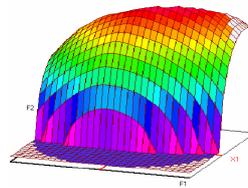




Année Universitaire : 2010-2011



Master Sciences et Techniques CAC Agiq
**Chimométrie et Analyse Chimique : Application à la gestion industrielle
de la qualité**

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

*Validation d'une méthode chromatographique du dosage de
prédnisolone métrasulfobenzoate sodique dans SCORT 20 mg
comprimés effervescents*

Présenté par:

Meriem KAMIL

Encadré par:

- M^{me} A.KANDRI de la FST Fès
- M^r A.ESAAIDI de MC PHARMA

Soutenu Le 21 Juin 2011 devant le jury composé de:

- M^{me}. A. KANDRI
- M^r. A. ESSAIDI
- M^r. H. BALI
- M^r. B. IHSANE
- M^r. A. BENTAMA

Stage effectué à: MC PHARMA cooper pharmaceuticals group



Master ST CAC Agiq

Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

Nom et prénom: Meriem KAMIL

Année Universitaire : 2010/2011

Titre: VALIDATION DE LA METHODE DE DETERMINATION DES PRODUITS DE DEGRADATION DANS SCORT 20mg générique de PREDNISOLONE comprimés effervescents

Résumé

Dans le cadre de l'optimisation et de la mise à niveau des méthodes utilisées, nous avons réalisé le développement et la validation analytique de la méthode de détermination des produits de dégradation de SCORT 20mg générique de PREDNISOLONE comprimés effervescents par HPLC à détecteur diodes. Après une partie de recherche et développement qui a permis de trouver la méthode fiable et capable de déterminer tous les produits de dégradation de SCORT ; l'étude statistique a permis de déclarer par preuve documentée et en conformité avec les principes des bonnes pratiques de fabrication ; que cette méthode est valide, permet réellement d'atteindre de manière reproductible les résultats escomptés, et peut être utilisée comme une méthode de routine au sein du laboratoire interne de la société MC PHARMA. Ainsi, le dossier de demande d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) du médicament en question peut être constitué en vue de sa commercialisation.

Mots clés: Validation analytique, recherche et développement, produits de dégradation, HPLC, AMM.



INTRODUCTION

L'industrie pharmaceutique est un secteur industriel chargé de la conception, de la fabrication, du conditionnement et de la commercialisation de spécialités pharmaceutiques, pour la prévention et le traitement des maladies. Dans le but de promouvoir un produit de grande compétitivité, le laboratoire de MC PHARMA accorde actuellement une nette importance à la validation, à l'évaluation de ses méthodes d'analyses et à des recherches fortement ciblées. Ceci permettra en effet d'adapter une démarche hautement qualifiée visant ainsi à assurer un produit de qualité incomparable prêt à envahir le marché.

L'une des principales caractéristiques qui distingue les médicaments des autres produits de consommation en matière de sécurité, est l'exigence d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) et d'enregistrement préalable. Avant qu'un médicament ne puisse être introduit sur un marché, il doit être évalué et approuvé par les autorités sanitaires, il s'agit d'un principe bien établi dans le monde entier. Dans cette optique, il est indispensable que les gouvernements exercent un contrôle en accordant ou en refusant à ces sociétés l'autorisation de commercialiser leurs produits.

C'est dans cette perspective que nous essayons, à travers ce stage de fin d'étude de quatre mois, de valider la méthode de détermination des produits de dégradation de prédnisolone métasulfobenzoatesodique par HPLC dans la spécialité SCORT 20mg générique de PREDNISOLONE comprimés effervescents en appliquant les normes en vigueur. Le but est de confirmer la mise en œuvre de cette méthode par le laboratoire et de donner des preuves qu'elle est maîtrisée en interne. Cette méthode va être validée de manière à ce qu'elle soit apte à l'emploi comme une méthode de routine.

Ce travail, réalisé à la société MC PHARMA nous a permis de :

- Maîtriser les différentes méthodes liées à l'HPLC
- Rassembler les données afin de faire une étude statistique concernant les différents critères de validation en utilisant les théories acquises pendant les deux cours de « Statistiques Appliquées » et « Validation Analytique » au cours des études du Master CAC-AGIQ
- Rédiger le rapport de validation analytique et le soumettre au ministère de la santé pour approbation

Ce travail est scindé en deux volets principaux dont:

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique sur l'industrie pharmaceutique, la validation analytique, ainsi qu'un aperçu sur les méthodes statistiques applicables à la validation analytique
- La seconde partie illustre les tests effectués et le traitement statistique des résultats



1. Présentation de COOPER Pharmaceuticals Group

Fiche technique de COOPER PHARMA

- Fondé en : 1933
- Statut juridique : Société anonyme
- Adresse : Siège 41, Rue Mohamed Diouri – Casablanca
- Capital social : 6.4 millions de dirhams
- Chiffre d'affaires : 1282 millions de dirhams
- Chiffre d'affaire avec filiales : 1915 millions de dirhams
- Fonds propres : 21 millions de dirhams
- Nombre de produits fabriqués sous licence : 100
- Nombre de produits importés sous licence : 74
- Nombre de produits propres : 68 [1]

L'évolution de COOPER MAROC est constante depuis sa création, les grandes dates de celle-ci sont les suivantes :



Figure 1: L'évolution de COOPER PHARMA

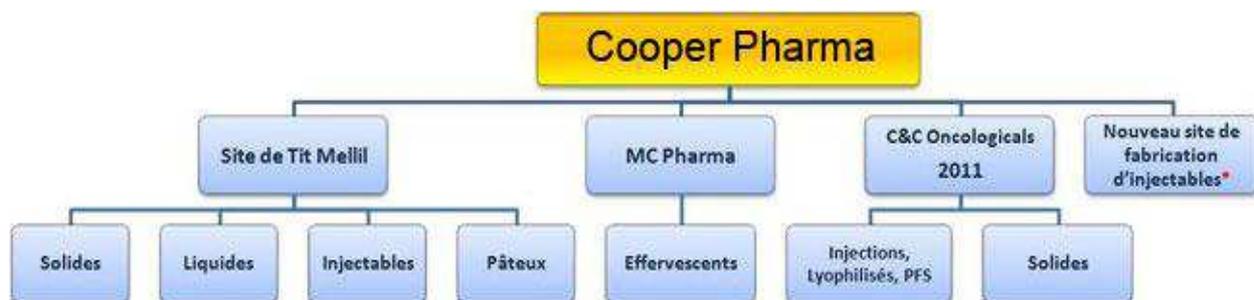


Figure 2: Organigramme de COOPER PHARMA

2. Présentation de MC PHARMA Cooper Pharmaceuticals Group

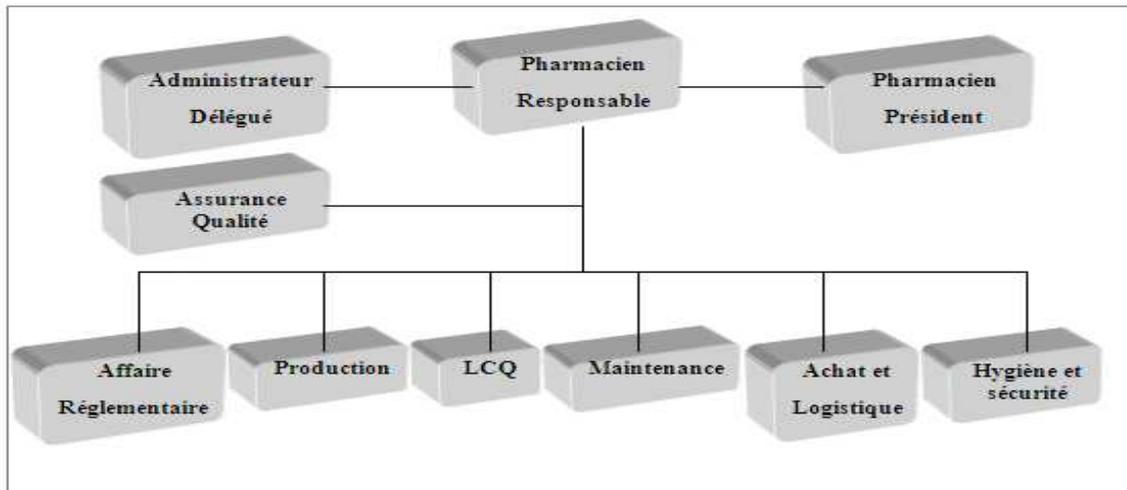


L'industrie pharmaceutique MC PHARMA Cooper Pharmaceutical Group est une filiale du groupe COOPER MAROC, chargée de la fabrication des médicaments plus précisément les comprimés effervescents. Ce laboratoire pharmaceutique est en pleine expansion, à la pointe de la technologie et de l'innovation en industrie pharmaceutique. [1]



Fiche technique de MC PHARMA

- Dénomination : MC PHARMA
- Capital social : 21 000 000 DHS
- Date de création : 2004
- Siège social : Lotissement Bachkou, lot 10, Rue 7- Casablanca
- Téléphone : +212 (522) 85 35 18 ; +212 (522) 85 39 74
- Fax : +212 (522) 81 50 52 [1]



Fi

Figure 3: Gestion au sein de MC PHARMA

3. Présentation du laboratoire de contrôle qualité

La qualité des médicaments est évidemment de la plus haute importance du point de vue de la santé publique. Par ailleurs, le contrôle de la qualité d'un médicament constitue le premier indicateur, relativement facile à établir, que les caractéristiques du produit peuvent avoir évolué de manière à en avoir peut-être altéré aussi l'innocuité et l'efficacité. C'est pour ceci que dans toute industrie pharmaceutique de production, il y a un laboratoire d'analyse.

Mon stage de fin d'étude s'est déroulé dans le département de contrôle de qualité de la société MC PHARMA qui est considéré comme le cœur de cette société, et dont le rôle est de contrôler la qualité de tous les ingrédients achetés (matières premières, ingrédients liants pour fabrication des comprimés, etc....) et fabriqués par la compagnie.

Les missions du laboratoire de contrôle de qualité :

Le laboratoire de contrôle qualité MC PHARMA constitue un service opérationnel essentiel, pour au moins quatre raisons :

- Il vérifie de manière indépendante, la conformité des matières premières, des articles de conditionnement et des produits finis aux spécifications, et il produit des résultats d'analyses et de contrôles indispensables à leur utilisation ultérieure
- Il intervient à tous les stades de production, depuis le contrôle des matières premières, des produits en cours, des produits en vrac jusqu'aux produits finis



-
- Il est totalement intégré à la dynamique et aux contraintes du planning de production
 - Il contrôle la qualité des fluides utilisés en production selon les spécifications BPF

Ainsi, le personnel du laboratoire de Contrôle Qualité contribue à la production de médicaments de qualité par le respect des « Bonnes Pratiques de Fabrication ». [2]



Chapitre I : GENERALITES

L'industrie pharmaceutique est un secteur d'activité dynamique et en plein essor. Sa particularité réside dans le fait qu'elle fabrique des médicaments qui seront administrés à l'homme à des fins thérapeutiques, mais aussi à des fins curatives ou préventives. Consommer le médicament n'est pas le but, mais un moyen pour rétablir ou maintenir un état de santé affecté par une maladie ou par le vieillissement.

1. L'industrie pharmaceutique Marocaine

Le marché pharmaceutique marocain est animé autant par les principaux acteurs du marché du médicament dans le monde que par des sociétés nationales. Cette diversité, matérialisée par la présence de 35 sites de production, permet d'offrir toutes les gammes thérapeutiques. Par ailleurs, le secteur a produit plus de 259 millions d'unités en 2008, permettant de couvrir, dans la régularité et la continuité, près de 70 % des besoins locaux en médicaments.

Actuellement, le secteur pharmaceutique exporte en moyenne 8 à 10 % de sa production vers des pays européens, arabes, asiatiques ou encore africains. Ces exportations pourraient enregistrer une progression plus forte.

Il est certain que l'export demeure un axe stratégique à consolider, d'autant plus que notre pays jouit d'une situation privilégiée, à la croisée de plusieurs continents.

De l'avis de tous les observateurs, aussi bien nationaux qu'internationaux, l'industrie pharmaceutique marocaine est un pôle de croissance en raison des technologies acquises, de son savoir-faire désormais reconnu par les instances internationales et des performances qu'elle réalise tant au niveau des quantités produites que de la qualité des médicaments.

Ainsi, les termes performance, qualité, technicité, savoir-faire, compétence, investissement, éthique reviennent toujours pour qualifier notre industrie. [3]

2. Le médicament

Le médicament dérive du mot latin « Medicamentum » qui veut dire « remède »

Selon le code de la santé publique le médicament est défini comme suit :

« Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir ou permettant d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger, ou modifier les fonctions organiques ». [4]

Il existe trois types de médicaments:

- Le médicament spécialisé: préparé à l'avance et conditionné pour la vente en pharmacie. Il est soumis à la procédure d'Autorisation de Mise sur le Marché
- Le médicament officinal: désigne certains produits préparés à l'avance mais vendus au détail (teinture d'iode, alcool camphré,...)
- Le médicament magistral: préparé extemporanément par le pharmacien selon la formule détaillée écrite par le médecin (essentiellement utilisé en dermatologie).

2.1. La Composition d'un médicament



Un médicament est constitué de principe actif, excipient, et parfois des additifs.

▪ **Principe actif**

C'est une substance pharmacologiquement active au niveau de l'organisme, établie à l'origine des indications thérapeutiques. Son dosage est établi en fonction de la puissance du patient (enfant, adulte) la plupart du temps, en très faible proportion dans le médicament par rapport aux excipients et additifs. [5]



▪ **Excipient**

C'est une substance inerte au plan thérapeutique, permettant la préparation du médicament. L'excipient a pour fonction d'améliorer l'aspect ou le goût, d'assurer la conservation, de faciliter la mise en forme et l'administration du médicament. Il sert aussi à acheminer la substance active vers son site d'action et à contrôler son absorption par l'organisme. L'excipient devrait être bien toléré. Les excipients les plus courants sont l'amidon, le sucre, la gélatine, les graisses, l'eau, l'alcool ...

L'ensemble principe (s) actif (s) et excipients, formulés et préparés à l'avance selon des normes internationales strictes « les Bonnes Pratiques de Fabrication » constituent une spécialité dotée d'une dénomination commerciale appartenant au laboratoire fabricant. [5]

2.2. Définition des termes liés aux médicaments

Il y a plusieurs termes qui sont en relation directe avec les médicaments, comme :

▪ **Spécialité Pharmaceutique**

Correspond selon le code de la santé publique à un médicament préparé à l'avance, dosé au poids médicinal présenté sous un conditionnement particulier, et caractérisé par une dénomination spéciale portant sa composition, le nom et l'adresse du fabricant. [4]

▪ **Les impuretés**

Dans une substance pour usage pharmaceutique, l'impureté est considérée comme tout composant autre que l'entité chimique définie comme étant la substance.

Les impuretés apparaissent pendant la synthèse du principe actif ; elles peuvent comprendre les produits de dégradation, de synthèse, stéréochimique, des produits de réaction secondaires, etc. Elles peuvent aussi être générées pendant l'entreposage d'un nouveau produit. Elles devraient être identifiées, qualifiées et étudiées sur le plan toxicologique. [6]

▪ **Les substances chimiques de référence SCR**

Les SCR sont des étalons de référence nécessaires pour réaliser un contrôle adéquat de la qualité des substances à usage pharmaceutique et des préparations.

Ces substances font partie intégrante de la monographie. Toute substance de référence constitue la norme officielle qui fait autorité en cas de doute ou de litige.

Les SCR sont préparées selon des critères définis dans la Pharmacopée Européenne. Elles sont préparées, contrôlées et distribuées par la Direction des Laboratoires et des Contrôles de l'Afssaps (site de Montpellier/Vendargues).

Les substances de référence sont utilisées pour l'identification, le contrôle de la pureté et /ou le dosage des substances à usage pharmaceutique et des préparations pharmaceutiques. Ce sont des lots spécialement sélectionnés et vérifiés, appropriés à l'usage prescrit dans les monographies de la Pharmacopée et leur utilisation pour toute autre détermination relève de la responsabilité de l'utilisateur. [6]

2.3. Le médicament générique

Définition marocaine :

«La spécialité générique d'une spécialité de référence qui est considérée comme une spécialité qui a la même composition qualitative et quantitative en principe actif, et la même forme pharmaceutique que la spécialité de référence, et dont la bioéquivalence avec cette dernière a été démontrée par des études appropriées de biodisponibilité. La spécialité de référence et la ou les spécialités qui en sont générique(s) constituent un groupe générique». [5]



Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, les médicaments génériques sont « des produits dont l'exploitation ne fait l'objet d'aucun brevet soit qu'ils soient tombés dans le domaine public soit qu'aucun brevet n'a jamais été déposé ».

Le « médicament générique » est défini comme la copie d'un médicament innovant dont la production et la commercialisation ont été rendues possibles par l'expiration de son brevet de propriété industrielle.

Celui-ci assure l'exclusivité de la commercialisation du « Princeps » pendant 20 ans et permet au laboratoire « inventeur » d'une nouvelle molécule, d'amortir les coûts de recherche et de développement.

Les médicaments génériques sont des copies de médicaments princeps dans le domaine public, contenant la même quantité de principe actif et présentés sous la même forme pharmaceutique.

Ces médicaments doivent être des équivalents thérapeutiques aux produits princeps et sont de ce fait interchangeables. Ils présentent en outre un avantage économique.

Le générique coûte moins cher, pas parce qu'il est de moindre qualité, mais parce qu'il n'a pas à supporter les frais de recherche et développement. Car la structure de la molécule est déjà connue, son efficacité et sa toxicité sont déjà prouvées par des études cliniques réalisées sur l'innovateur. [7]

2.4. Intérêts d'un médicament générique

- Economique, c'est le principale avantage des génériques vu leur prix moins cher que les médicaments de marque et sont susceptibles de faire réaliser de substantielles économies à l'assurance maladie.
- Accessibilité financière pour la population.
- Outil permettant la viabilité, l'efficacité et la réussite de la couverture médicale de base en cours dans notre pays.
- L'impératif de sécurité d'approvisionnement pour que le Maroc soit indépendant de l'étranger vis-à-vis du médicament.
- Produit de rechange en cas de rupture des médicaments équivalents.

