wixsite.com/hydrophobie/lois-physique>.(Consulté le 15 mars 2024)

- 13.** « Chapitre-3-Dans-la-cuisine.pdf ».[En ligne]
<http://ekldata.com/3LTpxaF3h|z26UTVdmXgSUxQiA/Chapitre-3-Dans-la-cuisine.pdf>.
(Consulté le 15 mars 2024)
- 14.** Derraset, M.I., & Bechlaghem, M. (2017). « Essais de mise au point de formulation d'une crème cosmétique hydratante anti âge ». Thesis.[En ligne]
<http://dspace.univtlemcen.dz/handle/112/dspace.univtlemcen.dz/handle/112/10287>.(Consulté le 7 mars 2023)
- 15.** Keddache, S., & Bakhelal, F. (2018). « Formulation, optimisation et caractérisation d'une crème à base du *CarthamuscaeruleusL* ». Thesis, UMMTO. [En ligne]
<https://www.ummtto.dz/dspace/handle/ummtto/2354>.(Consulté le 15 mars 2024)
- 16.** Hansen, S., Pedersen-Bjergaard, S., & Rasmussen, K. (2012). Introduction to pharmaceuticalchemicalanalysis. Chichester, West Sussex: John Wiley & Sons Inc. C. [En ligne] <http://site.ebrary.com/id/10506275>.(Consulté le 15 mars 2024)
- 17.** Skoog, al. (2007). Principles of Instrumental Analysis, 6th ed., Thomson Brooks/Cole.
- 18.** Andrew, J., Vitha, R., & Mark, F. (2011). chromatographique selectivity triangles, journal of chromatography A, vol. 1218, n.4,p.559-560.
- 19.** Rouessac, F., & Cruché, D. (2001). analyse chimique, méthode et technique instrumentales moderne me édition Dunod, paris. (Consulté le 15 mars 2024).
- 20.** Morrison, B. (2014). Chromatography .Shimadzu's .LC world talk newsletter.
- 21.** Maye, P. (2003). "Les infrarouges en électronique." Revue de l'Électronique, Volume 12, Numéro 3, p 45-58
- 22.** Roggo, Y. (2010). Spectroscopie proche infrarouge pour l'industrie agroalimentaire: Détermination de la qualité de la betterave sucrière par spectroscopie proche. Thèse de doctorat, Université de Lausanne, Suisse.
- 23.** Barkat, A., et al. (2011). Basics of pharmaceutical emulsions: A review. Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences, 3(3), p 369-374



ANNEXES

ANNEXE 1



Figure 1.1 : Cuve de 200kg



Figure 1.2 : Cuve FRYMA



Figure 1.3 : Préparation de placebo



Figure1.4 : placebo PHANAZOL1%

ANNEXE 2

PA. (Analyse MP)

 <p>Imprimé Bulletin d'analyse Matière première</p>	<p>Référence : IMP01(PR.SP-DEB.LCQ.001) Version : 05 Page : 1 sur 2</p>	<p>Code : 11000089 N° Lot : 230411</p>
<p>Designation : ECONAZOLE NITRATE</p>		
<p>Fournisseur : EST PHARMACEUTICAL</p>	<p>N°réception : 0</p>	<p>Date réception : 13/11/2023</p>
<p>Date fabrication : 11/04/2023</p>	<p>Date péremption : 11/04/2026</p>	<p>N° contrôle : MP23L028</p>
<p>Date d'analyse : 03/04/2024</p>	<p>Date réanalyse : <i>03-04-26</i></p>	<p>Quantité totale reçue : 400.0 KILOGRAMME</p>
<p>Type de contenant : SAC DE 25 KG</p>	<p>Nombre de contenant : 16</p>	<p>Quantité prélevé : 30 g</p>
<p>Référence bibliographique : Pharmacopée Européenne 2020 (10.0)</p>		

Paramètres	Normes	Resultats
Aspect	Poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche	Conforme
Solubilité		
Eau	Très peu soluble	Conforme
Méthanol	Soluble	Conforme
Chlorure de méthylène	Assez soluble	Conforme
Ethanol à 96%	Peu soluble	Conforme
Point de fusion (°C)	Environ 165 avec décomposition	164.5
IDENTIFICATION		
Spectrophotométrie d'absorption dans l'IR.	Identique au spectre de référence SCR	Conforme
Essai		
Substance apparentées: par HPLC		
Impuretés A,B,C	Pour chaque impureté, au maximum la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,2%)	A 0.0062/ B 0.024/ C 0.0063
Impuretés non spécifiées	Pour chaque impureté, au maximum 0,5 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,10%)	00
Total	Au maximum 1.5 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0,3%)	00
Perte à la dessiccation (%)	< = 0,5	0
Cendres sulfuriques (%)	< = 0,1	0
DOSAGE: par Potentiométrie		
Teneur en C ₁₈ H ₁₆ CL ₃ N ₃ O ₄ calculée par rapport à la surface desséchée (%)	99.0 à 101.0	99.37

