



Année Universitaire : 2015-2016

**Master Sciences et Techniques : CMBA  
Chimie des Molécules Bio Actives**



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

**Titre :**

**Etude de stabilité d'une spécialité à base de la codéine et  
de cinéol.**

**Présenté par:**

**BETTAHI Abderrahmane**

**Encadré par:**

**- Pr. Jamal Eddine HAZM**

**- Mr. Tbib BOUAZZA**

**Soutenu Le 16 Juin 2016 devant le jury composé de:**

- Pr. Jamal Eddine HAZM**
- Pr. KH. MOUGHAMIR**
- Pr. M. EL ASRI**

**Stage effectué à : Maphar sanofi**



Stage effectué à : 16/06/2016

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



**Nom et prénom: BETTAHI Abderrahmane**

**Année Universitaire : 2015/2016**

**Titre: Etude de stabilité d'une spécialité a base de la codéine et de cinéol.**

### Résumé :

L'étude de stabilité des médicaments a pour objectif de vérifier qu'ils répondent à la spécification exigée dans l'AMM en termes de qualité pendant toute leur durée de validité. Pour cette raison nous avons choisi l'Eucalyptine le brun « sirop » comme médicament à étudier après 36 mois de sa date de fabrication, en se basant sur le dosage de ses deux principes actifs qui sont le cinéol et la codéine par CPG et HPLC respectivement, ainsi que le dosage de son PHBM conservateur par HPLC également.

**Mots clés: PHBM, CPG, HPLC.**

# Remerciements

Ce travail a été effectué au laboratoire d'Ingénierie des Matériaux de Modélisation et d'Environnement (LIMME), de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz (FSDM – Fès). Sous la direction de Monsieur le Professeur M.Taleb. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour la confiance qu'il m'a accordé en m'accueillant dans son équipe et pour toutes les connaissances que j'ai acquises à ses cotés.

Je remercie particulièrement Mme Kh.Moughamir, pour l'aide et les conseils concernant les missions évoquées dans ce rapport, et qu'elle m'a apportés lors des différents suivis

Je tiens à remercier également mes Professeurs El. Lamcharfi et Ch.Ameziane de l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à mon travail en acceptant de participer au jury de ce mémoire de fin d'études.

Ce travail n'aurait pu avancer sans l'aide précieuse de Melle F.El-Hajjaji. Qu'il trouve ici les témoignages de ma sincère gratitude.

Mes remerciements s'adressent également à tous les membres du laboratoire ainsi qu'à Melle H.Chahbi, K.Ismaily Alaoui et Melle R.Salim, pour leur aide et générosité en quantité d'informations qui m'ont fournis.

Je tiens enfin, à exprimer ma profonde gratitude pour tous mes amis qui m'ont encouragé.

## Introduction Générale:

En industrie pharmaceutique, l'étude de stabilité est une étape critique avant la mise des médicaments sur le marché. Elle a pour but de fournir des données probantes sur la façon dont la qualité d'un principe actif ou d'un produit médicamenteux varie en fonction du temps, sous divers conditions climatiques extérieures telle que la température, l'humidité et la lumière, et par conséquent elle permet de déterminer les conditions du stockage et la durées de validités des produits.

Pour cette raison, nous avons choisi d'étudier la stabilité d'un sirop nommé « EUCALYP-TINE LE BRUN » a base du cinéol et de la codéine, après 36 mois de sa date de fabrication, en se basant sur la chromatographie liquide a haute performance et la chromatographie en phase gazeuse comme étant les méthodes analytiques fiables pour cette étude.

Le présent travail se divise en quatre chapitres :

Le premier concerne la présentation de la société, au temps que le deuxième est consacré aux généralités sur le médicament et sa composition. Le troisième chapitre aborde le principe et la méthode d'étude de stabilité, ainsi que les méthodes analytiques utilisées et le quatrième est réservé à la partie expérimentale qui concerne les résultats et leurs interprétations.