2.5. Qualité d'un médicament générique

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

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

Les deux premiers critères sont mis en évidence par des contrôles physicochimiques, donc facile à mettre en évidence.

La bioéquivalence se rapporte indirectement à la notion de l'efficacité, c'est l'équivalence des biodisponibilités, on entend par cette dernière « la vitesse et l'intensité de l'absorption dans l'organisme du principe actif ou de sa fraction thérapeutique destiné à devenir disponible au niveau des sites d'action ». [8]

Nous considérons ici les médicaments génériques comme des copies de médicaments de référence, copies dont l'Agence Européenne du médicament garantit l'équivalence thérapeutique, la qualité et la sécurité. Dans cette perspective, les effets néfastes ou l'efficacité insuffisante des génériques ressentis par les usagers, comparativement aux médicaments princeps, sont considérés comme des « effets placebos négatifs » et non comme des réalités objectives. Néanmoins, eu égard aux appels à la vigilance lors de la substitution dans certaines classes médicamenteuses ou dans certaines catégories de population particulièrement fragiles pour des questions d'intervalle de confiance des bioéquivalences et biodisponibilités des produits, et en raison de problèmes spécifiques dans les études de biodisponibilité de certains médicaments, une réelle composante biologique de ces effets ne peut totalement être écartée. Malgré ces doutes, nous nous appuyons sur la position des pharmacologues et des agences du médicament qui considèrent le médicament générique comme « une spécialité essentiellement similaire » aussi efficace et bien tolérée que le médicament copié. [9]



3. Les référentiels

Au niveau de la société MC PHARMA, les résultats des analyses analytiques effectués sur les médicaments sont présentés selon plusieurs normes internationales :

▪ Pharmacopée Européenne

La pharmacopée Européenne élaborée par la DEQM (Direction Européenne de la Qualité du Médicament des Soins de Santé), est une institution du Conseil de l'Europe. Son siège se trouve à Strasbourg.

Elle a pour but l'élaboration d'une pharmacopée commune, remplaçant ses équivalents nationaux, et permettant une meilleure circulation des médicaments entre ses membres, tout en garantissant mieux leur qualité.

La pharmacopée européenne est une référence essentielle dans l'évaluation des données relatives à la qualité dans les dossiers d'AMM nationaux et européens des médicaments auxquels se réfèrent toujours les directives révisées. C'est l'outil scientifique de standardisation et de santé publique avec une valeur juridique opposable dont le non-respect est punissable par les autorités judiciaires.

Elle fixe de façon réglementaire:

- le niveau de qualité minimum des matières premières
- les méthodes de contrôle
- les limites d'acceptation et/ou de refus
- la liste des colorants autorisés

Elle décrit:

- fabricant des réactifs
- certains appareillages
- les substances de référence

La pharmacopée est un document de référence utilisé quotidiennement au laboratoire de contrôle. Tout établissement pharmaceutique est tenu de posséder un exemplaire à jour des pharmacopées en vigueur. En effet, deux pharmacopées sont actuellement en vigueur en France: la pharmacopée européenne et la pharmacopée Française. [6]

▪ L'ICH

Définition : L'international Conférence Of Harmonisation (ICH) est une entité regroupant les autorités et l'industrie pharmaceutique des Amériques, de l'Europe et de l'Asie, ayant pour but de fixer un cadre international sur la marche à suivre pour l'enregistrement des produits pharmaceutiques (procédures et documents). [10]

▪ La société française des sciences et techniques pharmaceutiques (SFSTP)

La SFSTP est une association créée en 1901 afin de:

- Réfléchir sur des problématiques pharmaceutiques d'actualité,
- Partager le savoir-faire,
- Rassembler les différents acteurs impliqués dans l'élaboration du médicament,
- Etre une force de proposition et dialoguer avec les autorités de Tutelle...

Les travaux de la SFSTP sont initiés dans des commissions de travail qui se réunissent de manière régulière jusqu'à la finalisation de l'étude du thème choisi. Certaines commissions traitant de sujets ou problématiques d'actualité, font l'objet de sessions d'étude, permettant une mise en commun et un débat.

En complément, les groupes d'expert, entité réactive de cette association, sont sollicités ponctuellement pour évaluer et optimiser des projets de publications de monographies à la Pharmacopée européenne. [11]



4. Fabrication des comprimés effervescents au sein de mc pharma

On va d'abord commencer par définir les comprimés et leur composition.

4.1. Définition d'un comprimé

Les comprimés sont des préparations solides contenant une unité de prise d'une ou plusieurs substances actives. Ils sont obtenus en agglomérant par compression d'un volume constant de particules. Les comprimés effervescents sont dissous ou désagrégés dans de l'eau avant administration, et on peut distinguer :

- Les comprimés nus (non enrobés) ;
- Les comprimés enrobés ;
- Les comprimés spéciaux [12]

4.2. Composition d'un comprimé

Le principe de la fabrication des comprimés est très simple mais la réalisation est complexe. Les comprimés sont composés d'un principe actif et des excipients. Les fonctions principales des excipients sont les suivantes :

▪ Diluant

Ils ont pour but d'augmenter le volume de la poudre médicamenteuse, en l'amenant à une valeur suffisante pour en permettre la compression.

Les principales substances utilisées sont les amidons (riz, maïs, pomme de terre), les sucres (saccharose, lactose), les substances minérales (chlorure de sodium, carbonate de magnésium, carbonate de calcium). [12]

▪ Lubrifiants

Ils permettent le glissement des particules les unes sur les autres, ils évitent que la poudre ne fasse gripper la machine de compression et n'adhère aux poinçons ou à la matrice. Les principaux lubrifiants sont: le talc, les amidons, la poudre de silice, stéarate de magnésium, et benzoate de sodium. [12]

▪ Désagrégant

Leur rôle est d'accélérer la désintégration du comprimé, donc la dispersion du principe actif dans l'eau ou les sucs digestifs.

A titre d'exemple, on trouve la poudre de silice, poudre de cellulose et l'amidon en poudre. [12]

4.3. Procédé de fabrication



Pour des raisons de confidentialité, les paramètres de fabrication et les noms des matières premières rentrant dans la fabrication des comprimés effervescents au sein de MC PHARMA ne seront pas mentionnés dans cette partie du rapport.

En générale les étapes de fabrication des comprimés sont décrites dans le schéma suivant :

Au sein de MC PHARMA, on procède par la granulation humide

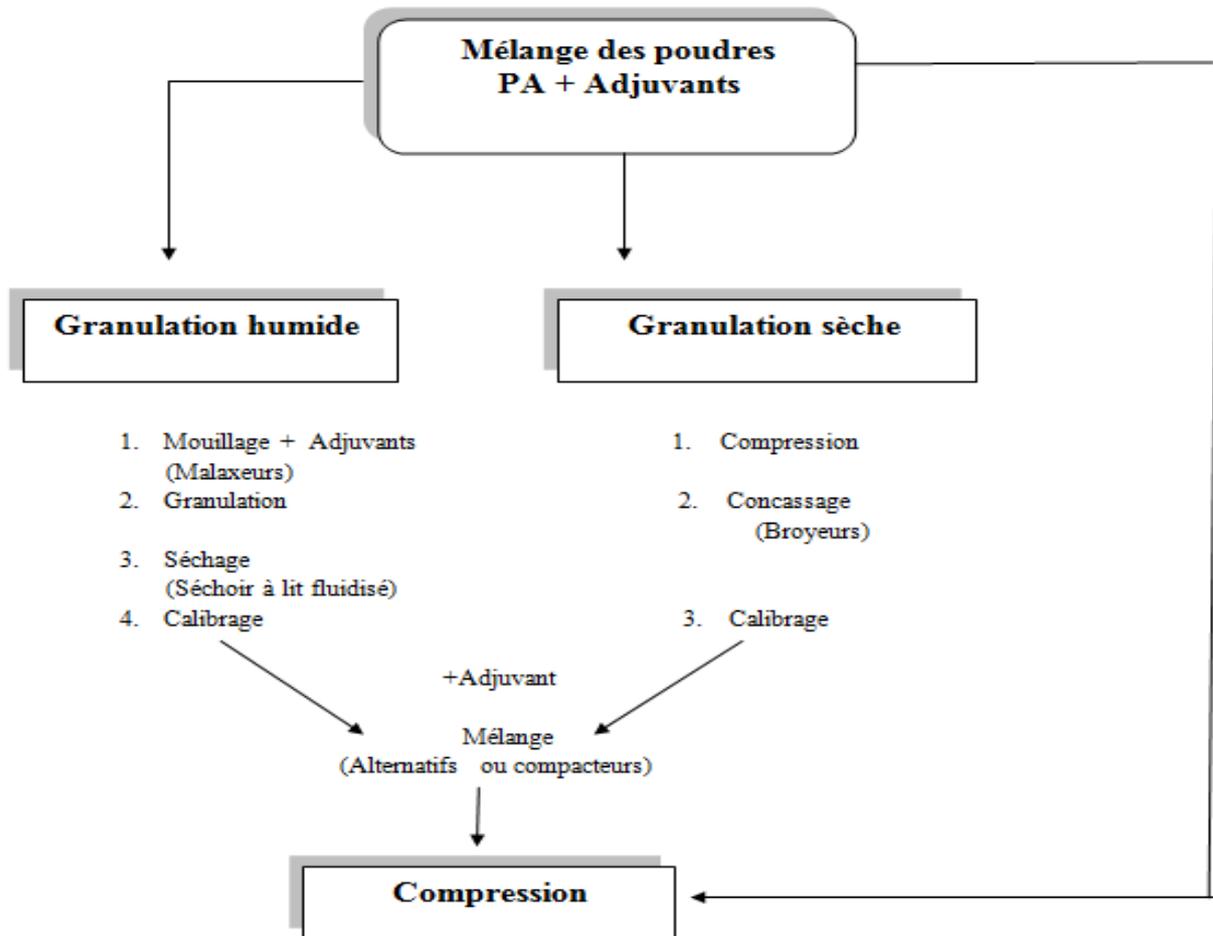


Figure 4 : les étapes de fabrication des comprimés effervescents

4.4. Précaution de fabrication au sein de la Zone de production MC PHARMA

La fabrication des comprimés effervescents doit avoir lieu dans des ateliers à atmosphère contrôlée où règnent les conditions suivantes :

- Température : 20 ± 3 °C
- Humidité : < 20%
- Tout le matériel en contact avec le produit doit être en acier inoxydable.
- Le personnel doit respecter les procédures d'hygiène, de nettoyage et d'accès.

La forme effervescente exige un respect strict des conditions de température et d'humidité relative préconisées, dans les ateliers de fabrication.



Chapitre II : QUALITE AU SEIN DE L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE

La mise en œuvre d'une politique de qualité, a pour objet de garantir dans l'intérêt de la santé publique que les médicaments délivrés, répondent aux spécifications de l'autorisation de mise sur le marché afin d'offrir et de conserver la qualité, la sécurité et l'efficacité requises pour l'usage prévu.

1. L'autorisation de mise sur le marché (AMM)

Le médicament prend naissance autour du dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM).

Le principe de l'AMM vise à garantir les malades contre l'utilisation de médicaments qui ne répondraient pas à des critères suffisants d'efficacité thérapeutique, de sécurité d'emploi et de qualité de fabrication.

Les dossiers d'AMM constituent le premier référentiel sur lequel travaille l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de la Santé (AFSSAPS).

Le dossier d'AMM est divisé en 4 parties:

- Partie 1 : données administratives et résumé du dossier
- Partie II "Qualité" : documentation chimique, pharmaceutique et biologique
- Partie III "Sécurité" : essais toxicologiques et pharmacologiques
- Partie IV "Efficacité" : documentation clinique

La partie II du dossier d'AMM présente les méthodes de contrôle:

- la partie II C concerne l'analyse des matières premières,
- la partie II E concerne l'analyse des produits finis,
- la partie II F concerne les analyses de stabilité.

Les méthodes d'analyses décrites sont appliquées en routine par les laboratoires de contrôle.

Le but de la constitution du dossier AMM est de montrer que la société de fabrication maîtrise parfaitement la fabrication du médicament. [13]

Pour atteindre ces objectifs, il existe une organisation clairement définie et établie qui englobe les BPF et le contrôle qualité.

2. Les Bonnes Pratique de Laboratoire

Les bonnes pratiques de laboratoire (BPL), illustrent ce qu'un système d'assurance qualité adapté au laboratoire, elles constituent une pratique réglementaire internationale, elles ont été instituées pour renforcer la sécurité des données réglementaires exigées dans l'évaluation des risques des produits chimiques et assurer un des fondements de la reconnaissance mutuelle de ces données entre les états. Les BPL visent à ce que les installations d'essais se dotent de méthodes, appelées "modes opératoires normalisés", permettant une traçabilité des travaux exécutés, favorisant leur fiabilité et propres à instaurer la confiance dans leurs résultats. Les dispositions retenues forment un système de garantie de qualité définissant des objectifs et des moyens de nature à engendrer le progrès nécessaire dans des domaines d'activité scientifique dont l'évolution est continue. En France les BPL sont décrites dans un texte réglementaire: le décret 90.206 du 7 mars 1990. Il est subdivisé en 10 sections qui éclairent bien dans quel but ce référentiel a été créé: [13]

Bonne pratiques de laboratoire: Décret 90.206 du Mars 1990

- | | |
|--|---------------------------------------|
| 1/ organisation du personnel | 6/ substance d'essais et de référence |
| 2/ Programme de l'assurance qualité normalisés | 7/ modes opératoires |
| 3/ locaux | 8/ réalisation de l'étude |
| 4/ appareils, matériaux et réactifs | 9/ Etablissement du rapport |





3. Les Bonnes Pratique de Fabrication

Elles sont instaurées et appliquées depuis les années 70 (la première version a été élaborée en 1978 par la Commission Nationale de la Pharmacopée).

La directive 91/3561 CEE de juin 1991 établit les principes et les lignes directrices des BPF pour les médicaments à usage humain et fait référence au guide européen; elle est applicable depuis le 01/10/1992.

Les BPF sont destinées à servir de références lors de l'examen des demandes d'autorisation de fabrication et lors d'inspection des fabricants de médicaments. Elles précisent un ensemble de recommandations pour éviter tout oubli, toute contamination (croisée ou d'origine microbiologique).

Elles sont juridiquement opposables. [13]

Les exigences de bases des B.P.F

Les exigences de bases des BPF sont les suivantes :

- Tout procédé de fabrication est clairement défini et revu systématiquement à la lumière de l'expérience; il doit être démontré que le procédé est capable de produire de façon répétée des médicaments répondant à leurs spécifications ;
 - Les étapes critiques de la fabrication et toutes les modifications importantes sont validées.
 - Tous les moyens nécessaires à la mise en œuvre des BPF sont fournis, y compris:
 - Un personnel qualifié et formé de façon appropriée ;
 - Des locaux convenables et suffisamment spacieux ;
 - Du matériel et des services adéquats ;
 - Des produits, récipients et étiquettes corrects ;
 - Des procédures et instructions approuvées ;
 - Un stockage et des moyens de transport appropriés.
 - Les instructions et les procédures sont rédigées dans un style approprié et utilisent un vocabulaire clair et sans ambiguïté, particulièrement adapté aux moyens fournis ;
 - Les opérateurs reçoivent une formation afin de mettre correctement en œuvre les procédures ;
 - Des relevés sont établis, manuellement et/ou avec des appareils d'enregistrement, pendant la fabrication ; ils prouvent que toutes les étapes requises par les procédures ont effectivement été suivies et que quantitativement le produit obtenu est conforme à ses spécifications. Toute déviation significative est enregistrée de façon détaillée et examinée ;
 - Des dossiers de fabrication et notamment de distribution sont établis en vue de retracer l'historique complet d'un lot ; ils sont rédigés de façon claire et restent facilement accessibles
 - La distribution des médicaments comporte le minimum de risques pour leur qualité ;
- Un système de rappel est organisé pour le cas où il s'avérerait nécessaire de rappeler un lot de produit.
- Les réclamations concernant les produits commercialisés sont examinées, les causes des défauts de fabrication recherchés et les mesures appropriées prises, non seulement en ce qui concerne le produit défectueux lui-même mais également en vue de renouvellement de ces défauts. [14]



Chapitre III : LA VALIDATION DES METHODES ANALYTIQUES

Le principe de la validation des procédures analytiques quantitatives est, aujourd'hui largement, répandu dans tous les domaines d'activités où des mesures sont réalisées. Le champ d'application de la validation analytique s'étend à toute procédure d'analyse utilisée dans le contrôle de la matière première, le développement galénique, le contrôle en cours de fabrication, le contrôle des produits intermédiaires et finis et les essais de stabilité de tous les produits pharmaceutiques. Dans le domaine pharmaceutique, son exigence est avant tout une pratique réglementaire.

La validation est fondée sur une analyse statistique basée sur un certain nombre de critères aboutissant à des méthodes analytiques permettant de donner des résultats fiables.

La validation intervient après les stades de recherche et développement du principe actif d'un médicament et la mise au point analytique. Une fois la validation effectuée, le dossier de demande d'AMM du médicament en question peut être constitué en vue de son utilisation courante.

1. Définition

La définition de la validation est donnée selon :

Les BPF : la validation est l'établissement de la preuve documentée, en conformité avec les principes de bonnes pratiques de fabrication, que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel, matière, article de conditionnement ou produit, activité ou système permet réellement d'atteindre de manière reproductible les résultats escomptés.

2. Objectifs de la validation

La validation d'une méthode d'analyse est indispensable afin de garantir la fiabilité et la traçabilité des résultats fournis.

La validation est un concept en interaction avec toutes les actions d'amélioration de la qualité.

Elle permet l'identification des éléments critiques ayant une influence sur la qualité finale du produit.

Elle instaure la confiance en la qualité du produit en montrant qu'un procédé est sous contrôle. De plus, la maîtrise du processus est un moyen pour réagir vite aux nouvelles exigences des clients.

Enfin, la validation est un moyen économique important. En effet, elle permet d'une part une diminution des coûts: au niveau de l'échantillonnage et du contrôle, au niveau des rejets et des retraitements, en évitant le maintien d'un paramètre coûteux qui n'a pas d'influence sur la qualité du produit, en anticipant les problèmes, on peut intervenir au plus tôt sur un processus.

D'autre part, elle permet un gain de temps: en améliorant le flux produit, en diminuant les accidents de production pour permettre une réduction des temps d'arrêt de production.