CONFORME

Figure 2.1 : bulletin d'analyse de principe actif (matière première)

Bulletin d'analyse
PRODUIT FINI

Version :
Page : 1 sur 2

Code : 342241 Désignation : PHANAZOL® 1% Tube de 30 g Forme : CREME DERMIQUE
N° Lot : 2781 DCI : ECONAZOLE sous forme de nitrate

Date fabrication : 13/02/2024 Date péremption : 02/2027 N° BA : PF24B052
Date d'analyse : 19/02/2024 Référence bibliographique : Méthode Interne
Pharmacopée Européenne 2020 (10.0)
Pharmacopée Britannique 2020 (9.0)

Paramètres	Normes	Résultats
Caractère		
Aspect	crème onctueuse blanche	Conforme
Identification		
Par spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet - visible (UV)	L'absorbance de la solution résultante dans la région spectrale 240 à 350 nm présente un maximum à 265, 271 et 280 nm. Le rapport de l'absorbance au maximum à 271 nm et à 280 nm est de 1,55 à 1,77	Conforme
Par HPLC	Le pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution (3) présente le même temps de rétention que celui du pic de l'éconazole obtenu avec la solution (4).	Conforme
Essais		
Masse moyenne (g)	27 à 33	30.69
pH	2,8 à 4,2	2.91
Dosage du principe actif par HPLC (%)		
Teneur en éconazole nitrate (%)	90,00 à 110,00	99.92
Dosage du conservateur par HPLC (%)		
Parahydroxybenzoate de méthyle	0,090 à 0,110	0.098
Dosage de l'antioxydant par HPLC (%)		
Butylhydroxytoluène	0.009 à 0.011	0.011
contamination microbiologique		
DGAT (UFC/g)	< = 100	<10
DLMT (UFC/g)	< = 10	<10
Pseudomonas aeruginosa(/g)	Absence	Absence
Staphylococcus aureus(/g)	Absence	Absence