## ***Chapitre I : Présentation de la société.***

## I.1 : HISTORIQUE :

Le groupe SANOFI est le fruit de plusieurs fusions :

- ✓ En 1964 : Transformation de Co-pharma en Maphar et implantation industrielle au Roches Noires suite à la promulgation de dahir réglementant l'industrie du médicament, en imposant à terme la fabrication locale des produits pharmaceutiques.
- ✓ En 1973 : Constitution du groupe SANOFI par la société Elf-Aquitaine.
- ✓ En 1978 : Construction d'une usine à Ain Sebaa.
- ✓ En 1981 : SANOFI absorbe clin-Midy et Maphar devient de ce fait.
- ✓ Filiale de cette importante multinationale.
- ✓ En 1989 : Acquisition de Sopharma.
- ✓ En 1990 : Renforcement du pôle bio-industrie par l'acquisition de 4 nouvelles sociétés dans les secteurs floraux et caroube : Fès, Khémiset, Essaouira.
- ✓ En 1994 : Recentrage des activités sur la pharmacie et cession du pôle bio-industrie.
- ✓ En 1996 : Création de la société SANOFI.
- ✓ En 1999 : Fusion SANOFI Synthélabo entraînant la fusion de Mapharet Synthémedic au Maroc.
- ✓ En 2000 : Cession de Synthémedic.
- ✓ En 2004 : Acquisition d'Aventis par SANOFI -Synthelabo aboutissant à la nouvelle nomination Sanofi Aventis.
- ✓ En 2012 : SANOFI Aventis devient SANOFI.

## I.2 : Activités :

Les laboratoires Maphar exploitent à Casablanca le site de production « Zenâta » dont les activités sont les suivantes :

La fabrication et la distribution des produits.

Le façonnage des produits pour des laboratoires qui se chargent de la distribution.

On distingue essentiellement quatre domaines d'activités : la pharmacie, la cosmétique, la diététique et la parapharmacie.

Avec plus de 500 spécialités pharmaceutiques, les laboratoires Maphar possèdent un chiffre d'affaire d'environ 84,7 millions d'Euro.

Quelques médicaments propres aux laboratoires	Quelques médicaments commettants :
ASPEGIC. THIOBACTIN. DOGMATIL. STILNOX. MITOSYL. MYOLASTAN. DEPAKINE. NO-SPA. ERCEFURYL. RHINATIOL.	POLYGYNAX. INTETRIX. MOTILIUM PRIMALAN. EUCALYPTINE LE BRUN.

## ***Chapitre II : Présentation du médicament.***

## II.1 : Composition du sirop « EUCALYPTINE LE BRUN » :

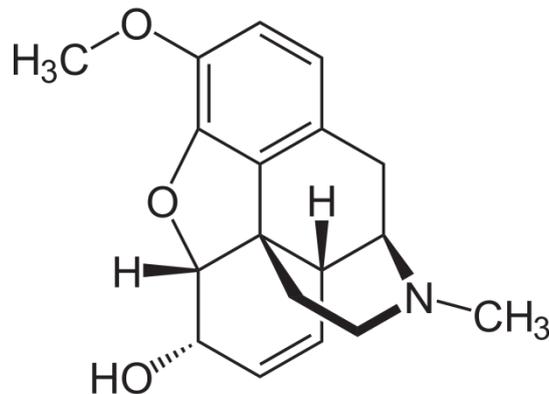
Le tableau ci-dessous résume la composition moléculaire du sirop :

**Tableau 1 : Composition du sirop :**

<b>Nom du composé :</b>	<b>Fonctionnement :</b>
Codéine	Principe actif.
Cinéol	Principe actif.
Saccharose	Edulcorant.
Alcool	Solvant.
Acide citrique	Ajustement de pH
Para hydroxybenzoate de méthyl	Conservateur.
Para hydroxybenzoate de propyl	Conservateur.
Eau	Solvant.

## II.2 : Principes actifs :

### II.2.1 : La codéine :



**Figure 1 : Structure de la codéine.**

#### 1) Définition :

La codéine, ou 3-méthylmorphine, est l'un des alcaloïdes contenus dans le pavot somnifère. Elle est utilisée dans deux indications principales : le traitement symptomatique de la toux, et le traitement analgésique [1].

Elle peut être utilisée seule, mais aussi en association avec du paracétamol ou de l'ibuprofène [2] pour en potentialiser l'effet analgésique.