Il existe différents types de validation:

- la validation prospective qui commence dès la conception d'un projet et se termine par l'arrêt du processus de fabrication,
- la validation simultanée est une validation concomitante à la production,
- la validation rétrospective pour une unité de production existante et étant en service depuis des années,
- et la revalidation. [13]



3. La validation : Aspect réglementaire

La validation est une exigence réglementaire. Les industriels se doivent donc d'appliquer la réglementation en vigueur (dossier d'AMM, BPF ...).

- Deux guidelines ICH (International Conference on Harmonization) ont été dédiés à la validation analytique : Q2: «Analytical Validation»
 - Q2A: «Texte de Validation des Procédures Analytiques»
Présente une discussion sur les caractéristiques qui doivent être prises en compte au cours de la validation des méthodes analytiques
 - Q2B: «Méthodologie»
Son but est de fournir des conseils et recommandations sur la manière d'appréhender les différentes caractéristiques de la validation pour chaque méthode analytique. En outre, le document fournit une indication sur les données qui devraient être présentées dans un dossier d'enregistrement.
Aussi la :
- SFSTP (Société Française des Sciences Techniques et Pharmaceutiques) présente les recommandations réglementaires communément admises et appliquées dans l'industrie pharmaceutique nationale et une démarche statistique pour la validation d'une procédure analytique. [15]

4. La validation des méthodes d'analyse

Dans le cadre du dossier d'AMM, il est nécessaire d'effectuer un certain nombre de contrôle sur la forme pharmaceutique qui va être libérée afin de s'assurer de sa conformité aux exigences définies. Par conséquent, toutes les méthodes d'analyses doivent être validées afin d'éviter la mise sur le marché de produits défectueux.

On valide une procédure analytique par l'intermédiaire des critères de validation. Selon l'analyse considérée (identification, essai, dosage), ces critères sont différents. [13]

Dans notre cas, on s'intéressera uniquement à la validation de la méthode de détermination des produits de dégradation du principe actif : « Prédnisolone métasulfobenzoatesodique » qui s'avère nécessaire pour mettre en place une méthode d'analyse de routine pour SCORT.

Pour ceci, l'étude des critères suivants est demandée:

- la linéarité,
- l'exactitude,
- la fidélité,
- la spécificité,
- la limite de détection,
- la limite de quantification

La définition et la terminologie de ces termes est donnée dans la suite.

La validation analytique commence par un protocole et se termine par un rapport qui inclura les résultats expérimentaux, l'exploitation statistique, les interprétations, les commentaires et les conclusions. La méthodologie est présentée dans la partie pratique de ce rapport.

5. Critères de validation



Les critères de validation sont ceux couramment utilisés dans les procédures analytiques de séparation et repris dans le document Q2A de l'ICH. Il s'agit de la sélectivité, de la justesse, de la précision (répétabilité et fidélité intermédiaire), de l'exactitude, de la linéarité, des limites de détection et de la quantification. [16]

Généralement, la validation complète d'une méthode quantitative doit couvrir les critères suivants :

Type de tests Caractéristiques	Dosage	Impuretés		Identification	Dosage bioanalyse
		Quantitatif	Essais limites		
Justesse	✓	✓			✓
Fidélité répétabilité	✓	✓			✓
Fidélité fidélité intermédiaire	✓	✓			✓
Spécificité Sélectivité	✓	✓	✓	✓	✓
Limite de détection		✓	✓		✓
Limite de quantification		✓			✓
Linéarité	✓	✓			Fonction de réponse
Gamme	✓	✓			✓
Robustesse	✓	✓	✓		✓

Figure 5 : Les critères de validation

a) Spécificité / Sélectivité

Représente la mesure du degré d'interférence provenant d'autres substances (principes actifs, excipients, substances apparentées, produits de dégradation), présentes dans la matrice complexe que peut représenter le produit fini.

Une méthode est spécifique s'il est possible d'évaluer la concentration de l'analyte seul.

Sélectivité : capacité à différencier et quantifier l'analyte cible en présence d'interférents dans l'échantillon (par exemple, impuretés résultant de la fabrication ou de la dégradation du produit, ou constituants autres que l'analyte, que ces substances soient pharmacologiquement actives ou inertes). La spécificité peut s'exprimer par l'erreur systématique constatée dans les résultats obtenus avec l'analyte en présence des concentrations escomptées des autres constituants, par comparaison avec les résultats obtenus en l'absence de ces substances. [16]

3 niveaux :

- Identification: Garantie de l'identité de la substance à analyser.
- Tests de pureté : Garantie que toutes les procédures d'analyse exécutées permettent une évaluation de la teneur en impuretés de la substance à analyser. (Recherche de substances apparentées, teneur en solvants résiduels, métaux lourds.....)
- Dosage : Garantie que le signal mesuré provient uniquement de la substance à analyser.

b) Linéarité

C'est la capacité d'une méthode d'analyse, à l'intérieur d'un certain intervalle (domaine d'utilisation), d'obtenir des résultats directement proportionnels à la quantité ou à la concentration de substance à doser.



Le domaine d'utilisation est l'intervalle entre la concentration la plus faible et la concentration la plus élevée dont on a démontré qu'elles pouvaient être déterminées avec une précision, une exactitude et une linéarité acceptables. Ces caractéristiques sont déterminées en appliquant la méthode à une série d'échantillons dont les concentrations en analyte couvrent tout le domaine d'utilisation proposé.

Les études sur la linéarité sont faites simultanément sur le principe actif et sur la forme pharmaceutique reconstituée (c'est-à-dire un mélange de tous les composés correspondants, quantitativement et qualitativement à la forme pharmaceutique à étudier, sauf la substance à analyser qui sera ajoutée en quantité variable) permettant ainsi une comparaison directe des deux linéarités obtenues.

La fonction de calibration est obtenue par régression linéaire, en utilisant la méthode des moindres carrés (on estime la linéarité, la pente, l'ordonnée à l'origine et le coefficient de corrélation de la droite d'étalonnage)

- Le test de COCHRAN est utilisé pour démontrer l'homogénéité des variances
- Le test de STUDENT est utilisé pour comparer l'ordonnée à l'origine avec zéro et prouver qu'il n'y a aucune différence entre les deux
- Le test de FISHER SNEDECOR est utilisé pour démontrer l'existence d'une pente significative.

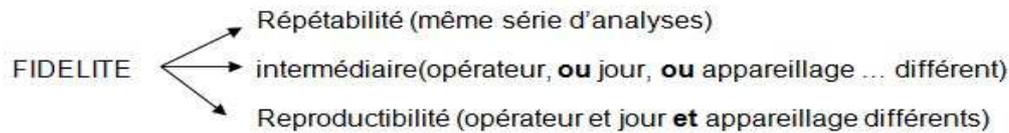
D'après les ICH, le coefficient de corrélation (r), l'ordonnée à l'origine, la pente et la somme des carrés résiduels doivent être reportés. Une analyse des résidus peut être utile. [16]

c) Exactitude / Justesse

L'exactitude d'une procédure analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur acceptée comme une valeur conventionnellement vraie ou comme une valeur de référence, et la valeur trouvée obtenue en appliquant la procédure d'analyse un certain nombre de fois. [16]

d) Fidélité

La Fidélité représente l'ensemble des caractéristiques de dispersion.



Elle représente l'étroitesse de l'accord entre les résultats d'essais indépendants réalisés dans des conditions déterminées. Elle est mesurée par la dispersion des résultats individuels de part et d'autre de la moyenne et elle est généralement représentée par l'écart-type ou par le coefficient de variation (écart-type relatif) calculé après avoir appliqué la méthode complète de façon répétée à un certain nombre d'échantillons identiques prélevés sur le même lot homogène de produit à analyser.

Elle fournit une indication sur les erreurs dues au hasard : manipulateur, matériel, réactifs préparés etc...

- Répétabilité : variabilité engendrée par la technique face au minimum de changement possible (mêmes conditions opératoires).
- Fidélité intermédiaire : l'expression de la variabilité intra-laboratoire.
- Reproductibilité : La reproductibilité est la fidélité obtenue dans des conditions fortement variables, à des jours différents, dans différents laboratoires, avec des opérateurs différents et un équipement différent. [16]

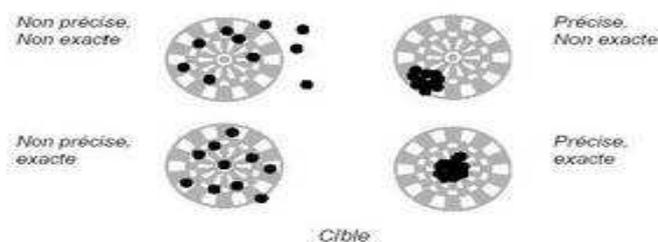


Figure 6 : Représentation de la Fidélité et Justesse

e) Seuil de détection

Selon l'ICH le seuil de détection est la plus petite quantité d'une substance à examiner dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte. Le seuil de détection est généralement un paramètre des essais limites.



Le seuil de détection est exprimée soit en concentration, soit en quantité, et dérive de la plus petite quantité x qui puisse être détectée avec une certitude suffisante pour une procédure d'analyse.

▪ Mode opératoire :

Examen de l'enregistrement : Rapport signal/bruit.

- Effectuer un enregistrement du blanc d'analyse, en suivant la procédure complète d'analyse sur échantillon contenant l'ensemble des constituants, à l'exception de la substance à doser (placebo analytique).
- Déterminer l'amplitude maximale h_{\max} du signal sur une distance égale à 20 fois la largeur à mi-hauteur du pic correspondant à la substance à rechercher dans la solution à 100%.

Le seuil de détection SD estimé par :

R étant le facteur quantité / signal (exprimé en hauteur) [16]

$$SD = 3 \cdot h_{\max} \cdot R$$

f) Seuil de quantification

Le seuil de quantification d'une procédure analytique donnée est la plus petite quantité d'une substance à examiner dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une fiabilité et une exactitude définies.

Le seuil de quantification est un paramètre intervenant dans les analyses quantitatives pour les composés présents à faible concentration dans les matrices échantillons ; elle est notamment utilisée pour le dosage des impuretés et/ou des produits de dégradation. [16]

Le seuil de Quantification SQ est mesuré selon la formule suivante :

$$SQ = 10 \cdot h_{\max} \cdot R$$

g) Robustesse

La robustesse d'une procédure d'analyse est sa capacité à rendre des résultats exacts en présence de faibles changements de conditions expérimentales susceptibles de produire dans l'utilisation de cette procédure. [16]

h) Sensibilité

La sensibilité est la capacité de la méthode d'analyse d'enregistrement de faibles variations de la concentration. Variation minimale qu'il faut imposer à la grandeur X à déterminer (exemple : concentration, quantité,...) pour obtenir une différence significative du signal mesuré Y. [16]

6. Validation de la méthode de recherche des produits de dégradation

Selon l'ICH un produit de dégradation est une impureté résultant d'une modification chimique de la substance médicamenteuse qui se produit au cours de la fabrication ou durant l'entreposage d'un nouveau produit par suite de l'action, par exemple, de la lumière, de la température, du pH, de l'humidité ou d'une réaction avec un excipient et/ou le système récipient-fermeture.



En général, il ne faut surveiller et spécifier les impuretés présentes dans une nouvelle substance médicamenteuse que si elles constituent des produits de dégradation (se reporter au document d'orientation Q6A de l'ICH pour plus de détails). [16]

6.1. Pourquoi valider la méthode de la recherche des produits de dégradation

La validation de la méthode de recherche des produits de dégradation est un sujet d'actualité au Maroc très compliqué et qui exige parfois une longue durée de recherche et de développement, parce qu'il peut y avoir beaucoup de contraintes à surmonter.

Est-ce qu'on valide parce que :

- Exigence par le ministère de la santé ?
- Assurance qualité ?
- Protection de la santé publique ?

Il s'agit d'abord d'un acte pharmaceutique lié à la sécurité publique, et de nos jours, au Maroc, c'est devenu une exigence réglementaire dictée par le ministère de la santé publique, et tout médicament ; avant d'avoir son AMM ; doit d'abord répondre à cette exigence.

6.2. Méthode d'analyse

Les présentations doivent inclure des données prouvant que les méthodes d'analyses ont été validées et conviennent à la détection et au dosage quantitatif des produits de dégradation (se reporter au document d'orientation Q2A et Q2B de l'ICH sur la validation des méthodes d'analyse). Les méthodes d'analyse doivent, plus précisément, être validées par des données prouvant la spécificité des produits de dégradation spécifiés et non spécifiés. S'il y a lieu, la validation doit inclure des échantillons conservés dans les conditions de stress pertinentes : lumière, chaleur, humidité, hydrolyse acide ou basique et oxydation. Lorsque les méthodes d'analyse révèlent la présence de pics autres que ceux des produits de dégradation (exp : de substance médicamenteuses, d'impuretés provenant de la synthèse de la substance médicamenteuse, d'excipients et d'impuretés provenant d'excipients), ces pics doivent être indiqués aux chromatogrammes, et leur origine doit faire l'objet d'une explication dans les documents de validation.

La limite de dosage quantitatif utilisée pour les méthodes d'analyse ne doit pas excéder (\leq) le seuil de déclaration.

On peut analyser les produits de dégradation à l'aide de différentes techniques, dont celles qui permettent de comparer les résultats d'analyse d'un produit de dégradation à un étalon de référence approprié ou aux résultats obtenus pour la nouvelle substance médicamenteuse elle-même.

On peut utiliser la substance médicamenteuse pour estimer la concentration des produits de dégradation. Même dans les cas où les facteurs de réponse ne sont pas semblables, cette méthode est quand même acceptable à condition qu'un facteur de correction soit appliqué ou que les concentrations de produits de dégradation soient surestimées. Les critères d'acceptation et les méthodes d'analyses utilisés pour déterminer la teneur en produits de dégradation connus ou non sont souvent fondés sur des postulats d'analyse (exp : une réponse semblable du détecteur) qui doivent être dans les présentations. [16]



6.3. Déclaration du contenu des produits de dégradation

Selon l'ICH le seuil de déclaration est la valeur maximale au-dessus de laquelle (\geq) un produit de dégradation doit être déclaré.

Les présentations doivent faire état des résultats d'analyse pour tous les lots appropriés de nouveaux produits utilisés dans les essais cliniques et les essais d'innocuité et de stabilité ainsi que pour les lots représentatifs du procédé de fabrication à l'échelle commerciale proposée. Il convient de présenter les données quantitatives sous forme numérique plutôt que dans des termes généraux comme « est conforme à » et « n'excède pas le seuil ». Tout produit de dégradation présent en quantité supérieure ($>$) au seuil de déclaration et la quantité totale de produits de dégradation observés dans les lots appropriés des nouveaux produits doivent être déclarés, et les méthodes d'analyses utilisés qui ont permis leur détection doivent être indiquées.

Les produits de dégradation doivent être désignés par un code ou une description appropriée comme « temps de rétention ». Les présentations qui proposent un seuil de déclaration plus élevé doivent offrir une justification complète d'une telle proposition. Tous les produits de dégradation qui excèdent ($>$) le seuil de déclaration doivent être additionnés et présentés sous forme totale.

Il faut fournir les chromatogrammes sur lesquels des pics sont indiqués (ou les données équivalentes si d'autres méthodes d'analyse sont utilisées) effectués sur des lots représentatifs, y compris les chromatogrammes réalisés dans le cadre d'études de validation des méthodes d'analyse et d'études de stabilité accélérée et au long terme. [16]

6.4. Spécifications des produits de dégradation

Les spécifications d'un nouveau produit doivent comprendre la liste des produits de dégradations susceptibles d'être générés durant la fabrication du produit fini ainsi que lorsqu'il est entreposé dans les conditions recommandées.

Le profil de dégradation doit être établi à partir des études de stabilité, des voies de dégradation, des études de développement du produit et des études de laboratoire. L'inclusion d'un produit de dégradation dans les spécifications d'un nouveau produit doit être déterminée à partir des produits de dégradation retrouvés dans les lots fabriqués au moyen du procédé proposé à l'échelle commerciale.

Les produits de dégradation individuels qui répondent à des critères d'acceptation spécifiques sont appelés « produits de dégradation spécifiés ».

Les produits de dégradation spécifiés peuvent être ou ne pas être caractérisés. L'inclusion ou l'exclusion des produits de dégradation dans les spécifications doit être justifiée.

Les limites du dosage quantitatif et de la détection doivent correspondre aux valeurs limites auxquelles les produits reconnus pour être exceptionnellement actifs ou susceptibles de produire des effets toxiques ou pharmacologiques importants doivent être contrôlés. La méthode utilisée et les postulats adoptés pour déterminer la concentration de produits de dégradation non caractérisés doivent être clairement indiqués ;



Il faut utiliser des indications descriptives appropriées pour présenter les produits de dégradation spécifiés non caractérisés. Il faut inclure un critère d'acceptation générale inférieur ou égal (\leq) aux seuils de caractérisation indiqués pour chaque produit de dégradation non spécifié ainsi qu'un critère d'acceptation pour le total des produits de dégradation.

Les critères d'acceptation de tout produit de dégradation doit être établi en tenant compte de son critère d'acceptation dans la substance médicamenteuse (s'il y a lieu), de sa concentration qualifiée, de l'augmentation de celle-ci au cours des études de stabilité et de la durée et des conditions de conservation proposées pour le nouveau produit. De plus, aucun critère d'acceptation ne doit excéder la concentration qualifiée de chaque produit de dégradation.

En résumé, les spécifications de nouveaux produits doivent inclure, s'il y a lieu, les produits de dégradations suivants :

- Chaque produit de dégradation spécifié caractérisé ;
- Chaque produit de dégradation spécifié non caractérisé ;
- Tout produit de dégradation non spécifié pour lequel on a déterminé un critère d'acceptation inférieur ou égal (\leq) au seuil de caractérisation ;
- Le total des produits de dégradation. [16]

7. Comment organiser la validation d'une méthode

Pour organiser la validation d'une méthode d'analyse, il faut d'abord l'avoir correctement mise au point. Bien souvent les analystes sont trop impatientes et vont essayer de valider une méthode dont le domaine d'application n'est encore bien défini et pour laquelle il existe des effets de matrice inconnus. C'est une perte de temps et d'argent. Une étude de validation doit démarrer lorsqu'on dispose d'un mode opératoire complètement rédigé.