Figure 2.2 : bulletin d'analyse de produit fini

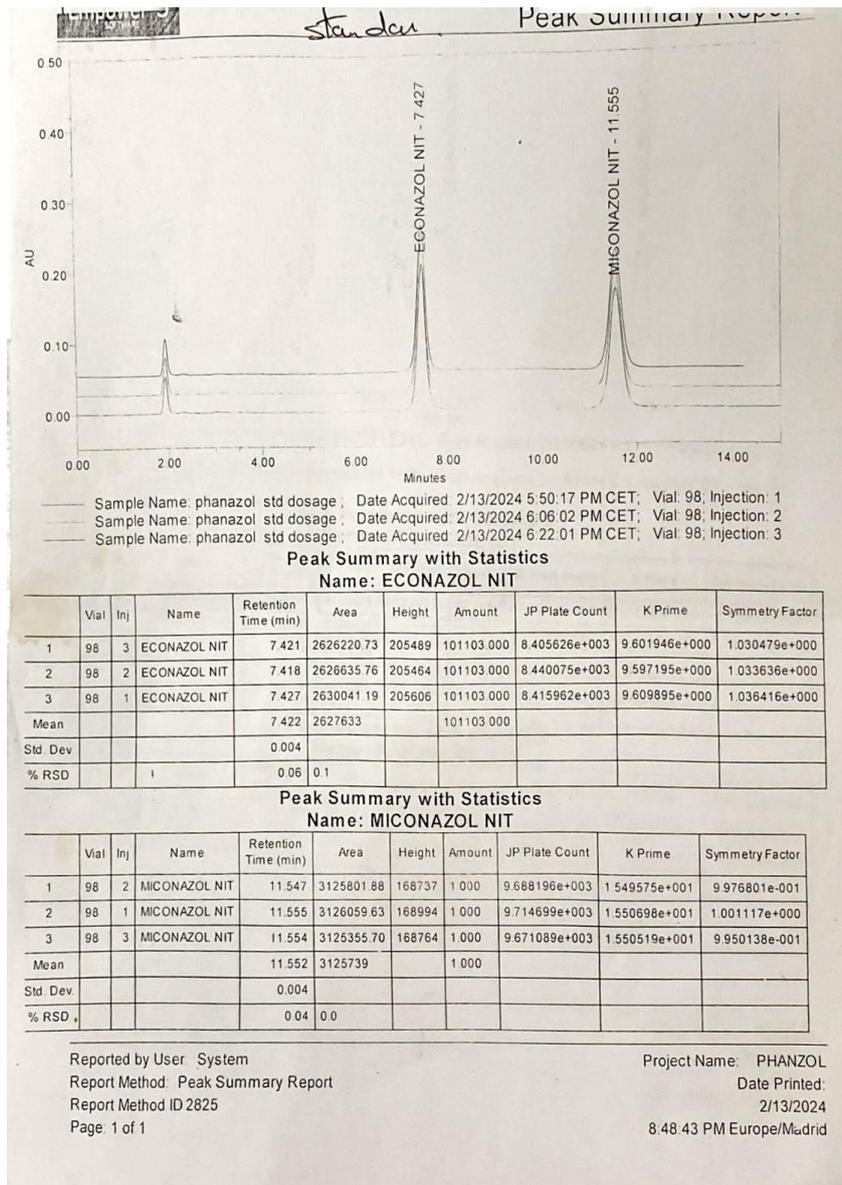


Figure 2.3 : chromatogramme standard de dosage

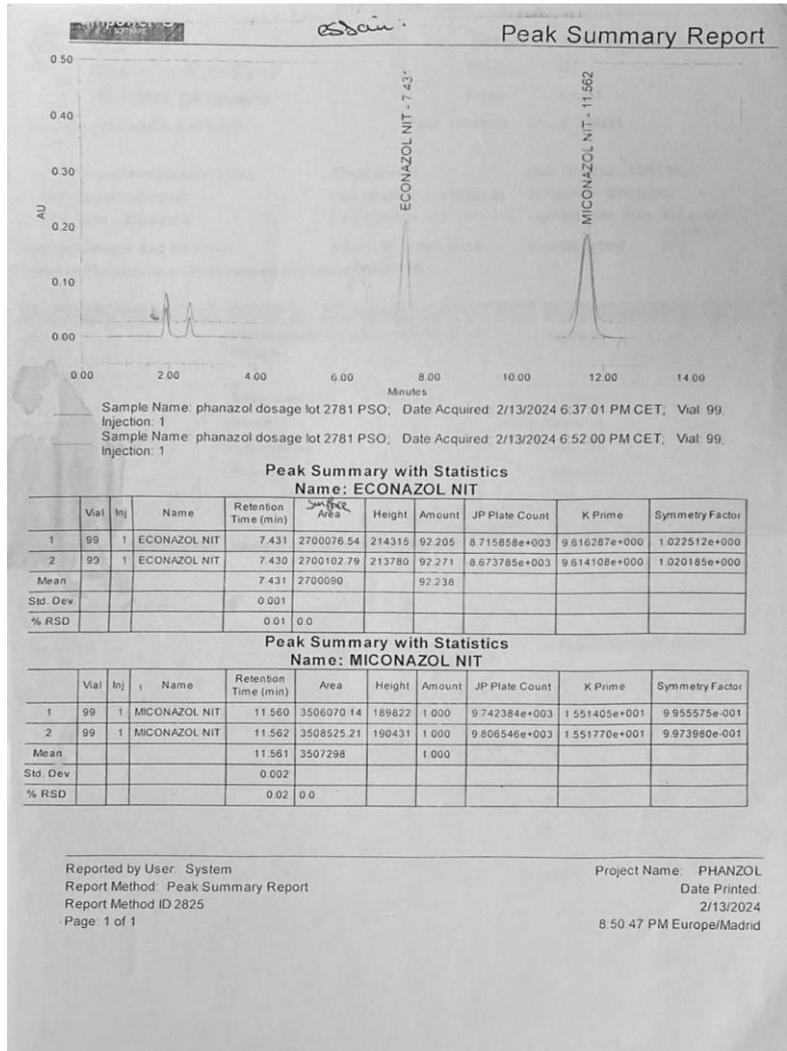


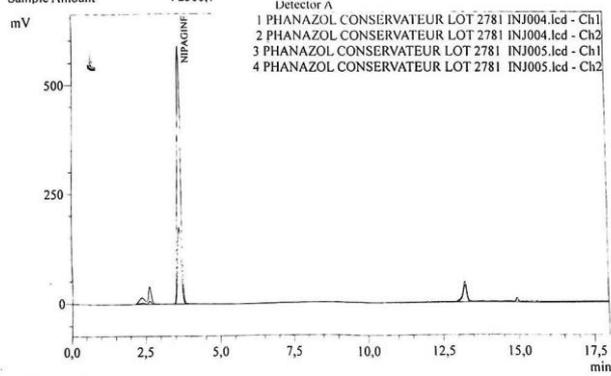
Figure 2.4 : chromatogramme d'essais de dosage