## 2) Propriétés physico-chimiques :

Le tableau suivant présente les propriétés physico-chimiques de la codéine.

**Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques de la codéine.**

PROPRIETES CHIMIQUES		PROPRIETES PHYSIQUES	
<b>Formule brute</b>	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	<b>T° fusion</b>	157,5 °C
<b>Masse molaire</b>	299,3642 ± 0,017 g/mol	<b>Solubilité</b>	7,9 g·L <sup>-1</sup> dans l'eau à 25 °C Soluble dans l'éthoxyéthane et le benzène
<b>pKA</b>	8.21		

## 3) Mode d'action :

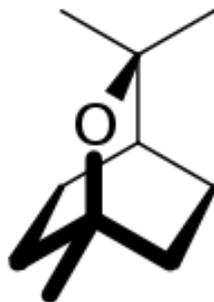
Le métabolisme de la codéine s'effectue principalement au niveau hépatique selon plusieurs voies, l'une d'entre elles conduit à la formation de la morphine [3]. La biotransformation de la codéine en morphine dépend d'un système enzymatique complexe appartenant aux cytochromes P450 (CYP450-2D6), et correspond à une glucuro-conjugaison (60 %) en position 6. Les autres voies correspondent à une N-déméthylation de l'ordre de 20 % via l'enzyme CYP450-3A4 qui aboutit à la formation de norcodéine et une O-déméthylation de l'ordre de 10 % via le cytochrome CYP450-2D6 qui aboutit à la formation de morphine urinaires délicate dans le cadre du dépistage.

## 4) Effets secondaires :

Parmi les effets secondaires de la codéine, on peut citer certains effets digestifs tels la constipation, la nausée et le vomissement qui surviennent des réactions allergiques cutanées ou respiratoires.

Le surdosage de la codéine peut conduire à une apparition des dépressions aiguës des centres respiratoires et la somnolence allant jusqu'au coma [4].

## II.2.2 : Le cinéol « eucalyptol » :



**Figure 2 : Structure du cinéol.**

### **1) Définition :**

L'eucalyptol est un composé naturel organique incolore. C'est un monoterpène qui appartient à la famille des éthers cycliques. Il est nommé cinéol ou 1,8-cinéol [5].

L'eucalyptol est trouvé dans l'huile essentielle de certains eucalyptus[6] tel le romarin, l'armoise, l'absinthe, le laurier, la sauge et le basilic...

Il est moyennement toxique, d'où la dose létale par voie orale est fixée à 50–500 mg·kg<sup>-1</sup>.

Le tableau suivant présente les propriétés physico-chimiques du cinéol.

**Tableau 3 : Propriétés physico-chimiques du cinéol.**

PROPRIETE CHIMIQUE		PROPRIETE PHYSIQUE	
<b>Formule brute</b>	$C_{10}H_{18}O$	<b>T° fusion</b>	1,5 °C
<b>Masse molaire</b>	$154,2493 \pm 0,0096 \text{ g/mol}$	<b>Solubilité</b>	$14,6 \text{ J}^{1/2} \cdot \text{cm}^{-3/2}$ (25 °C)

### **2) Effets indésirables :**

Les effets indésirables causés par le cinéol sont les suivants :

- ✓ Toxicité moyenne au cas des doses létales par voie orale fixée à 50-500mg/kg.
- ✓ Pas de muta-génicité au test d'Ames [7].
- ✓ Convulsions chez l'homme au cas de surdosage [8].

### **II.3 : Indication du sirop « EUCALYPTINE LE BRUN » :**

Ce sirop est utilisé dans le traitement symptomatique des toux sèches car il contient un anti-tussif opiacé (la codéine) qui bloque le réflexe de la toux en agissant directement sur le cerveau et un antiseptique des voies respiratoires (le cinéol).

### **II.4 : Contre-indications du sirop « Eucalyptine Le Brun » :**

Ce médicament est à éviter dans les cas suivants :

- ✓ L'asthme.
- ✓ L'insuffisance respiratoire.
- ✓ L'allaitement.
- ✓ Chez les enfants de moins de 12 ans.

***Chapitre III : Etude de la stabilité et  
méthodes analytiques***

### III.1 : Définition de la stabilité :

La stabilité est l'aptitude d'un médicament à conserver ses propriétés chimiques, physiques, microbiologiques et biopharmaceutiques dans des limites spécifiées pendant toute sa durée de validité.