Bien sûr l'organisation pratique des essais dépend ensuite du guide de validation choisi. Nous proposons une séquence de dix opérations qui débouchent sur la construction d'un profil d'exactitude. On peut déjà en définir des principes généraux :

- Définir les objectifs à atteindre ;
- Prévoir les plans d'expérience à réaliser ;
- Prévoir les quantités et la qualité des matériaux qui seront utilisés ;
- Organiser le calendrier des études et celui du personnel qui en sera chargé

En fin d'étude, il ne faut pas sous-estimer le temps nécessaire pour interpréter les résultats, c'est pourquoi, il importe de prévoir dès le début le mode d'enregistrement des mesures, en fonction des outils de calcul dont dispose le laboratoire.

De toute façon, si le laboratoire fonctionne avec un système qualité, il se doit de rédiger une procédure et tous les documents annexes qui précisent comment l'étude sera conduite. [17]



Chapitre IV : ETUDE STATISTIQUE DE LA VALIDATION

Les études de la linéarité, de l'exactitude et de la fidélité sont réalisées simultanément à partir de la substance à doser seule et de la substance à doser dans la matrice (ou matrice dopée). Par matrice, on désigne le milieu à étudier qui contient la substance à doser, excepté celle-ci qui sera ajoutée en quantité variable suivant le critère étudié (matrice dopée).

L'intervalle de concentration à valider est couvert par une série de 5 concentrations minimum régulièrement exposées et positionnées, par exemple, autour de 60, 80, 100, 120 et 140% de la concentration théorique. Effectuer au minimum 3 séries indépendantes de ces 5 concentrations à raison d'une série par jour. Ce protocole doit être réalisé sur la substance à doser seule et sur la matrice dopée.

Pour l'étude de la fidélité, il faut effectuer au minimum 3 séries de pesées à 100% de la concentration théorique de la substance à doser dans la matrice, à raison d'une série par jour.

1. Linéarité

La figure ci-dessous résume la stratégie statistique à suivre.

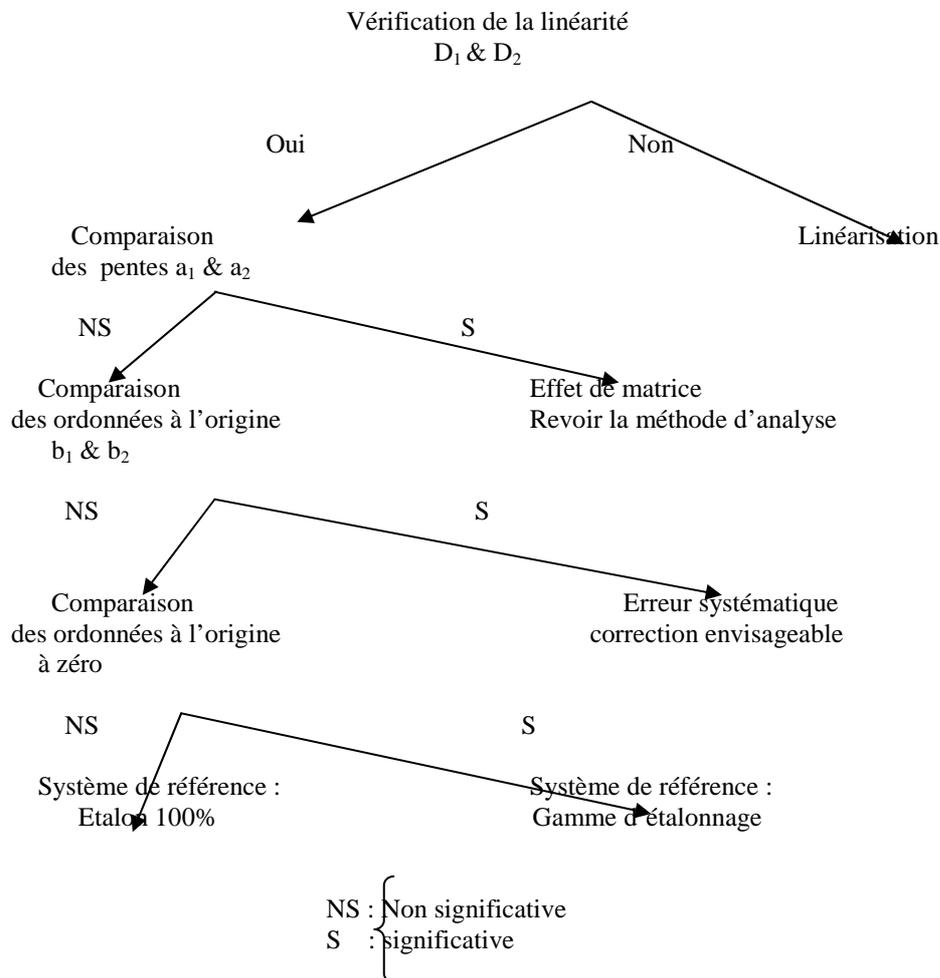


Figure 7 : Vérification de la linéarité

Remarque : Après cette étude, on peut dire que notre méthode est linéaire



1.1. Estimation de la droite de régression linéaire

Elle est déterminée à partir des couples (X_{ij}, Y_{ij}).

Soit $y = Bx + A$ l'équation de la régression réelle inconnue. B est la pente, A l'ordonnée à l'origine. Les estimations recherchées a et b de A et B correspondent à une droite d'équation

$y = bx + a$ qui est l'estimation de la droite réelle inconnue.

Pour toute partie, on a :

$$\Sigma\Sigma = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n$$

Avec i: indice d'un niveau

J: indice de la série au sein d'un même niveau

N nombre total des mesures $N = n * p$

Moyenne des X_{ij} pour la série i

Moyenne des Y_{ij} pour la série i

Moyenne générale des X_{ij}

Moyenne générale des Y_{ij}

$$\bar{x}_i = \frac{\sum_{j=1}^n x_{ij}}{n}$$

$$\bar{y}_i = \frac{\sum_{j=1}^n y_{ij}}{n}$$

$$\bar{\bar{x}} = \frac{\Sigma\Sigma x_n}{N}$$

$$\bar{\bar{y}} = \frac{\Sigma\Sigma y_n}{N}$$

Somme des carrés des écarts pour X_{ij}

Somme des carrés des écarts pour y_{ij}

$$SCE_x = \Sigma\Sigma (x_{ij} - \bar{x})^2 = \Sigma\Sigma x_{ij}^2 - \frac{(\Sigma\Sigma x_{ij})^2}{N}$$

$$SCE_y = \Sigma\Sigma (y_{ij} - \bar{y})^2 = \Sigma\Sigma y_{ij}^2 - \frac{(\Sigma\Sigma y_{ij})^2}{N}$$

Somme des produits des écarts ou la covariance des variables X_{ij} et Y_{ij}

$$SPE_{xy} = \Sigma\Sigma (x_{ij} - \bar{x})(y_{ij} - \bar{y}) = \left[\Sigma\Sigma x_{ij}y_{ij} - \frac{\Sigma\Sigma x_{ij} \Sigma\Sigma y_{ij}}{N} \right]$$

1.2. Calcul de la pente (a)

La pente de la droite de régression est calculée d'après la formule suivante :

$$a = \frac{SPE_{xy}}{SCE_x}$$

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

L'ordonnée à l'origine est calculée d'après la formule suivante:

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

1.4. Calcul du coefficient de corrélation

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

1.5. Les variances de la pente et de l'ordonnée à l'origine (S²a et S²b).

$$r = \frac{SPE_{xy}}{\sqrt{SCE_x SCE_y}}$$



Les variances S^2_a et S^2_b sont calculées d'après les formules suivantes :

$$S_a = \sqrt{\frac{s_r^2}{SCE_x}}$$

L'écart type de la pente :

$$S_b = \sqrt{s_r^2 \left(\frac{1}{N} + \frac{\bar{x}^2}{SCE_x} \right)}$$

L'écart type de l'ordonnée à l'origine :

$$S_r = \sqrt{\frac{SCE_y - aSPE_{xy}}{N-2}} = \sqrt{\frac{SCE_y - a^2SCE_x}{N-2}}$$

L'écart type des résidus :

Maintenant on passe aux tests d'adéquation du modèle linéaire par analyse de variance.

L'analyse de variance peut être utilisée pour tester la validité de modèle linéaire. Deux tests de Fischer sont réalisés afin de s'assurer de :

- (validité de la régression) L'existence d'une pente significative
- (validité de la droite sur toute la gamme) Validité de la droite de régression

1.6. Test d'homogénéité des variances « Test de COCHRAN »

Le test de COCHRAN est appliqué pour vérifier l'homogénéité des variances constitutives de l'erreur expérimentale. Le critère à utiliser est:

$$C = \frac{S_{\max}^2}{\sum_{j=1}^k S_j^2} \quad \text{avec} \quad s_i^2 = \frac{\sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_i)^2}{n-1}$$

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

S_j^2 Variance du groupe j.

Si l'inégalité $C < C(\alpha; n; p)$ est vérifiée, on peut affirmer que l'ensemble des variances des différents groupes j peut être considéré comme homogène au risque α .

1.7. Test de l'existence d'une pente significative « Test de FISCHER »

Ce test consiste à vérifier l'existence d'une pente significative (régression acceptable) c'est-à-dire de s'assurer que la pente provient bien de la régression et non des erreurs résiduelles.

S_l^2 = variation due à la régression (linéaire)

S_r^2 = variation résiduelle

F (α , 1, N-2) lu dans la table de Fisher

$$F_1 = \frac{S_l^2}{S_r^2} > F(\alpha, 1, N-2)$$

Si F_1 est significatif, on conclut à l'existence d'une pente, donc à une dépendance linéaire au seuil de probabilité considéré (risque $\alpha = 5\%$)

Test de l'existence d'une pente significative:

$$\text{Erreur Totale} = \text{Erreur Résiduelle} + \text{Erreur due à la Régression}$$



\hat{y}_{ij} réponse prédite par le modèle pour la solution x_{ij} : $\hat{y}_{ij} = ax_{ij} + b$



Variations	DDL	Somme des carrés	Variance	F Calculé
Variation totale	N-1	$SCE_t = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^{n_j} (y_{ij} - \bar{y})^2$		
Variation due à la régression	1	$SCE_l = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (\hat{y}_{ij} - \bar{y})^2$	$S_L^2 = \sum L^2$	$F_1 = \frac{S_L^2}{S_R^2}$
Variation résiduelle	N-2	$SCE_r = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^{n_j} (y_{ij} - \hat{y}_{ij})^2$	$S_R^2 = \frac{\sum R^2}{N-2}$	

1.8. Test de validité de la droite de régression « Test de FISCHER »

Ce test consiste à vérifier la validité de la droite de régression (c'est bien une droite dans tout le domaine choisi) c'est-à-dire de s'assurer que la variance caractérisant l'erreur due à une erreur de modèle (S_{nl}^2) est bien inférieure à l'erreur expérimentale (S_e^2).

S_{nl}^2 : Variance due à l'erreur du modèle (non linéaire)

S_e^2 : Variance expérimentale

$F(\alpha ; p-2 ; N-p)$: Lu dans la table de Fischer

α : risque de première espèce ($\alpha = 5\%$)

N : Nombre total de résultats d'analyse

P ou k : Nombre de niveau

Si cette inégalité est vérifiée ou si le test n'est pas significatif l'erreur du modèle est négligeable ; le domaine de linéarité est considéré comme valide au seuil de probabilité considéré.

$$F_2 = \frac{S_{nl}^2}{S_e^2} < (F(\alpha, p-2, N-p))$$

Sources de variation	SCE	DDL ou v	Variances
Expérimentale	SCE_e	N-p	$s_e^2 = \frac{SCE_e}{N-p}$
Erreur modèle (non linéaire)	SCE_{nl}	p-2	$s_{nl}^2 = \frac{SCE_{nl}}{p-2}$
Résiduelle	SCE_r	N-2	$s_r^2 = \frac{SCE_r}{N-2}$

$$SCE_r = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^{n_j} (y_{ij} - \hat{y}_{ij})^2$$

$$SCE_r = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \hat{y}_{ij})^2$$

$$SCE_{nl} = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (\bar{y}_i - \hat{y}_{ij})^2$$

1.9. Test de comparaison des pentes des droites D1 et D2

Soit S_{a1}^2 et S_{a2}^2 les variances respectives des pentes a_1 et a_2 des droites D1 et D2. La comparaison des pentes a_1 et a_2 s'effectue avec un test t :

$$t_{exp} = \frac{|a_1 - a_2|}{\sqrt{S^2 a_1 + S^2 a_2}}$$

Si $t_{exp} < t_{th}(\alpha, N1+N2-4)$ lu dans la table de Student, on peut affirmer que pentes ne sont pas significativement différentes au risque α , c'est-à-dire qu'il n'y a pas d'effet de matrice.

les

1.10. Test de comparaison des ordonnées à l'origine des droites D1 et D2



Soient S_{b1} et S_{b2} les écarts types respectifs des ordonnées à l'origine des droites $D1$ et $D2$.
 La comparaison de b_1 et b_2 s'effectue avec un test t :

Si $t_{exp} < t_{th}(\alpha, N1+N2-4)$ lu dans la table de Student, on peut conclure que les ordonnées à l'origine des droites $D1$ et $D2$ ne sont pas significativement différentes au risque α , c'est-à-dire qu'il n'y a pas d'effet systématique.

$$t_{exp} = \frac{|b_1 - b_2|}{\sqrt{S^2_{b1} + S^2_{b2}}}$$

1.11. Test de comparaison de l'ordonnée à l'origine avec 0

Soit S_a l'écart type de l'ordonnée à l'origine, on vérifie l'inégalité:

$$\text{Test Bilatéral} \quad t_1 = \frac{|b_1|}{\sqrt{s_{b1}^2}} \quad \text{et} \quad t_2 = \frac{|b_2|}{\sqrt{s_{b2}^2}} < t(\alpha; N-2)$$

$t_{th}(\alpha, N-2)$ lu dans la table de Student. Si celle-ci est vérifiée, on peut affirmer que l'ordonnée à l'origine n'est pas significativement différente de zéro au seuil de probabilité considéré. Dans ce cas, on peut alors calibrer avec un seul point à 100%.

2. Exactitude :

Il est tout d'abord nécessaire de calculer le recouvrement R pour chaque quantité trouvée d'après la formule suivante:

$$R\% = \frac{\text{Quantité trouvé}}{\text{Quantité introduire}} \times 100$$

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

2.1. Test d'homogénéité des variances

Le test de COCHRAN est appliqué pour vérifier l'homogénéité des variances constitutives de l'erreur expérimentale. Le critère à utiliser est:

S_i^2 : variance du groupe i

S_{max}^2 : variance la plus élevée des P groupes i .

$$C = \frac{S_{max}^2}{\sum_i S_i^2}$$

Si l'inégalité suivante est vérifiée $C_{exp} < C(\alpha, n, p)$ l'ensemble des variances des différents groupes i peut être considéré comme homogène au risque α (le test n'est pas significatif).

2.2. Test de validité des moyennes

Ce test consiste à comparer les erreurs intergroupes et intra-groupes

$F(\alpha; p-1; N-p)$ lu dans la table de Fischer

α : risque de première espèce ($\alpha = 5\%$)

p ou k nombre de niveau

N nombre total de mesure

$$F = \frac{S_d^2}{S_r^2} > F(\alpha; p-1; N-p)$$

Si le test n'est pas significatif (inégalité n'est pas vérifiée), on conclut que les moyennes sont homogènes au risque α considéré. En d'autres termes, les variances des observations entre les groupes sont dues aux erreurs expérimentales. Dans ce cas, on pourra considérer un seul taux de recouvrement pour les trois niveaux.



En posant $Y_{ij} = R\%$, on a :

Test de validité des moyennes :

Variations	DDL	Somme des carrés	Variance	F Calculé
Variation totale	N-1	$\sum T^2 = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (Y_{ij} - \bar{Y})^2$	$S_T^2 = \frac{\sum T^2}{N-1}$	$F_3 = \frac{S_C^2}{S_E^2}$
Variation intra-groupe	N-K	$\sum E^2 = \sum_{j=1}^K \sum_{i=1}^{n_j} (Y_{ij} - \bar{Y}_j)^2$	$S_E^2 = \frac{\sum E^2}{N-K}$	
Variation inter-groupes	K-1	$\sum C^2 = \sum T^2 - \sum E^2$	$S_C^2 = \frac{\sum C^2}{K-1}$	

2.3. Estimation du recouvrement moyen

Après avoir vérifié le test précédent, il est possible de calculer la valeur du recouvrement moyen et son intervalle de confiance d'après les formules suivantes :

En posant $Y = R\%$; N: nombre total de résultats; S_T : écart-type estimé total; t: lu dans la table

$$IR_m = Y_{moy} \pm \frac{t_{(\alpha, N-1)}}{\sqrt{N}} ST$$

$$Y_{moy} = \frac{\sum \sum Y_{ij}}{N}$$

$$ST = \sqrt{\frac{\sum \sum (Y_{ij} - Y_{moy})^2}{N-1}}$$

3. Fidélité

Les essais sont effectués sur des produits identiques, dans des circonstances présumées également identiques, ne conduisent généralement pas à des résultats identiques. Cela est dû à l'existence d'erreurs à caractère aléatoire, inhérente à toute méthode d'essai. Les facteurs susceptibles d'influer sur le résultat d'un essai ne peuvent pas, en effet, être tous contrôlés.

Dans l'interprétation pratique des résultats d'un essai, il est nécessaire de tenir compte de cette variabilité.

De nombreux facteurs (en dehors des erreurs de type systématique) peuvent contribuer à la variabilité d'une méthode d'essai, comprenant:

- l'opérateur
- l'équipement utilisé
- l'étalonnage de l'équipement
- L'environnement : température, humidité, pollution...
- Le temps
- Les réactifs

Cette variabilité est plus grande lorsque les essais à comparer ont été effectués par des opérateurs différents et/ou avec des instruments différents, que lorsqu'ils ont été obtenus par le même opérateur utilisant le même équipement.

La fidélité est un terme général s'appliquant à la variabilité entre des essais répétés. Elle fournit une indication sur les erreurs dues au hasard. La fidélité s'exprime par la mesure de la reproductibilité et de la répétabilité. Ces deux mesures extrêmes de la variabilité conviennent à la plupart des cas courants.