LABORATOIRE CONTROLE QUALITE SITE DE PRODUCTION DAR EL BEIDA

SHIMADZU
LabSolutions

REPORT ANALYSIS

Sample Information
 Sample Name : PHANAZOL CONSERVATEUR LOT 2781 INJ004
 Data File : PHANAZOL CONSERVATEUR LOT 2781 INJ004.lcd
 Tray# : 2
 Vial# : 13
 Date Acquired : 08/08/2254 03:51:46
 Date Processed : 08/08/2254 14:19:42
 Time Acquired : 03:51:46
 Dilution Factor : 250,6
 Sample Amount : 2500,1



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: NIPAGINE

Title	Ret. Time	Area	Conc.	Vial#
PHANAZOL CONSERVATEUR LC	3,597	4696226	0,098	13
PHANAZOL CONSERVATEUR LC	3,596	4724350	0,098	13
Average	3,597	4710288	0,098	
%RSD	0,026	0,422	0,422	

Tailing Factor	Theoretical Plates/meter(USP)
1,166	28130
1,180	28327
1,173	28229
0,840	0,491

Analyste :

Chef departement physico chimie :

Figure 2.5 : Chromatogramme de dosage de conservateur Nipagine

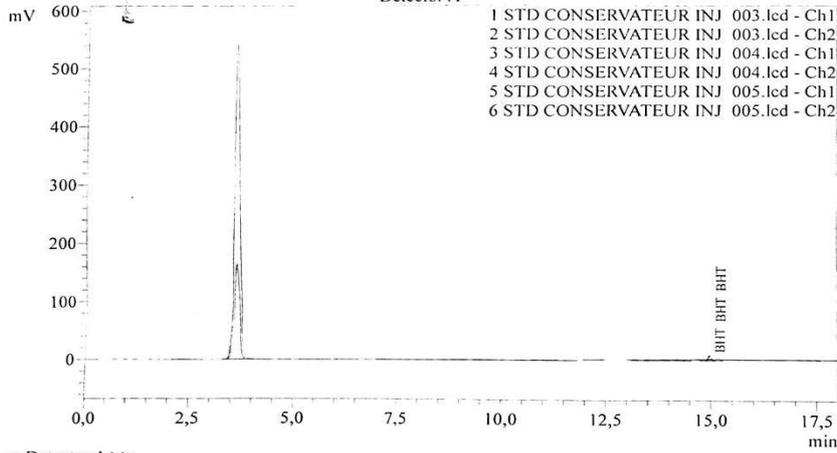
LABORATOIRE CONTROLE QUALITE SITE DE PRODUCTION DAR EL BEIDA

LabSolutions

REPORT ANALYSIS

Sample Information
 Sample Name : STD CONSERVATEUR INJ 002
 Data File : STD CONSERVATEUR INJ 003.lcd
 Tray# : 2
 Vial# : 11
 Date Acquired : 08/08/2254 01:19:52
 Date Processed : 08/08/2254 13:50:35
 Time Acquired : 01:19:52
 Dilution Factor : 1
 Sample Amount : 1

Summary(Compound)
 Detector A



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: BHT

Title	Ret. Time	Area	Conc.	Vial#
STD CONSERVATEUR INJ 003.lcd	14.987	52659	1,000	11
STD CONSERVATEUR INJ 004.lcd	14.973	52872	1,002	11
STD CONSERVATEUR INJ 005.lcd	14.955	54770	1,025	11
Average	14.971	53434	1,009	
%RSD	0,107	2,174	1,376	

Tailing Factor	Theoretical Plates/meter(USP)
1,176	1090096
1,232	1066083
1,353	1046263
1,253	1067481
7,210	2,056

Analyste :

Chef departement physico chimie :

Figure 2.6 : Chromatogramme standard de dosage de conservateur Nipagine