### III.2 : Objectif de l'étude de stabilité :

L'étude de stabilité des médicaments a pour objectif de vérifier qu'ils répondent aux spécifications exigées dans l'AMM en termes de qualité pendant toute leur durée de validité, via des études effectuées sur des échantillons conservés dans des conditions climatiques correspondant aux normes définies pour la zone climatique d'enregistrement.

### III.3 : Equipements :

Les échantillons prélevés pour étude de stabilité sont conservés dans des enceintes climatiques dans lesquelles les conditions de température et d'humidité relative sont contrôlées :

- ✓ Enceinte climatique pour étude de stabilité en conditions long terme pour la zone climatique II dont fait partie le Maroc :

<b>Température</b>	25°C ± 2°C
<b>HR</b>	60% ± 5%

- ✓ Enceinte climatique pour les études de stabilité en conditions intermédiaire :

<b>Température</b>	30°C ± 2°C
<b>HR</b>	60% ± 5%

**NB :** Si les conditions long terme sont de 30°C ± 2°C / 65% HR ± 5% HR, ou 30°C ± 2°C / 75% HR ± 5% HR il n'y a pas d'études de stabilité en conditions intermédiaires.

- ✓ Enceinte climatique pour les études de stabilité en conditions accélérées :

<b>Température</b>	40°C ± 2°C
<b>HR</b>	75% ± 5%

### **III.4 : Principe de l'étude de stabilité :**

Les études de stabilités doivent être conduites conformément à un protocole de stabilité approuvé. Il doit s'appliquer à toute la durée de validité du produit doit inclure au moins les paramètres suivant :

- ✓ Objectif de l'étude
- ✓ Nom du produit et formulation,
- ✓ Le nombre de lot et taille (s) des lots, si applicable,
- ✓ Site de fabrication
- ✓ Date de fabrication
- ✓ Numéro de lot
- ✓ Caractéristiques pertinentes du lot sélectionné (exemple : principe actif, fournisseur / fabricant),
- ✓ La description des conditionnements primaire, secondaire si nécessaire et du système de fermeture,
- ✓ Durée de validité du produit,
- ✓ Echéances et durée de l'étude
- ✓ Méthodes indicatrices de stabilité avec leur référence
- ✓ Les critères d'acceptation,
- ✓ La description des conditions de stockage,
- ✓ Quantité des échantillons par échéance et total, y compris les échantillons de réserve,
- ✓ Méthode d'évaluation des résultats.

### **III.5 : Spécifications et méthodes d'analyses :**

#### **1) Spécifications :**

Les paramètres suivants sont ceux qui peuvent montrer des variations dans le temps.

- Les caractères du produit.
- Les essais significatifs : pH, teneur en eau.
- Les dosages des principes actifs et des conservateurs.
- La recherche des produits de dégradation.
- La contamination microbienne.

## b) Méthodes analytiques utilisées :

Parmi les méthodes utilisées dans l'étude de stabilité, on trouve :

- pH-mètre.
- La chromatographie liquide à haute performance HPLC.
- La chromatographie en phase gazeuse CPG.

### ➤ pH-mètre :

Le PH-mètre est un appareil généralement constitué d'un boîtier électronique permettant l'affichage de la valeur numérique du pH, une sonde de pH constituée d'une électrode de verre permettant la mesure et une électrode de référence [9]. Son fonctionnement est basé sur le rapport qui existe entre la concentration en ions  $H_3O^+$  (définition du pH) et la différence de potentiel électrochimique qui s'établit dans le pH-mètre une fois plongé dans la solution étudiée.



**Figure 1 : PH-mètre**

### ➤ Chromatographie liquide à haute performance :

La chromatographie est une méthode qui permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification.

La chromatographie en phase liquide a permis de réaliser des analyses qui n'étaient pas auparavant possible avec les techniques sur couche mince ou en phase gazeuse [10].