La répétabilité se rapporte à des essais de la même grandeur effectués dans des conditions aussi stables que possible et à de courts intervalles de temps, dans un même laboratoire, par un même opérateur employant le même équipement, tandis que la reproductibilité a trait à des essais effectués dans des conditions fortement variables, à des jours différents, dans différents laboratoires, avec des opérateurs différents et un équipement différent.

La répétabilité et la reproductibilité sont donc deux extrêmes, le premier mesurant la variabilité minimale des résultats et le seconde la variabilité maximale des résultats.

L'étude peut être réalisée sur la forme pharmaceutique reconstituée ou à partir d'une masse homogène du produit fini.

3.1. Test d'homogénéité des variances

Le test de Cochran permet d'identifier une ou des variances suspectes ou aberrantes dont la valeur est exceptionnellement faible bis à vis des autres p variances (p : nombre de séries et n : nombre de résultats d'essais de la série i).



$$C = \frac{s_{\max}^2}{\sum_{i=1}^p s_i^2} < C(\alpha, n, p)$$

Si le facteur C calculé est inférieur ou égal au facteur lu avec un risque α de 5% alors la variance testée est considérée comme correcte.

3.2. Recherche d'une moyenne suspecte ou aberrante « Test de GRUBBS simple »

Ce test permet d'identifier une ou des séries (cellules,...) suspectes ou aberrantes dont la moyenne est exceptionnellement faible ou forte vis-à-vis des moyennes des autres séries.

$$\frac{|\bar{y}_i - \bar{y}|}{s_{\bar{y}_i}} < G(\alpha; p)$$

où \bar{y}_i est la valeur moyenne de la série suspectée (moyenne max et/ou min)
 \bar{y} est la moyenne calculée total des N valeurs (moyenne des moyennes)
 $s_{\bar{y}_i}$ est l'écart-type déterminé sur les p moyenne \bar{y}_i

La valeur G ainsi calculée est comparée à la valeur lue dans un tableau de GRUBBS pour la probabilité considérée.

- Si le facteur de GRUBBS calculé est inférieur ou égal au facteur lu dans la table, alors la moyenne testée est considérée comme correcte au seuil de probabilité de 5%.
- Dans le cas contraire, la moyenne est dite suspecte ou aberrante selon le seuil considéré (5% ou 1%) et les valeurs de la série incriminée doivent être alors testées.

3.3. Recherche de valeurs suspectes ou aberrantes

Ce test permet d'identifier un ou des résultats suspects ou aberrants dont la valeur est exceptionnellement faible ou forte vis-à-vis des autres résultats d'essais de la série.

On applique également le test de GRUBBS sur les valeurs y_{ij} de la série incriminée :

$$\frac{|y_{ij} - \bar{y}_i|}{s_i} < G(\alpha, n)$$

où y_{ij} est la valeur max ou min suspectée de la série incriminée
 \bar{y}_i est la moyenne de la série incriminée
 s_i est l'écart-type déterminé sur les n valeurs de la série incriminée

- Si le facteur de GRUBBS calculé est inférieur ou égal au facteur lu dans la table alors les résultats de la série incriminée sont homogènes, la série est alors, soit :
 - Rejetée si elle est aberrante et est signalée par un double astérisque,
 - Gardée dans le traitement est dite suspecte et affectée d'un simple astérisque.
- Dans le cas contraire, la valeur est dite suspecte ou aberrante selon le seuil considéré (5% ou 1%) et la valeur sera alors rejetée.

3.4. Estimation de la répétabilité et de la reproductibilité



Estimation de l'écart type de répétabilité et de reproductibilité.

- L'écart type de répétabilité est calculé par la formule suivante :

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^p (n_i - 1) \cdot S_i^2}{\sum_{i=1}^p n_i - p}}$$

Cas particulier

$$S_r = \sqrt{\sum_{i=1}^p S_i^2}$$

Si n_i est identique dans chaque série (même répétition)

- L'écart type de reproductibilité est calculé par la formule suivante:

$$S_R = \sqrt{S_r^2 + S_L^2}$$

Avec :

$$S_L^2 = \frac{S_d^2 - S_r^2}{\bar{n}} \quad S_d^2 = [1/(p-1)] * \left[\sum_{i=1}^p n_i (\bar{Y}_i - \bar{Y})^2 \right] \quad \text{Si } S_L^2 < 0, S_R = S_r$$

$$\bar{n} = 1/p - 1 \left[N - \sum_{i=1}^p n_i^2 / N \right] \quad \text{Avec ; } N = \sum_{i=1}^p n_i$$



Cas particulier

Si n_i est identique dans chaque série (même répétition)

Remarque:

Généralement $S_R > S_r$

Si $S_L^2 < 0$, on prend $S_L^2 = 0$

————— $S_R \Rightarrow S_r$

$$\bar{n} = n$$

Estimation de répétabilité et de la reproductibilité:

- La répétabilité ou limite de répétabilité qui est l'écart maximum au niveau de confiance de 95% entre deux résultats obtenues dans des conditions de répétabilité est calculée par la formule suivante: $r = t(95, N-P) * \sqrt{2} * S_r = 2.83. S_r$
- La reproductibilité ou limite de reproductibilité qui est l'écart maximum au niveau de confiance de 95% entre deux résultats obtenues dans des conditions de reproductibilité est calculée par la formule suivante: $R = t(95, N-P) * \sqrt{2} * S_R = 2.83. S_R$

Remarque:

Si $R < r$, on prend $R = r$.

Aussi, on exprime les erreurs de répétabilité et de reproductibilité sous forme de coefficient de variation.

Répétabilité, $CV_r = 100 * S_r / m$

Reproductibilité: $CV_R = 100 * S_R / m$. [18]



Chapitre I : PROTOCOLE DE VALIDATION ANALYTIQUE DE LA METHODE DE DETERMINATION DES PRODUITS DE DEGRADATION DANS SCORT comprimés effervescents

Après avoir défini dans la partie bibliographique les grands traits du domaine pharmaceutique et de la validation analytique, nous développerons dans cette partie le travail qui est une série d'études expérimentales visant à évaluer les différentes étapes de la validation analytique de SCORT 20mg générique de PREDNISOLONE comprimés effervescents pour pouvoir le commercialiser.

1. Présentation de l'objet de validation

Médicament :

Le sujet d'étude se nomme « SCORT 20 mg comprimés effervescents »

Ce médicament est un corticoïde, il est indiqué dans certaines maladies, où il est utilisé pour son effet anti-inflammatoire.

Principe actif :

Prédnisolone 20,00 mg Sous forme de métasulfobenzoate sodique de prédnisolone

Formule Chimique :

11 bêta, 17 alpha, 21-trihydroxyprégna-1,4-diène-3,20-dione 21-(sodium m-sulfobenzoate)

2. Objectif de l'étude

Actuellement, la validation des méthodes analytiques est devenue une exigence dans les laboratoires pharmaceutiques. Cette étude qui est composée de plusieurs parties, a pour but de fournir un guide détaillé permettant de conduire la validation d'une méthode quantitative d'analyse.

L'objectif de ce travail est de valider la méthode de détermination des produits de dégradation du principe actif : Prédnisolone métasulfobenzoatesodique de SCORT 20 mg comprimés effervescents.

La technique instrumentale d'analyse utilisée pour cette étude est la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) avec un détecteur à barrette diodes.

Cette étude s'est déroulée en plusieurs étapes qui sont :

- Déterminer les produits de dégradation connus du principe actif de SCORT 20mg
- S'assurer de la spécificité de la méthode utilisée pour analyser SCORT 20mg par HPLC
- Valider la méthode par les critères de validation



3. Contraintes de l'étude

Il est facile de dire qu'une méthode d'analyse permet de déterminer et de quantifier tous les produits de dégradation d'un principe actif, mais comment ?

Le sujet de validation en question va nous prouver comment, ceci n'empêche qu'il y a plusieurs contraintes à surmonter, par exemple :

- Se baser sur la méthode du DMF qui permet de déterminer les impuretés du principe actif prédnisolone métrasulfobenzoate sodique
- Adapter cette méthode pour la détermination des produits de dégradation dans la matrice du produit fini
- Dégrader au maximum le principe actif ainsi que le placebo afin de détecter le maximum de produits de dégradation.



4. Matériel et méthode

Dans cette partie, on va présenter le matériel et la méthode utilisés pour mener cette étude.

4.1. Produits de dégradation connus de SCORT 20mg

Les produits de dégradation connus de SCORT 20mg selon le DMF sont :

- Acétate de prédnisolone
- Métsulfobenzoate d'hydrocortisone
- Prédnisolone [19]

4.2. Méthode analytique à valider

La méthode de détermination des produits de dégradation du principe actif : Prednisolone métsulfobenzoatesodique de SCORT 20 mg comprimés effervescents.

a) Equipement

- Chromatographe à phase liquide HPLC détecteur diodes ML223
- pH-mètre METTLER TOLEDO
- Balance METTLER TOLEDO

b) Réactifs

- Acétonitrile qualité HPLC
- Tétrahydrofurane
- Tétrabutylammonium sulfate acide
- HCl 0,1N
- NaOH 0,1N
- Thiosulfate de sodium 0,1N
- L'eau oxygénée H₂O₂ à 3% [19]

c) Phase mobile

- Eau purifié (H₂O).....670ml
- Acétonitrile (CH₃CN).....280 ml
- Tétrahydrofurane (THF).....50ml
- Tétrabutylammonium sulfate acide (TBS).....0,5g
- Solvant pour les essais : Phase mobile [19]

d) Conditions opératoires

- Colonne Modulo cart QS yperspher 5 C18 250 * 4,6 mm
- Débit : 1,5 ml/min
- Volume d'injection : 20 µl
- Température de thermotisation : 35°C
- Température de l'injecteur : 5°C
- Détection à 240 nm [19]

e) Norme

- La teneur en acétate de prédnisolone doit être $\leq 0,5\%$
- La teneur en métsulfobenzoatesodique d'hydrocortisone doit être $\leq 0,5\%$



- La teneur en prédnisolone doit être $\leq 0,5\%$ [19]

5. Essais préliminaires

Dans les essais préliminaires, on a appliqué le mode opératoire pour la détermination des produits de dégradation de SCORT comprimés effervescent selon le dossier technique du médicament fourni par la société.

Dans un premier lieu on a commencé par la spécificité et la sélectivité.

5.1. Spécificité

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

La démarche dans l'étude de la spécificité de la méthode de détermination des produits de dégradation du principe actif: Prédnisolone métrasulfobenzoatesodique de SCORT 20 mg comprimés effervescents, est de préparer des solutions de Témoin, Placebo, principe actif seul et la forme pharmaceutique Reconstitué, et de les analyser dans des conditions identiques. [19]

▪ Préparation du placebo

Le placebo est préparé en mélangeant tous les composants (excipients) de la spécialité SCORT 20mg comprimés effervescents, excepté le principe actif (Prédnisolone métrasulfobenzoate sodique). Les proportions à mettre en œuvre sont égales à celles normalement contenues dans SCORT comprimés effervescents.

Pour des raisons de confidentialité, les noms des matières premières rentrant dans la fabrication du comprimé effervescent SCORT au sein de MC PHARMA ne seront pas mentionnés dans cette partie du rapport.

▪ Préparation des essais de Spécificité

Les essais qu'on a injectés au premier lieu pour vérifier la Spécificité, ont été préparés selon le mode opératoire suivant :

- Blanc : Phase mobile (PM)
- Solution placebo (P): peser 202,65 mg de placebo, ajouter 10 ml de PM, mettre 5min à ultrason et compléter à 10ml avec la PM.
- Solution témoin (T): peser 20 mg de Prédnisolone métrasulfobenzoatesodique, ajouter 50ml de PM, mettre 5min à ultrason et compléter à 100 ml avec la PM, prendre 1 ml de cette solution et compléter à 100 ml avec la PM.
- Solution principe actif seul (PAS): peser 20,05mg de Prédnisolone métrasulfobenzoatesodique, ajouter 10 ml de PM, mettre 5min à ultrason et compléter à 20 ml avec la PM.
- Solution produit fini (PF): peser 222,4 mg de SCORT (PF), ajouter 10 ml de PM, mettre 5min à ultrason et compléter à 20ml avec la phase mobile. [20]

On injecte les solutions selon les conditions précédentes

▪ Critères d'acceptation

Dans le placebo, il ne doit apparaitre aucun pic ayant le même temps de rétention que le pic de PA présent dans la solution témoin. [20]

Résultats



Les essais de Spécificité ont présentés des pics de PAS et du Placebo bien séparés à la longueur d'onde de 240 nm.

Le tableau suivant présente les temps de rétention du PAS et du Placebo:

Tableau1 : Spécificité

Essais	Tr (min)	Conformité
Placebo	2,66 et 4,94	Pas d'interférence
Principe actif seul	16,54	

Voici les chromatogrammes qui montrent qu'il n'y a aucune interférence :

Sample Name: PLACEBO
Vial: 50
Injection #: 1
Injection Volume: 20.00 ul
Id 4811
Run Time: 20.0 Minutes
Longueur d'onde: 2998 Ch1 240nm@1.2nm

Chaine : Waters code ML 304
Méthode d'acquisition: VALIDATION_ANALYTIQUE
Date d'acquisition: 24/05/2011 10:35:31 WET
Id: 4685
Méthode d'intégration: RECHERCHE_IMPURETES
Date d'intégration: 25/05/2011 09:08:38 WET
Id: 5023

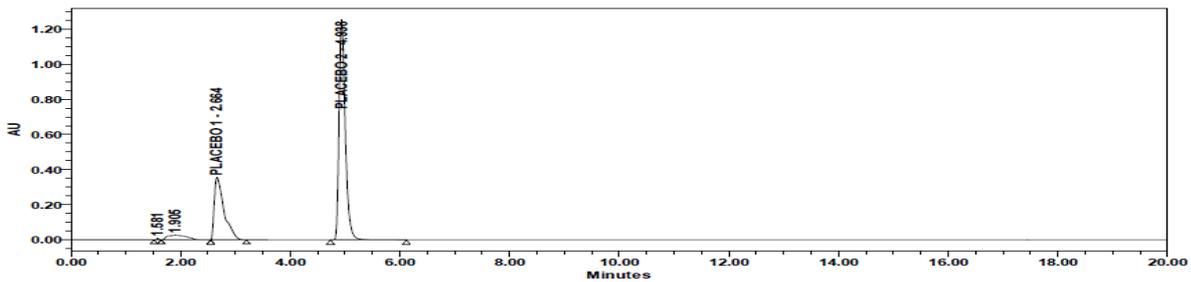


Figure 8 : Placebo

Sample Name: PAS
Vial: 52
Injection #: 1
Injection Volume: 20.00 ul
Id 4819
Run Time: 20.0 Minutes
Longueur d'onde: 2998 Ch1 240nm@1.2nm

Chaine : Waters code ML 304
Méthode d'acquisition: VALIDATION_ANALYTIQUE
Date d'acquisition: 24/05/2011 11:17:23 WET
Id: 4685
Méthode d'intégration: RECHERCHE_IMPURETES
Date d'intégration: 25/05/2011 09:08:55 WET
Id: 5023

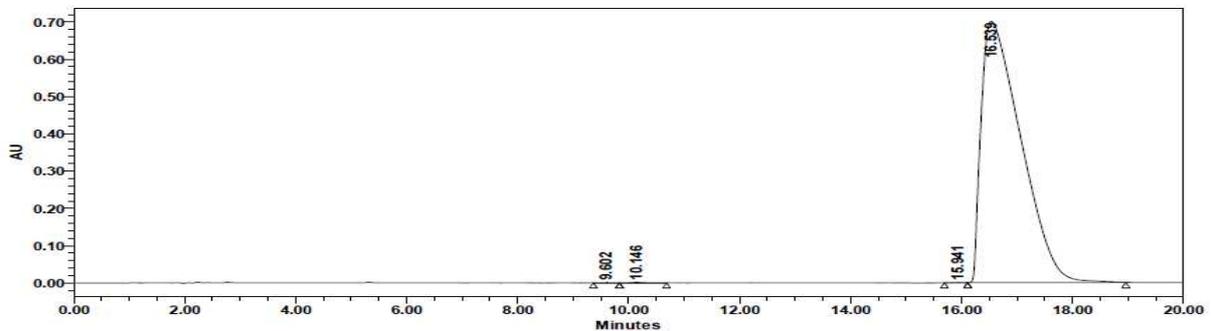


Figure 9 : Principe actif seul



Sample Name: PF
Vial: 53
Injection #: 1
Injection Volume: 20.00 µl
Id 4823
Run Time: 20.0 Minutes
Longueur d'onde: 2998 Ch1 240nm@1.2nm

Chaine : Waters code ML 304
Méthode d'acquisition: VALIDATION_ANALYTIQUE
Date d'acquisition: 24/05/2011 11:38:18 WET
Id: 4685
Méthode d'intégration: RECHERCHE_IMPURETES
Date d'intégration: 25/05/2011 09:09:05 WET
Id: 5023

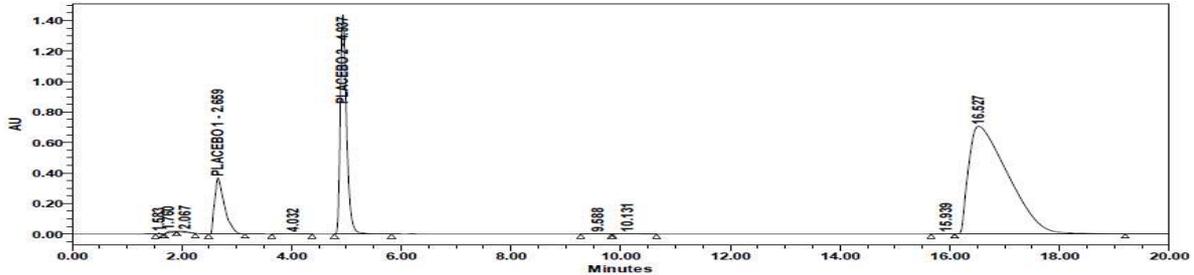


Figure 10 : Produit fini

■ Interprétation

Notre méthode est bien spécifique car elle ne montre aucune interférence entre les pics du placebo et du principe actif dans le produit fini.

5.2. Sélectivité

Consiste à différencier et quantifier l'analyte cible en présence d'interférents dans l'échantillon (par exemple, impuretés résultant de la fabrication ou de la dégradation du produit, ou constituants autres que l'analyte, que ces substances soient pharmacologiquement actives ou inertes). [19]

■ Mode opératoire

L'étude de la sélectivité consiste à préparer des solutions mères du placebo, principe actif et produit fini, chacune des solutions mères va être conservée dans des conditions de stress pertinentes. On utilisera 5 milieux et 2 températures pour dégrader au maximum la substance à analyser.