A l'origine, la chromatographie en phase liquide se faisait sur des colonnes en verre. Le liquide traversait la phase stationnaire par gravité ou sous faible pression. Puis pour augmenter

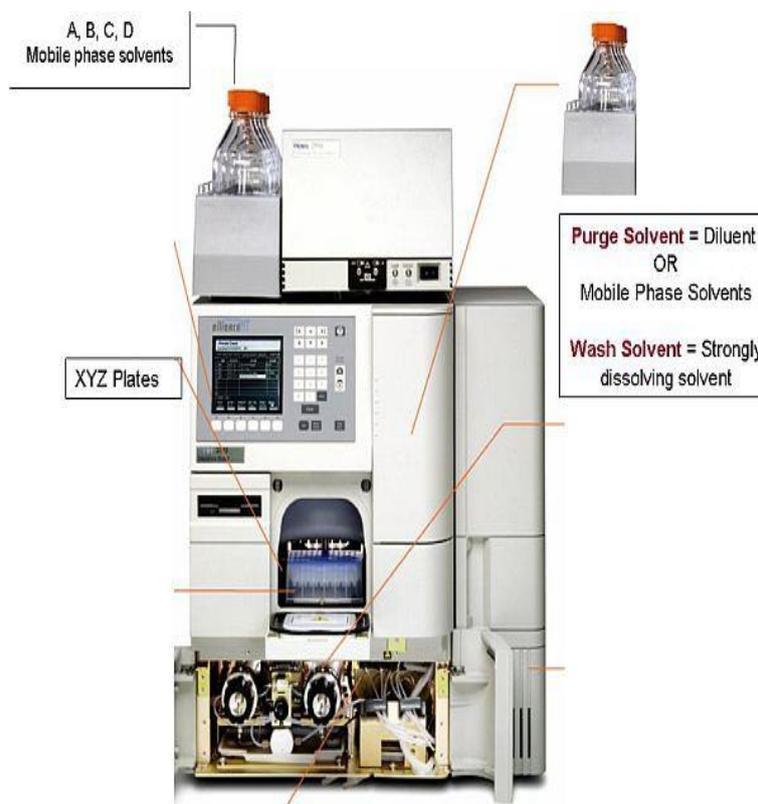
le débit, des manipulations ont été réalisées sous pression plus forte. C'est ce que l'on a appelé la chromatographie liquide sous haute pression (HPLC).

**Principe :** Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant, Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (diluante). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique.

Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors, suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.

A la sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. On appelle chromatogramme l'ensemble des pics enregistrés [11].



**Figure 2 : Appareil du chromatographie liquide à haute pression.**

➤ Chromatographie en phase gazeuse CPG :



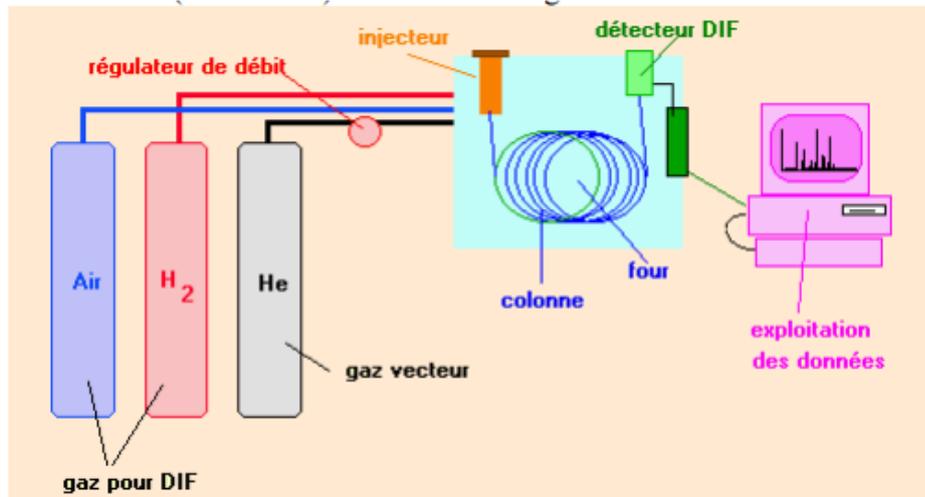
**Figure 5 : Appareil de chromatographie phase gazeuse.**

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode séparative parmi les plus employées car elle allie rapidité et efficacité de séparation. Elle permet d'analyser qualitativement et quantitativement des mélanges complexes de gaz ou de composés qui peuvent être volatilisés sans être décomposé [12].

**Principe :** A l'aide d'une seringue, le mélange à séparer est injecté. Après sa vaporisation par l'injecteur, les composés sont entraînés dans la colonne par le gaz vecteur, le plus souvent He ou N<sub>2</sub>.

Suivant l'affinité pour la phase stationnaire et la phase mobile, les composés sont séparés avant d'être détectés en sortie de la colonne [13].

Le schéma général d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un détecteur à ionisation de flamme (FID ou DIF) est rendu sur la figure suivante.



**Figure 6 : Chromatographe en phase gazeuse.**

## ***Chapitre IV : Partie pratique.***

#### IV.1 : Objectif :

L'objectif de cette partie est d'étudier la stabilité du sirop après 36 mois de sa fabrication.

#### IV.2 : Spécifications :

##### a. Aspect :

C'est un liquide sirupeux, de couleur verte à odeur de Cinéol limpide.

Nous allons analyser le produit Eucalyptine sirop lot: 4MA006 T36 à 25°C.60%.

##### b. Volume moyen :

Afin de calculer les volumes moyens, nous avons versé un flacon du sirop dans une éprouvette de 250ml.

On relève le volume exact pour trois flacons, ainsi on déduit le volume moyen.

**Tableau 4 : Moyenne de 3 flacons de sirop.**

<b>Flacon</b>	<b>Volume</b>
<b>FL1</b>	126,2
<b>FL2</b>	126,5
<b>FL3</b>	126
<b>Moyenne</b>	<b>126,2</b>

## IV.3 : Dosage du cinéol par La chromatographie en phase gazeuse CPG :

### IV.3.1 : Conditions opératoires :

Pour effectuer le dosage par la méthode de chromatographie à phase gazeuse il faut suivre les conditions suivantes :

**Tableau 5 : Conditions du dosage du cinéol par CPG :**

<b>Colonne</b>	Carbowax 20 M. L= 2m. D. I= 1/8,80/100 mesh.
<b>Gaz vecteur</b>	Hélium.
<b>Débit</b>	20 mL /min.
<b>Détection</b>	F.I.D.
<b>Température de la colonne</b>	Isotherme à 120°C pendant 20min. Montée de 10°C/min à 140°C.
<b>Température injecteur</b>	210°C.
<b>Température détecteur</b>	210°C.
<b>Range</b>	11.
<b>Atténuation</b>	32.
<b>Volume injecté</b>	1µL.

### IV.3.2 : Mode opératoire :

#### ✓ **Solution de l'étalon interne (EI) :**

Dans une fiole jaugée de 100 ml nous avons introduit 900 mg du camphre témoin, puis nous avons ajouté le dichlorométhane jusqu'au trait de jauge. Dans une autre fiole de 100 ml, nous avons préparé une solution du cinéol (c) à partir de 425 mg de ce dernier en présence de 100 ml de dichlorométhane.

#### ✓ **Solution témoin :**

Dans une fiole jaugée de 100 ml, nous avons introduit 5 ml de la solution (C) et 5 ml de la solution de l'étalon interne, puis, nous avons complété jusqu'à 100 ml par le dichlorométhane.

#### ✓ **Solution à analyser :**

Dans une ampoule à décanter de 250 ml, nous avons introduit une prise d'essai exactement pesée de 120g de sirop, puis nous l'avons ajouté 50ml d'eau purifiée.

Par la suite, nous avons effectué une extraction 4 fois par respectivement 30, 15, 15 et 15 ml de dichlorométhane.

Dans une fiole jaugée de 100 ml, on a introduit la phase organique rassemblée, puis, nous avons ajouté 5ml de solution d'étalon interne (EI) et nous avons complété jusqu'au trait de jauge avec le dichlorométhane.