- Milieu acide HCl à 0,1N
 - Milieu basique NaOH à 0,1N
 - Milieu neutre H₂O
 - Milieu réducteur thiosulfate de sodium à 0,1N
 - Milieu oxydant H₂O₂ à 3%
- } à 25 et 80°C

■ Préparation des essais de Sélectivité : Conditions de stress

- Solution mère (PF) : peser 2227 mg de SCORT, ajouter 50 ml de PM, mettre 5 min à ultrason et compléter à 100 ml avec la PM.
- Solution mère (PAS) : peser 200,5 mg de prédnisolone métrasulfobenzosodique, ajouter 50 ml de PM, mettre 5 min à ultrason et compléter à 100 ml avec la PM.
- Solution mère (P) : peser 2026,5 mg de PLACEBO, ajouter 50 ml de PM, mettre 5 min à ultrason et compléter à 100 ml avec la PM.

Dans deux flacons, introduire 5ml de chaque solution mère et 5ml de chaque milieu de stress (acide, basique, neutre, réducteur, oxydant) séparément, maintenir un flacon à 25°C et l'autre à 80°C pendant 2 heures, ce qui donne pour chaque solution mère dix échantillons.

■ Critères d'acceptation



La comparaison entre les chromatogrammes des solutions doit démontrer qu'il n'existe aucune interférence entre les temps de rétention des produits de dégradation apparaissant dans les solutions et ceux de la substance active et du placebo.

Résultats

Dans le tableau suivant, on a rassemblé les résultats des cinq milieux de dégradation du principe actif seul :

▪ Profil de dégradation

Le tableau suivant présente le bilan des impuretés qui résultent de la dégradation du principe actif seul dans les cinq milieux de stress :



Tableau 2: Profil de dégradation

Milieu de stress	T°C	Temps de rétention des impuretés	Surface
Aqueux	25	Imp1=2,66 Imp2=5,13 Imp3=8,38	S1=4704 S2=3937 S3=19231
	80	Imp1=2,52; Imp4=5,14 Imp2=4,15; Imp5=8,02 Imp3=4,61; Imp6=8,36	S1=7316 ; S4=4619 S2=3023 ; S5=6880 S3=19395 ; S6=14877
Acide	25	Imp1= 3,25 Imp2=8,41	S1=4225 S2=23459
	80	Imp1=1,63 ; Imp8=6,07 Imp2=2,35 ; Imp9=6,63 Imp3=2,54 ; Imp10=7,26 Imp4=2,72 ; Imp11=8,05 Imp5=4,18 ; Imp12=8,39 Imp6=4,62 ; Imp13=12,55 Imp7=5,15 ; Imp14=15,65	S1=20758 ; S8=3730 S2=59446 ; S9=5709 S3=4500 ; S10=3858 S4=1444 ; S11=12295 S5=3265 ; S12=13692 S6=192254; S13=5084 S7=5855 ; S14=7609
Alcalin	25	Imp1=2,31 ; Imp6=4,60 Imp2=2,61, ; Imp7=4,98 Imp3=3,34 ; Imp8=6,05 Imp4=3,68 ; Imp9=7,25 Imp5=3,93 ; Imp10=10,25	S1=4834671; S6=18559 S2=185076 ; S7=2481268 S3=17992 ; S8=93538 S4=4867101 ; S9=1965984 S5=1984644 ; S10=934260
	80	Imp1=2,13 ; Imp8=5,36 Imp2=2,85 ; Imp9=6,04 Imp3=3,23 ; Imp10=7,24 Imp4=3,44 ; Imp11=7,89 Imp5=3,91 ; Imp12=9,87 Imp6=4,31 ; Imp13=11,14 Imp7=4,90 ; Imp14=14,17 Imp15=16,06	S1=4501332 ; S8=566349 S2=21151 ; S9=302398 S3=1236997; S10=5593378 S4=270282 ; S11=23803 S5=4544 ; S12=2126979 S6=982437 ; S13=12629 S7=691440 ; S14=9158 S15=200745
Réducteur	25	Imp1=1,89 ; Imp6=4,47 Imp2=2,12, ; Imp7=4,62 Imp3=2,99 ; Imp8=5,14 Imp4=3,31 ; Imp9=8,36 Imp5=3,47 ; Imp10=14,71	S1=1326324; S6=841 S2=7378028 ; S7=4834 S3=18723 ; S8=1480 S4=11653 ; S9=18469 S5=16201 ; S10=15429
	80	Imp1=1,89 ; Imp8=5,14 Imp2=2,12 ; Imp9=5,88 Imp3=2,99 ; Imp10=7,26 Imp4=3,31 ; Imp11=8,01 Imp5=3,49 ; Imp12=10,43 Imp6=4,33 ; Imp13=14,72 Imp7=4,60 ; Imp14=15,62 Imp15=19,17	S1=1520144 ; S8=1700 S2=7582898 ; S9=4117 S3=23375 ; S10=1201 S4=9504 ; S11=487988 S5=47261 ; S12=1700 S6=8671 ; S13=19810 S7=12309 ; S14=7939 S15=46126
Oxydant	25	Imp1=1,74 ; Imp7=3,67 Imp2=2,15 ; Imp8=4,17 Imp3=2,34 ; Imp9=4,48 Imp4=2,53 ; Imp10=5,06 Imp5=2,74 ; Imp11=7,26 Imp6=3,23 ; Imp12=8,34	S1=4724674 ; S7=1688 S2=10243 ; S8=2440 S3=9231 ; S9=76855 S4=7887 ; S10=1207 S5=34998 ; S11=7070 S6=3577 ; S12=19817
	80	Imp1=1,74 ; Imp9=7,26	S1=4936543 ; S9=81907



		Imp2=2,56 ; Imp10=8,01 Imp3=4,19 ; Imp11=8,35 Imp4=4,61 ; Imp12=10,40 Imp5=5,25 ; Imp13=15,63 Imp6=5,61 ; Imp14=16,54 Imp7=6,03 ; Imp15=18,19 Imp8=6,76 ; Imp16=19,19	S2=17703 ; S10=7901 S3=3672 ; S11=16096 S4=22967 ; S12=2834 S5=10913 ; S13=3356 S6=14919 ; S14=5835 S7=9718 ; S15=6859 S8=6030 ; S16=301
--	--	---	--

▪ **Interprétation**

D'après ce tableau, on constate que le principe actif prédnisolone métasulfobenzoatesodique se dégrade dans tous les milieux de stress, et d'après les chromatogrammes, il se dégrade complètement dans le milieu alcalin.

Dans le tableau suivant on a le bilan des impuretés qui sont en interférence avec les pics du placebo dans les cinq milieux de stress :

Tableau 3 : Dégradation du PAS dans les cinq milieux de stress

Milieu de stress	Temps de rétention (Tr) + Surface (S)			
	Tr + S des produits de dégradation présentant une interférence avec le placebo	Tr + S PLACEBO	Tr + S Principe actif	Conformité d'interférence avec le placebo
Neutre à 80°C	{ Imp1=2,52 S(imp1)=7316 Imp2=4,61 Simp2=19395	{ P1=2,66mn S1=3873838 P2=4,50mn S2=9825556	PA=13,35 SPA=27358555	OUI
Acide à 80°C	{ Imp1=2,72 Simp1=1444 Imp2=4,62 Simp2=192254	{ P1=2,66mn S1=3873838 P2=4,50mn S2=9825556	PA=13,40 SPA=27760247	OUI
Alcalin à 80°C	{ Imp1=2,85 Simp1=21151 Imp2=4,31 Simp2=982437	{ P1=2,66mn S1=3873838 P2=4,50mn S2=9825556	PA=13,63 SPA=3287	OUI
Réducteur	Aucun	{ P1=2,66mn S1=3873838 P2=4,50mn S2=9825556	PA=13,32 SPA=27733799	NON
Oxydant à 25°C	{ Imp1=2,74 Simp1=34998 Imp2=4,48 Simp2=76855	{ P1=2,66mn S1=3873838 P2=4,50mn S2=9825556	PA=13,32 SPA=27694645	OUI

▪ **Interprétation**



La comparaison des chromatogrammes à 240 nm des essais de Sélectivité nous a permis d'identifier les produits de dégradation présents dans la matrice complexe que peut représenter le produit fini.

Lors de cette analyse, on a eu les résultats suivants :

- Dans le milieu acide HCL 0,1N à 80°C il y a une interférence entre les deux pics résultant de la dégradation du PAS et les deux pics du placebo.
- Dans le milieu alcalin NaOH 0,1N à 80°C il y a une interférence entre les deux pics résultant de la dégradation du PAS et les deux pics du placebo. NB : le principe actif se dégrade complètement dans le milieu basique.
- Dans le milieu aqueux il y a une interférence entre les produits de dégradation et les pics du placebo, mais comme les surfaces des impuretés sont très petites par rapport à la surface du principe actif, on peut les considérer comme insignifiantes.
- Dans le milieu réducteur il n'y a eu aucune interférence
- Dans le milieu oxydant H₂O₂ à 3% à 25°C il y a une interférence entre les deux pics résultant de la dégradation du PAS et les deux pics du placebo.

Conclusion

Ces résultats nous ont poussés à arrêter l'analyse afin de chercher la cause de cette interférence.

Cette interférence met en doute la fiabilité de la méthode, ce qui nous renvoi à valider ou ne pas valider ces résultats.

Pour cela nous devons approfondir les recherches dans ce sens pour déterminer la cause de ce chevauchement :

- Est-il dû à la phase mobile ?
- Est-il dû à nature de la colonne ?
- Est-il dû au choix du diluant ? Ou bien c'est une simple contamination des solutions ?

La cause de la contamination des solutions est écartée dans notre cas parce qu'on a re préparé et réinjecté les solutions plusieurs fois de la même manière et dans les mêmes conditions, pour s'assurer de la répétabilité de l'analyste et de la machine.

Pour lever cette ambiguïté, nous proposons un plan d'action résumant toutes les étapes qui ont été effectuée en vue de développer cette méthode.



Chapitre II : RECHERCHE ET DEVELOPPEMENT DE LA METHODE DE DETERMINATION DES PRODUITS DE DEGRADATION DANS SCORT

1. Objectif

A partir des essais préliminaires qu'on a effectués, il s'est avéré que notre méthode n'est pas spécifique, car il existe une interférence entre les pics de quelques produits de dégradation dans certains milieux de stress, et les pics du placebo, ce qui a engendré l'arrêt de l'étude. Le but de cette partie de recherche est de développer notre méthode de manière à ce qu'on obtient une qui est plus fiable et spécifique, c'est-à-dire une méthode qui ne montre aucune interférence entre les pics du placebo et du principe actif et les pics des produits de dégradation dans les différents milieux de stress, afin de pouvoir la valider par les critères de validation et qui peut être considérée comme une méthode de routine applicable au sein du laboratoire de la société.

2. Démarche à suivre : Etude de l'interférence

L'étude de l'interférence est l'étape bloquante de cette étude, donc pour réaliser cet objectif, on a adopté un plan d'action composé de plusieurs étapes. Dans un premier temps on a essayé de tâtonner par quelques essais, et à partir des résultats qu'on a obtenus, on a trouvé une base logique sur laquelle on a travaillé pour trouver la méthode adéquate.

Dans ce plan d'action on a essayé de varier les proportions de l'eau, de l'acétonitrile, du Tétrahydrofurane et Tétraabutylammonium sulfate acide dans la phase mobile.

2.1. Modification d'un seul paramètre

Dans ces essais on a modifié les proportions de chaque composant de la phase mobile, un par un et on a observé l'effet de ces modifications sur la résolution.

Le tableau suivant résume l'ensemble des modifications effectuées :

Tableau 4 : Modification d'un seul paramètre

MODIFICATION	EFFET SUR LA RESOLUTION
Ajout de l'eau	<ul style="list-style-type: none">- Retarde le pic du principe actif- Chevauchement entre l'imp1 dans le milieu acide et le pic1 du placebo
Ajout de l'acétonitrile	Chevauchement entre l'imp2 dans le milieu acide et le pic2 du placebo
Ajout de TBS	<ul style="list-style-type: none">- Chevauchement entre l'imp1 dans le milieu acide et le pic1 du placebo- Chevauchement entre l'imp2 dans le milieu acide et le pic2 du placebo
Diminution de la quantité du TBS	Le pic du principe actif sort très tôt
Ajout de THF	Chevauchement entre l'imp2 dans le milieu acide et le pic2 du placebo



▪ **Interprétation**

Les résultats de cette série d'essais ne sont pas satisfaisants, car l'interférence entre le pic1 du placebo et l'impureté1 dans le milieu acide, et entre le pic2 du placebo et l'impureté2 dans le milieu acide persiste toujours.



2.2. Modification de deux paramètres à la fois

Dans ces essais on a modifié les proportions de deux composants de la phase mobile à la fois par différentes combinaisons et on a observé l'effet de ces modifications sur la résolution.

Le tableau suivant résume l'ensemble des modifications effectuées :

Tableau 5 : Modification de deux paramètres à la fois

MODIFICATION	EFFET SUR LA RESOLUTION
Ajout de l'eau et de l'acétonitrile	- Chevauchement entre l'imp1 dans le milieu acide et le pic1 du placebo - Chevauchement entre l'imp2 dans le milieu acide et le pic2 du placebo
Ajout de l'eau et diminution de THF	- Chevauchement entre l'imp1 dans le milieu acide et le pic1 du placebo
Ajout de l'eau et de TBS	- Chevauchement entre l'imp1 dans le milieu acide et le pic1 du placebo - Chevauchement entre l'imp2 dans le milieu acide et le pic2 du placebo

▪ Interprétation

Les résultats de cette série d'essais ne sont pas satisfaisants, car l'interférence entre le pic1 du placebo et l'impureté1 dans le milieu acide, et entre le pic2 du placebo et l'impureté2 dans le milieu acide persiste toujours.

2.3. Modification de trois paramètres à la fois

Dans ces essais on a modifié les proportions de deux composants de la phase mobile à la fois par différentes combinaisons et on a observé l'effet de ces modifications sur la résolution.

Le tableau suivant résume l'ensemble des modifications effectuées :

Tableau 6 : Modification de trois paramètres à la fois

MODIFICATION	EFFET SUR LA RESOLUTION
Ajout de l'eau de l'acétonitrile et de TBS	- Chevauchement entre l'imp2 dans le milieu acide et le pic2 du placebo
Ajout de l'eau de l'acétonitrile et de THF	- Chevauchement entre l'imp1 dans le milieu acide et le pic1 du placebo
Ajout de l'eau de l'acétonitrile et de TBS en excès	- Chevauchement entre l'imp2 dans le milieu acide et le pic2 du placebo

▪ Interprétation

Les résultats de cette série d'essais ne sont pas satisfaisants, car l'interférence entre le pic1 du placebo et l'impureté1 dans le milieu acide, et entre le pic2 du placebo et l'impureté2 dans le milieu acide persiste toujours.



2.4. Modification des proportions de la phase mobile

Dans ces essais, on a travaillé sur les proportions de la phase mobile. L'effet de ces modifications a donné des résultats assez satisfaisants.

Le tableau suivant résume l'ensemble des modifications effectuées :



La phase mobile initiale :

- Eau purifié (H₂O).....670ml
- Acétonitrile (CH₃CN).....280 ml
- Tétrahydrofurane (THF).....50ml
- Tétrabutylammonium sulfate acide (TBS).....0,5g

Tableau 7 : Modification des proportions de la phase mobile

MODIFICATION	EFFET SUR LA RESOLUTION
- Eau.....670ml - CH ₃ CN.....240ml - THF.....60ml - TBS.....0,5g	Mauvaise résolution
- Eau.....700ml - CH ₃ CN.....240ml - THF.....60ml - TBS.....0,5g	Bonne résolution

Après avoir trouvé la méthode adéquate et fiable, on pourrait maintenant la valider.

▪ **Interprétation**

Les résultats de cette série d'essais sont satisfaisants, car il n'y a aucune interférence entre le pic1 du placebo et l'impureté1 dans le milieu acide, et entre le pic2 du placebo et l'impureté2 dans le milieu acide ou dans n'importe quel autre milieu de stress.

Conclusion

Après avoir trouvé la méthode adéquate et fiable, on pourrait maintenant passer maintenant à l'étape de la validation.



Chapitre III : DEMARCHES TECHNIQUES ET STATISTIQUES DE LA VALIDATION

Les critères de validation de la méthode de détermination des produits de dégradation du principe actif : Prednisolone métrasulfobenzoatesodique de SCORT 20 mg comprimés effervescents sont les suivants :

1. Spécificité

Après avoir trouvé la méthode adéquate, on a réinjecter les essais de sélectivité selon les conditions optimales trouvées pour vérifier si effectivement c'est la bonne méthode.

Résultats

Sample Name:	PAS HCL 80°C	Chaîne :	Waters code ML 304
Vial:	70	Méthode d'acquisition:	VALIDATION_ANALYTIQUE
Injection #:	1	Date d'acquisition:	24/05/2011 17:33:59 WET
Injection Volume:	20.00 ul	Id:	4685
	Id 4893	Méthode d'intégration:	RECHERCHE_IMPURETES
Run Time:	20.0 Minutes	Date d'intégration:	25/05/2011 09:07:42 WET
Longueur d'onde:	2998 Ch1 240nm@1.2nm	Id:	5023

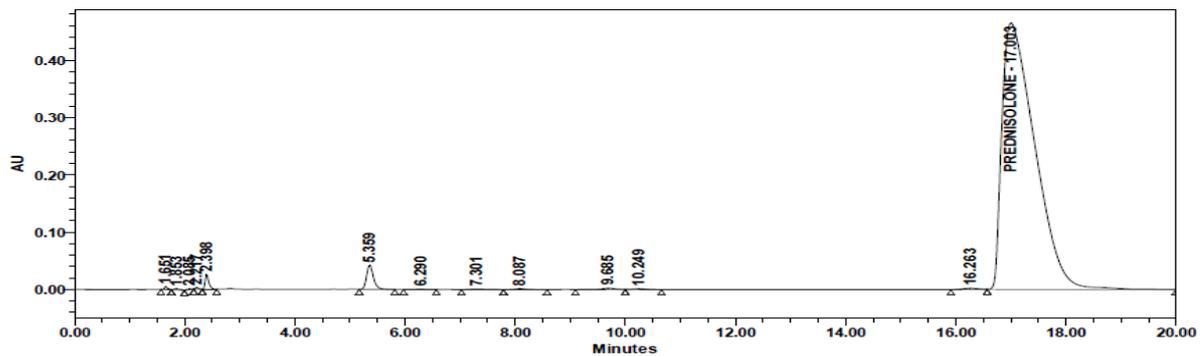


Figure 11 : Principe actif seul dans HCl 0,1N à 80°C



Sample Name: PAS NAOH 80°C
Vial: 72
Injection #: 1
Injection Volume: 20.00 ul
Id 4901
Run Time: 20.0 Minutes
Longueur d'onde: 2998 Ch1 240nm@1.2nm

Chaine : Waters code ML 304
Méthode d'acquisition: VALIDATION_ANALYTIQUE
Date d'acquisition: 24/05/2011 18:15:51 WET
Id: 4685
Méthode d'intégration: RECHERCHE_IMPURETES
Date d'intégration: 25/05/2011 09:14:28 WET
Id: 5048

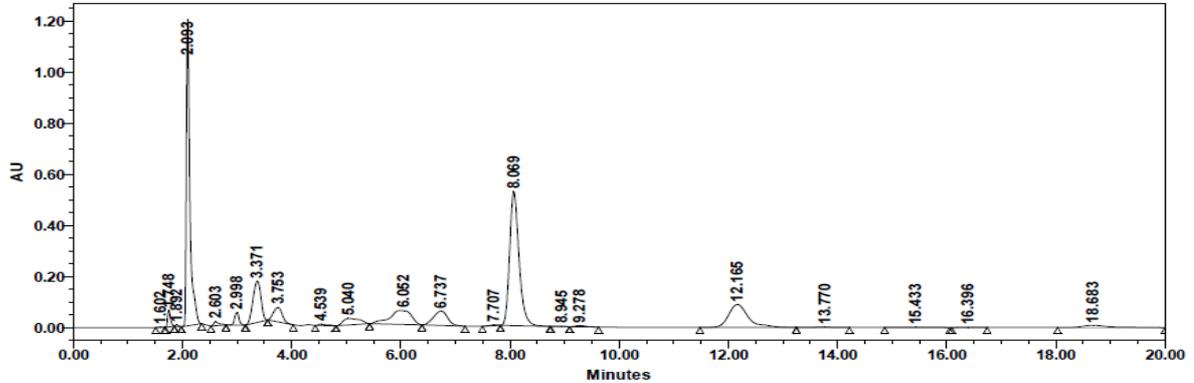


Figure 12 : Principe actif seul dans NaOH 0,1N à 80°C

Sample Name: PAS H2O2 25°C
Vial: 77
Injection #: 1
Injection Volume: 20.00 ul
Id 4980
Run Time: 20.0 Minutes
Longueur d'onde: 2998 Ch1 240nm@1.2nm

Chaine : Waters code ML 304
Méthode d'acquisition: VALIDATION_ANALYTIQUE
Date d'acquisition: 25/05/2011 13:59:34 WET
Id: 4685
Méthode d'intégration: RECHERCHE_IMPURETES
Date d'intégration: 25/05/2011 15:19:11 WET
Id: 5023

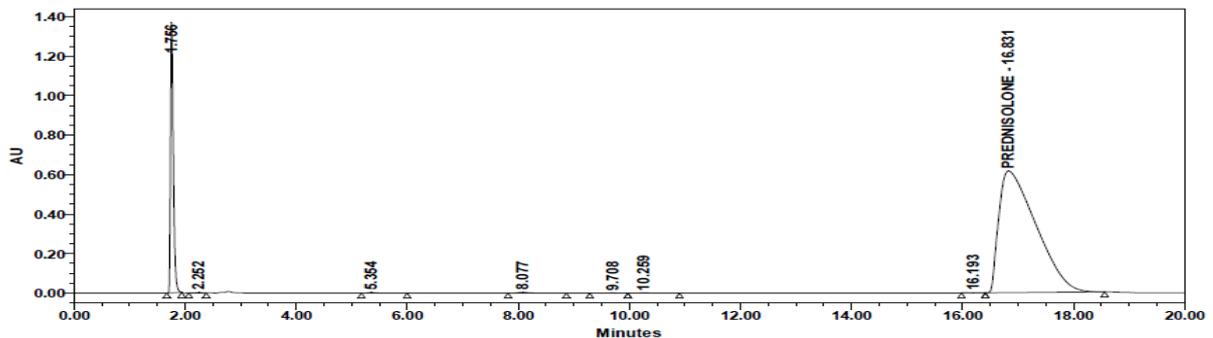


Figure 13 : Principe actif seul dans H₂O₂ à 3% à 25°C

Ces chromatogrammes sont relatifs aux milieux de stress critiques, qui présentait un problème d'interférence entre quelques pics des produits de dégradation du principe actif seul et les pics du placebo, à savoir : le milieu acide à 80°C, le milieu alcalin à 80°C et le milieu oxydant à 25°C.

D'après les chromatogrammes des essais de sélectivité, il n'y a aucune interférence entre les pics des produits de dégradation du principe actif et les pics du placebo et du principe actif, donc on peut considérer notre méthode comme une méthode spécifique.

2. Seuil de détection



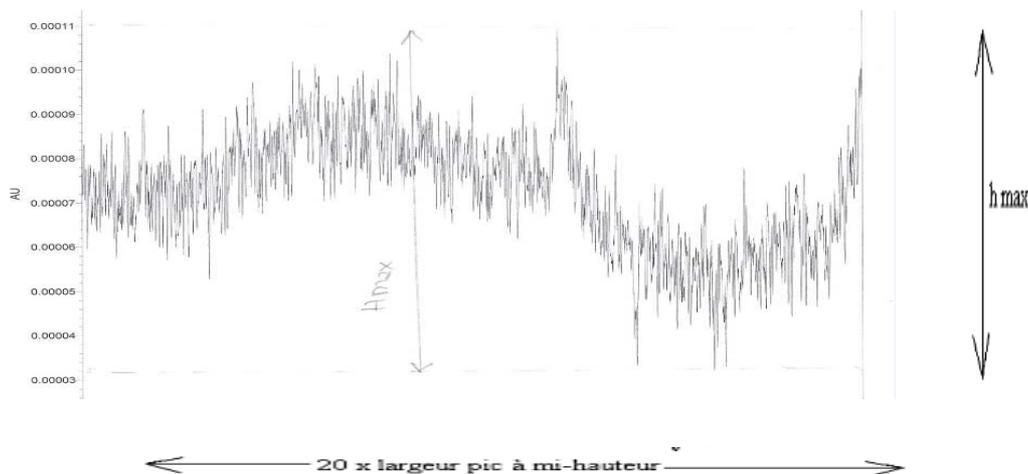
C'est la plus petite quantité d'une substance à examiner dans un échantillon pouvant être détectée mais non quantifiée comme une valeur exacte.

▪ **Principe**

Le seuil de détection est ici déterminé à partir d'un enregistrement graphique :

- Un enregistrement de blanc d'analyse est effectué en suivant la procédure complète d'analyse sur un échantillon contenant l'ensemble des constituants, à l'exception de la substance à rechercher.
- L'amplitude maximale h_{\max} du signal est déterminée sur une distance égale à 20 fois la largeur à mi-hauteur du pic correspondant à la substance à rechercher. (Voir annexes)

Examen de l'enregistrement :



Le seuil de détection SD est estimé par : $SD = 3 \times h_{\max} \times R$

(R = facteur de réponse quantité/signal pour la substance analysée, exprimé en hauteur ; R est ici déterminé à partir d'une solution de 100%, injectée pour l'étude de linéarité du composant seul).

Norme : Le seuil de détection doit être $< 2\mu\text{g/ml}$

Résultats : $h_{\max} = 0,000078 \mu\text{v}$
 $R = 0,8$

$$SD = 0,0001872 = 0,01872\%$$

Le seuil de détection $SD < 2\mu\text{g/ml}$, donc elle suit la norme

3. Seuil de quantification

C'est la plus petite quantité d'une substance à examiner pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites, avec une fidélité et une exactitude définies.

▪ **Principe**

Le seuil de quantification (SQ) est ici déterminé à partir d'un enregistrement graphique.



Il est estimé par : $SQ = \frac{10 \times SD}{3}$

NB : La valeur h_{max} utilisée pour l'estimation du seuil de quantification est la même que celle déterminée pour l'estimation du seuil de détection.

Résultats : **SQ = 0,000624 = 0,0624%**

Le seuil de quantification $SQ < 2\mu\text{g/ml}$, donc elle suit la norme

4. Linéarité

La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité (à l'intérieur d'un certain intervalle) à obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration (quantité) en substance à examiner dans l'échantillon.

▪ Mode opératoire

L'étude est réalisée sur le principe actif seul et la forme pharmaceutique reconstituée. Cinq échantillons contenant respectivement environ 60, 80, 100, 120 et 140% de la quantité théorique de principe actif sont préparés et analysés, soit au total 10 échantillons. Cette opération est répétée deux autres fois à raison d'une fois par jour avec des colonnes chromatographiques différentes chaque jour.

On prend 5 points, 5 solutions étalons de PAS pour gamme d'étalonnage

- Gamme entre 60 à 140 % de la dose cible.
- Pour dose cible 20 mg/l = on prend 12 - 16 - 20 - 24 - 28 mg/l

▪ Préparations des essais

- Solution mère placebo : peser 10132,5 mg de placebo, ajouter 100ml de phase mobile, mettre 5 min à ultrason et compléter à 500 ml avec le même solvant.
- Solution mère PA : peser une prise d'essai (Pe) relative à la concentration voulu, ajouter 50 ml de phase mobile, mettre 5 min à ultrason et compléter à 100 ml avec le même solvant.

Le mode opératoire effectué pour les essais de linéarité est résumé dans les tableaux suivants :

Tableau 8 : Linéarité du principe actif seul (PAS)

Concentration	Pe (PA)	SM (PA)	Dilution
60%	12 mg	Pe (PA) dans 100ml	1 ml SM(PA) dans 100ml
80%	16 mg		
100%	20 mg		
120%	24 mg		
140%	28 mg		

Tableau 9 : Linéarité de la forme pharmaceutique reconstituée (FPR)



Concentration	Pe (PA)	SMP	SM (PA)	Dilution
60%	12 mg	Pe= 10132,5 mg dans 100 ml	Pe (PA) dans 100 ml	1 ml SM (PA) + 50 ml SMP dans 100 ml
80%	16 mg			
100%	20 mg			
120%	24 mg			
140%	28 mg			

SMP : Solution mère placebo ; **Pe** : prise d'essai ; **SM (PA)** : Solution mère principe actif

Etude statistique de la linéarité

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

▪ Stratégie statistique de la linéarité

Vérification de la linéarité de la gamme principe actif seul PAS (D1) et de la gamme forme pharmaceutique reconstituée (D2) en calculant le coefficient de corrélation de la droite de régression D1 et D2 ;

- Faire une étude de la régression linéaire sur l'ensemble des résultats ;
- Effectuer les tests suivants sur D1 et D2 :
 - test de comparaison de l'ordonnée à l'origine avec 0 (Student)
 - test d'homogénéité de variances (Cochran)
 - test d'existence de pente significative (Fisher)
 - test de validité de la droite de régression (Fisher)
- Comparer les deux droites de régression D1 et D2 : test de différence sur les ordonnées à l'origine et sur les pentes

4.1. Principe actif seul

Ce jeu de données regroupe 15 valeurs indépendantes : 5 points de gamme (60, 80, 100, 120, 140) avec 3 valeurs par point de gamme (sur 3 séries à raison d'une valeur par série).

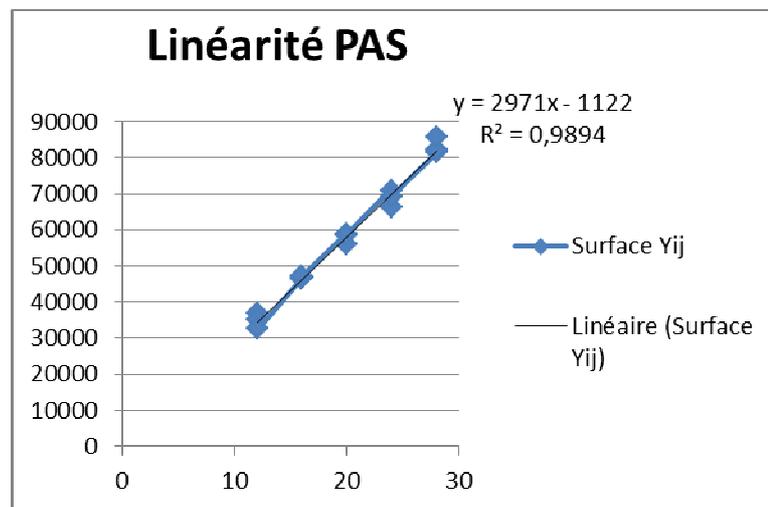
Les données brutes sont indiquées dans le tableau suivant :

Concentration	Pesée (x)	Réponse (y)
60	12	36964
	12	35164
	12	32483
80	16,01	46683
	16	46285
	16	47080
100	20,01	58932
	20	56050
	20	58625
120	24,01	71073
	24	66459
	24	69278
140	28	81453
	28	82379
	28	85657

Tableau 10 : Données de linéarité

Figure 14 : la droite de régression (PAS)

Les coefficients de la droite de





régression:

L'équation de la droite est : $y = 2971x - 0,9894$

Le coefficient de corrélation (r) est de : 0,9894

b) Test d'homogénéité des variances (Test de COCHRAN)

Concentration	Pe	Surface Yij	Ȳi	Si²
60%	12	36964	34870,33	5084520,33
	12	35164		
	12	32483		
80%	16,01	46683	46682,67	158006,33
	16	46285		
	16	47080		
100%	20,01	58932	57869	2505133
	20	56050		
	20	58625		
120%	24,01	71073	68936,67	5409630,33
	24	66459		
	24	69278		
140%	28	81453	83163	4879396
	28	82379		
	28	85657		

TEST DE COCHRAN			
S²max	ΣSi²	C1calculé	C (5%, 3, 5)
5409630,33	18036686	0,30	0,684

Conclusion : Le tableau de Cochran présenté montre que $C_{calculé} < C_{théorique}$ (0.05;3;5) donc l'ensemble des variances pour l'ensemble des points de gamme de l'intervalle étudié sont homogènes.

c) Test de l'existence d'une pente significative (Test de FISHER)

Ce test permet de comparer les variations dues à la régression et aux erreurs

Source de variation	SCE	DDL	Variances	F1	F (5%, 1, 13)
Résiduelle	45348359,1	13	3488335,32	1214,60	4,67
Régression (linéaire)	4236939496	1	4236939496		
Totale	4282287855	14			

Conclusion : Le tableau de Fischer présente un $F_{calculé} > F_{théorique}$ (0.05 ; 1 ; 13) ce qui permet de conclure à l'existence d'une pente au seuil de 5% Il existe donc une relation entre les X_{ij} et les Y_{ij} .

d) Test de validité de la droite de régression

Il permet de comparer les erreurs dues à la régression et les erreurs expérimentales



Source de variation	SCE	DDL	Variances	Fnl	F (5%, 3, 10)
Résiduelle	45348411,1	13	3488339,32	0,003	3,70
Expérimentale	1,0071E+10	10	1007058235		
Erreur modèle (non linéaire)	9465112,5	3	3155037,5		

Concentration	Pesée (x)	Réponse (y)
60	12	37098
	12	34290
	12	35790
80	16,01	47387
	16	45192
	16	47727
100	20,01	56412
	20	56041
	20	57896
120	24,01	69386
	24	70860
	24	71073
140	28	78214
	28	82504
	28	82886

Conclusion : Le tableau de Fischer présente un $F_{\text{calculé}} < F_{\text{théorique}}$ (0,05 ; 3 ; 10) permet de conclure que l'ajustement peut être considéré comme valide. Il existe donc une relation linéaire entre les X_{ij} et les Y_{ij} .

4.2. La forme pharmaceutique reconstituée

Ce jeu de données regroupe 15 valeurs indépendantes : 5 points de gamme (60, 80, 100, 120, 140) avec 3 valeurs par point de gamme (sur 3 séries à raison d'une valeur par série).

Les données brutes sont indiquées dans le tableau suivant :

Tableau 11 : Linéarité: Données régression linéaire

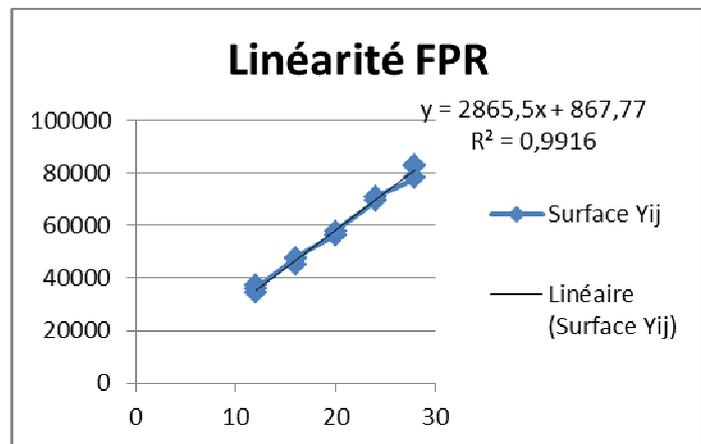


Figure 15 : la droite de régression (FPR)
Les coefficients de la droite de régression:
 L'équation de la droite est : $y = 2865,5x + 867,77$

Le coefficient de corrélation (r) est de : 0,9916

b) Test d'homogénéité des variances (Test de COCHRAN)



Concentration	PE	Surface Yij	\bar{Y}_i	S_i^2
60%	12	37098	35726	1974288
	12	34290		
	12	35790		
80%	16,01	47387	46768,67	1893308,33
	16	45192		
	16	47727		
100%	20,01	56412	56783	963487
	20	56041		
	20	57896		
120%	24,01	69386	70439,67	844002,33
	24	70860		
	24	71073		
140%	28	78214	81201,33	6729601,33
	28	82504		
	28	82886		



TEST DE COCHRAN			
S ² max	ΣSi ²	C1calculé	C (5%, 3, 5)
6729601,33	12404687	0,54	0,684

Conclusion : Le tableau de Cochran présenté montre que $C_{calculé} < C_{théorique}$ (0.05;3;5) donc l'ensemble des variances pour l'ensemble des points de gamme de l'intervalle étudié sont homogènes au seuil de

5%.

c) Test de l'existence d'une pente significative (Test de FISHER)

Ce test permet de comparer les variations dues à la régression et aux erreurs

Source de variation	SCE	DDL	Variances	F1	F (5%, 1, 13)
Résiduelle	33351898,5	13	2565530,65	1536,27	4,67
Régression (linéaire)	3941357672	1	3941357672		
Totale	3974709571	14			

Conclusion : Le tableau de Fischer présente un $F_{calculé} > F_{théorique}$ (0.05 ; 1 ; 13) ce qui permet de conclure à l'existence d'une pente au seuil de 5% Il existe donc une relation entre les Xij et les Yij.

d) Test de validité de la droite de régression

Ce test permet de comparer les erreurs dues à la régression et les erreurs expérimentales.

Source de variation	SCE	DDL	Variances	Fnl	F (5%, 3, 10)
Résiduelle	33351898,5	13	2565530,65	1,14	3,70
Expérimentale	24809374	10	2480937,4		
Erreur modèle (nn linéaire)	8496313,3	3	2832104,43		

Co

Conclusion : Le tableau de Fischer présente un $F_{calculé} < F_{théorique}$ (0.05 ; 3 ; 10) permet de conclure que l'ajustement peut être considéré comme valide. Il existe donc une relation linéaire entre les Xij et les Yij.

4.3. Comparaison entre principe actif et produit pharmaceutique reconstitué

Après avoir vérifié que les deux jeux de données suivent un modèle linéaire, l'objectif est de démontrer l'inexistence d'un effet de matrice (pentes statistiquement non différentes) et l'inexistence d'une erreur systématique (ordonnées à l'origine statistiquement non différentes).

Comparaison des droites D1 et D2

a) Comparaison des pentes a1 et a2 (Test de Student)

La comparaison des pentes a1 et a2 s'effectue avec un test t :



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

D1: droite de régression correspondant au principe actif seul ;

D2 : droite de régression correspondant à la FPR

a1 : la pente de la droite D1 ;

a2 : la pente de la droite D2 ;

S²a1 : variance de la pente de la droite D1 ;

S²a2 : variance de la pente de la droite D2 ;

	D1	D2
Pente b	2971,01883	2865,51
S²b	31491,9003	47,34
N	15	15
t	0,60	
t(95%,N-4)	2,05	

Conclusion : Le tableau présente tcalculé < t (0,05; 11) ce qui permet de conclure que les pentes ne sont pas significativement différentes (pas d'effet de matrice).

b) Comparaison des ordonnées à l'origine b1 et b2 (Test de STUDENT)

La comparaison des ordonnées à l'origine a₁ et a₂ s'effectue avec un test t :

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

Avec:

b1 : l'ordonnée à l'origine de la droite D1 ;

b2 : l'ordonnée à l'origine de la droite D2 ;

S²b1 : variance de l'ordonnée à l'origine de la droite D1 ;

S²b2 : variance de l'ordonnée à l'origine de la droite D2 ;

	D1	D2
Ordonné b	-1121,98	867,76
S²b	13607020,9	968459,79
N	15	15
t	0,52	
t(95%,N-4)	2,05	

Conclusion : Le tableau présente tcalculé < t (0,05; 11) ce qui permet de conclure que les ordonnées à l'origine ne sont pas significativement différentes (pas d'erreur systématique).

c) Comparaison des ordonnées à l'origine b1 et b2 avec zéro

Une fois démontrée qu'il existe bien une relation linéaire entre les X_{ij} et les Y_{ij}, il doit être vérifié que l'ordonnée à l'origine de la droite n'est pas statistiquement différente de 0.

Cette vérification se fait par un test de STUDENT. Il doit être non significatif au seuil de 5 %.

	D1	D2
Ordonné b	-1121,98	867,76
S²b	13607020,9	968459,79
N	15	15
t	0,30	0,88
t(95%,N-2)	2,16	2,16

Conclusion : Le tableau présente un tcalculé < t_{théorique} (0.05 ; 13) ce qui permet de conclure que les deux ordonnées à l'origine ne sont pas significativement différentes de 0 au seuil de 5 %.

4.4. Synthèse

Tableau 12 : Linéarité: Etude statistique



	PAS	FPR
Pente des droites a	2971,01	2865,51
Variance de la pente des droites Sa²	31491,90	2241,40
Ordonnées à l'origine des droites b	-1121,98	867,76
Variance des ordonnées à l'origine Sb²	13607020,91	968459,79
Coefficient de corrélation r	0,99	0,99
Variance Résiduelle Sr²	15116119,7	1075867,69

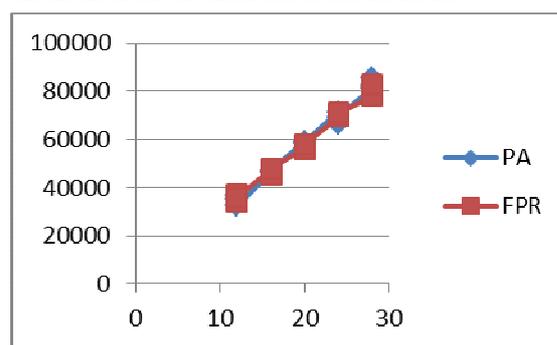


Figure 16 : Linéarité PAS et FPR

Conclusion

Après cette étude statistique complète de la linéarité, on peut dire que notre méthode est linéaire.
 (Chromatogrammes de linéarité : Annexes)

5. Exactitude

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnelle vraie, soit comme une valeur de référence acceptée, et la valeur trouvée obtenue en appliquant la procédure d'analyse un certain nombre de fois.

▪ Principe

La démarche de l'analyse statistique est donc de démontrer statistiquement que la méthode est exacte.

Cette exactitude se calcul sur les données du composant dans la forme reconstituée.

Elle s'exprime par un recouvrement moyen accompagné de son intervalle de confiance à 95%.

La première étape est de calculer les valeurs de recouvrement entre les pesées retrouvées grâce au jeu de données de référence considérée, et les pesées introduites. Ces recouvrements (en %) se déterminent pour chacun des 5 points de gamme du composant dans la forme reconstituée.

Deux systèmes de référence peuvent être considérés :

- Point de gamme 100% de l'étude de la linéarité du composant seul
- Droite de l'étude de la linéarité du composant seul

Etude statistique

La démarche de l'analyse statistique est donc de démontrer statistiquement que la méthode est exacte.

▪ Stratégie statistique de l'exactitude

Vérification de la l'exactitude de la gamme forme pharmaceutique reconstituée par :

- Test d'homogénéité de variances (COCHRAN)
- Test de validité des moyennes (FICHER)
- Estimation du recouvrement moyen

Tableau 13 : Données brutes (FPR)

Calcul du taux de recouvrement en %



Concentration	Pe	Surface	niveau	Q. introduite.	y_{ij}	Q. Retrouvée.	R%
60%	12	37098	60%	12	37098	12,60	104,96
	12	34290		12	34290	12,23	101,92
	12	35790		12	35790	12,21	101,71
80%	16,01	47387	80%	16,01	47387	16,09	100,49
	16	45192		16	45192	16,12	100,74
	16	47727		16	47727	16,28	101,72
100%	20,01	56412	100%	20,01	56412	19,15	95,72
	20	56041		20	56041	19,99	99,94
	20	57896		20	57896	19,74	98,72
120%	24,01	69386	120%	24,01	69386	23,56	98,12
	24	70860		24	70860	25,28	105,31
	24	71073		24	71073	24,24	100,99
140%	28	78214	140%	28	78214	26,56	94,84
	28	82504		28	82504	29,43	105,10
	28	82886		28	82886	28,27	100,95

Après avoir calculé les recouvrements (en %), l'étape suivante est de vérifier l'homogénéité des variances par un test de COCHRAN.



a) Test d'homogénéité des variances

On calcul d'abord les variances :

Test de COCHRAN

Niveau	R%	\bar{Y}	s_i^2
60%	104,96	102,86	3,31
	101,92		
	101,71		
80%	100,49	100,99	0,42
	100,74		
	101,72		
100%	95,72	98,13	4,72
	99,94		
	98,72		
120%	98,12	101,47	13,10
	105,31		
	100,99		
140%	94,84	100,30	26,61
	105,10		
	100,95		

TEST DE COCHRAN			
s_{\max}^2	$\sum_{i=1}^p s_i^2$	$C_0 \text{ calculé}$	$C_{(5\%, 3, 5)}$
26,61	48,18	0,552	0,684

Conclusion : Le tableau présente un $C_0 \text{ calculé} < C_{(5\%, 3, 5)}$ ce qui montre que les variances pour l'ensemble des points de gamme de l'intervalle de la méthode sont homogènes au seuil de significativité de 5%.

b) Test de validité des moyennes

Une fois vérifiée l'homogénéité des variances, il est possible de s'assurer que les erreurs intergroupes et intra-groupes ne diffèrent pas.

Ce test doit être non significatif au seuil de significativité de 5 %.

Source de variation	SCE	DDL	Variances	F_l	$F_{(5\%, 4, 10)}$
Expérimentale	96,37	10	9,63	0,945	3,48
Factorielle	36,41	4	9,10		
Totale	132,78	14	9,48		

Conclusion :

Le tableau présente un $F_1 < F_{(5\%, 4, 10)}$ ce qui permet de mettre en évidence la non significativité du facteur "Intergroupes" testé et de conclure que les variations des observations entre les groupes (points de gamme) sont dues aux erreurs expérimentales.

c) Estimation du recouvrement moyen

Après avoir validé le test d'homogénéité des moyennes des groupes, le recouvrement moyen est calculé avec son intervalle de confiance.

N	\bar{y}	ST	t(5%, 14)	IRM	
				min	max
15	100,75	3,08	2,14	99,05	106,01

Conclusion :

Le Taux de recouvrement est inclus entre 99,05 et 106,01 % ; la valeur 100 est incluse donc la méthode est exacte.



6. Fidélité

La fidélité de la procédure d'analyse qui exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion) entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites. Elle fournit une indication sur les erreurs dues au hasard et s'exprime par la mesure de la reproductibilité et de la répétabilité.

▪ Principe

La démarche de l'analyse statistique est donc de démontrer statistiquement que la méthode est fidèle, c'est-à-dire répétable et reproductible.

La fidélité se calcule sur 3 séries de 6 pesées à 100% de la concentration théorique sur le composant dans la forme reconstituée à raison d'une série par jour, soit 18 valeurs indépendantes. Les séries réalisées par des opérateurs différents.

La fidélité s'exprime par un coefficient de variation de répétabilité (CVr) et par un coefficient de variation de reproductibilité (CVR).

Etude statistique

▪ Stratégie de l'étude

Vérification de la fidélité de la gamme forme pharmaceutique reconstituée par :

- Test d'homogénéité des variances (COCHRAN)
- Recherche d'une moyenne suspecte ou aberrante (GRUBBS)
- Recherche de valeurs suspectes ou aberrantes (GRUBBS)
- Estimation de la répétabilité et de la reproductibilité

a) Test d'homogénéité des variances

Série	Essai	R%	\bar{Y}	s_i^2
1	1/1	62672	63670,17	11363403
	2/1	66135		
	3/1	61827		
	4/1	61562		
	5/1	69318		
	6/1	60507		
2	1/2	56293	58119,50	3908358,7
	2/2	59132		
	3/2	55184		
	4/2	59633		
	5/2	60179		
	6/2	58296		
3	1/3	59980	60510,67	1029729,07
	2/3	60126		
	3/3	59205		
	4/3	60443		
	5/3	61213		
	6/3	62097		



	60766,78	2784,18	
	\bar{y}	Ecart type	

TEST DE COCHRAN			
s^2_{\max}	$\sum_{i=1}^p s_i^2$	C_0 calculé	$C_{(5\%, 6, 3)}$
11363402,96	16301490,73	0,697	0,707

Conclusion :

$C_{\text{calculé}} = 0.697 < C_{\text{tabulé}} = 0.707$; les variances des trois groupes peuvent donc être considérées comme homogènes au risque de 5%.

b) Test de validité des moyennes et des valeurs suspectes (Test de GRUBBS)

Une fois vérifiée l'homogénéité des variances, il est possible de s'assurer que les erreurs intergroupes et intra-groupes ne diffèrent pas.

Ce test doit être non significatif au seuil de significativité de 5 %.

TEST DE GRUBBS	Test des moyennes		$G1_{\text{calculé}}$	$G_{\text{table}(5\%, 3)}$
	MAX [$y_{i \text{ mov}}$]	63670,17	1,04	1,155
	MIN [$y_{i \text{ mov}}$]	58119,50	0,95	
	Test des valeurs suspectes Série incriminée : 1		$G2_{\text{calculé}}$	$G_{\text{table}(5\%, 6)}$
	MAX [y_i]	69318,00	1,675	1,887
MIN [y_i]	55184,00	0,001		

Conclusion

- Le facteur de Grubbs calculé $G1$ est inférieur au facteur lu dans la table, alors la moyenne testée est considérée comme correcte au seuil de probabilité de 5%.

- Le facteur de Grubbs calculé $G2$ est inférieur au facteur lu dans la table, alors les résultats de la série incriminée sont homogènes.

c) Estimation de la répétabilité et de la répétabilité intermédiaire

La fidélité de la procédure est jugée satisfaisante compte tenu des valeurs des coefficients de variation de répétabilité CV_r et de ceux de répétabilité intermédiaire CV_R .

Répétabilité	Variance (S_r^2)	$t_{(95\%, 18)}$	Seuil de répétabilité	CV_r
	8150746,36	2,228	8996,13	4,70

Répétabilité intermédiaire	n	S_d^2	S_L^2	S_R^2	CVR
	2	23255009,36	6846031,41	12279861,66	
		$t_{(95\%, 47)}$	Seuil de répétabilité intermédiaire		



	2,14	120 93,45	
--	------	-----------	--

Conclusion

coefficient de variation de répétabilité	CV _r (%)	4,70
coefficient de variation de répétabilité intermédiaire	CVR(%)	6,56

CV_r= 4,70 < 15%

CVR= 6,56 < 15%

Selon les résultats obtenus on peut dire que la méthode est fidèle.



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La validation des méthodes d'analyse figure parmi les mesures universellement reconnues comme faisant partie d'un système exhaustif d'assurance qualité dans le domaine de la chimie analytique.

Dans la première partie de notre travail on a appliqué le mode opératoire pour la détermination des produits de dégradation de SCORT comprimés effervescent selon le dossier technique du médicament fourni par la société. On a d'abord commencé par la spécificité et la sélectivité. La comparaison des chromatogrammes à 240 nm des essais de sélectivité nous a permis d'identifier les produits de dégradation présents dans la matrice complexe que peut représenter le produit fini. Les résultats ont présenté un problème d'interférence entre quelques pics des produits de dégradation du principe actif et les deux pics du placebo. Ces résultats nous ont poussés à arrêter l'analyse afin de développer la méthode.

La deuxième partie a été consacrée à la recherche et développement. Après plusieurs essais et modifications des proportions de la phase mobile, nous sommes parvenus à développer une méthode plus fiable et spécifique, c'est-à-dire, une méthode qui ne montre aucune interférence entre les pics du placebo et les pics des produits de dégradation du principe actif dans les différents milieux de stress.

Après avoir trouvé la méthode adéquate et fiable, on a pu entamer l'étape de la validation. Les résultats obtenus suite à plusieurs manipulations et tests statistiques ; et qui sont une base de décision de l'avenir de ce médicament sur le marché ; prouvent effectivement que la méthode utilisée est valide et donne des résultats conformes, ce qui permet de déclarer que cette méthode est applicable comme procédure de routine au sein du laboratoire interne de MC PHARMA.

Perspectives

Les pics de sélectivité du principe actif qu'on a obtenu vont être interprétés dans différentes longueurs d'ondes, pour s'assurer que ce dernier absorbe dans la longueur d'onde de 240 nm de manière optimale. Ainsi, les résultats permettront au Laboratoire de Contrôle de Qualité MC PHARMA de constituer le dossier d'AMM en vue de commercialiser le médicament SCORT 20mg générique de PREDNISOLONE.



BIBLIOGRAPHIE / WEBOGRAPHIE

- [1] : www.cooperpharma.ma/fr/manufacturing/tabid/219/default.aspx
- [2] : PDF-publications/2008/L-industriepharmaceutiquemondialeenpleinematurationeurasente.pdf
- [3] : www.amip.ma/dynicdata/Secteur_Industrie.aspx
- [4] : Dahir loi n°1-76-432 de février 1977, B.O n°3369, Article L511 du code de la santé publique
- [5] : www.santepublique.fr/medicament.php
- [6] : Pharmacopée Européenne en vigueur
- [7] : Article 2,6 code du médicament et de la pharmacie décembre 2006
- [8] : www.anxiolytiques.net/generale/internet_des_medicaments_genériques/
- [9] : Asarradon-eck, M-A. Blanc, M. Faure, article paru dans la revue d'épidémiologie et de santé publique, 2007, 55
- [10] : Adib BENFEDDOUL : « Les normes ICH d'enregistrement des médicaments : élément d'un schéma d'efficience pour les pays en développement »
- [11] : http://www.sfstp.org/rubrique.php?id_rubrique=23
- [12] : www.scribd.com/doc/13455573/Les_comprimes
- [13] : Max Feinberg " la validation des méthodes d'analyses: une approche chimiométrique de l'assurance qualité au laboratoire" Août 1996
- [14]: Bulletin officiel N02007/1 bis fascicule spécial : « Bonnes pratiques de fabrication » [15] : <http://www.adneurope.com/index.php?id=241&L=0>
- [16] : SFSTP : Guide de validation analytique : Méthodologie (STP PHARMA PRATIQUES) Pharmacopée européenne 1992
- [17] : www.inra.fr/content/download/26234/339700/.../13_Feinberg_valid.pdf
- [18] : Cours de « VALIDATION ANALYTIQUE » du P^r.SEFFAG de la FST/Fès
- [19] : Dossier Mère de Fabrication de Prédnisolone métasulfobenzoate
- [20] : Technique d'analyse du produit fini document interne de MC PHARMA