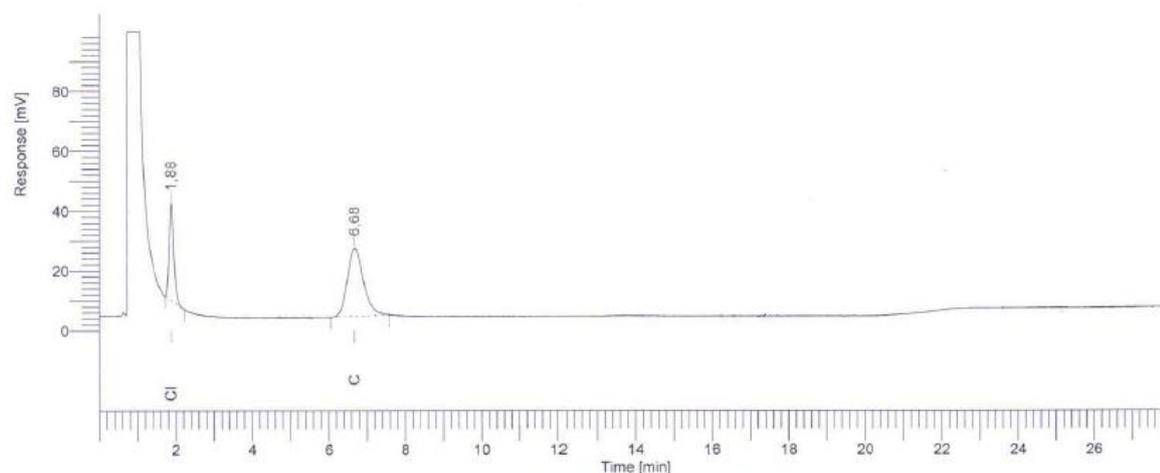
**Figure 7 : Extraction du cinéol par le dichlorométhane.**

#### **IV.3.3 : Résultats et interprétations :**

Toutes les solutions préparées étaient injectées dans l'appareil de la chromatographie en phase gazeuse.

Les injections étaient réalisées trois fois, et nous avons obtenu les résultats suivants :

## Résultats d'analyse du témoin 1

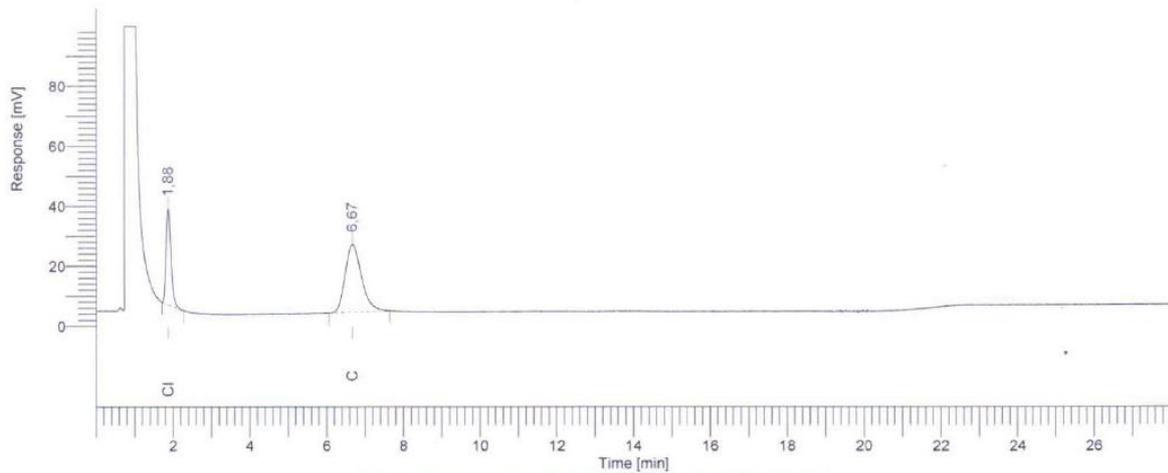


### EUCALYPTINE SIROP

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Height [uV]	Area [%]	BL	ISTD Resp Ratio	Adjusted Amount
1	Cinéole	1,880	279124,03	32639,53	29,43	BB	0,4170	425,1000
2	Camphre	6,679	669411,17	22784,55	70,57	BB	1,0000	-----
			948535,20	55424,08	100,00		1,4170	425,1000

**Figure 8 : Chromatogramme du témoin 1 de la première injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics l'un du principe actif (cinéol) à 1,88 min, et l'autre du camphre à 6,679 min.

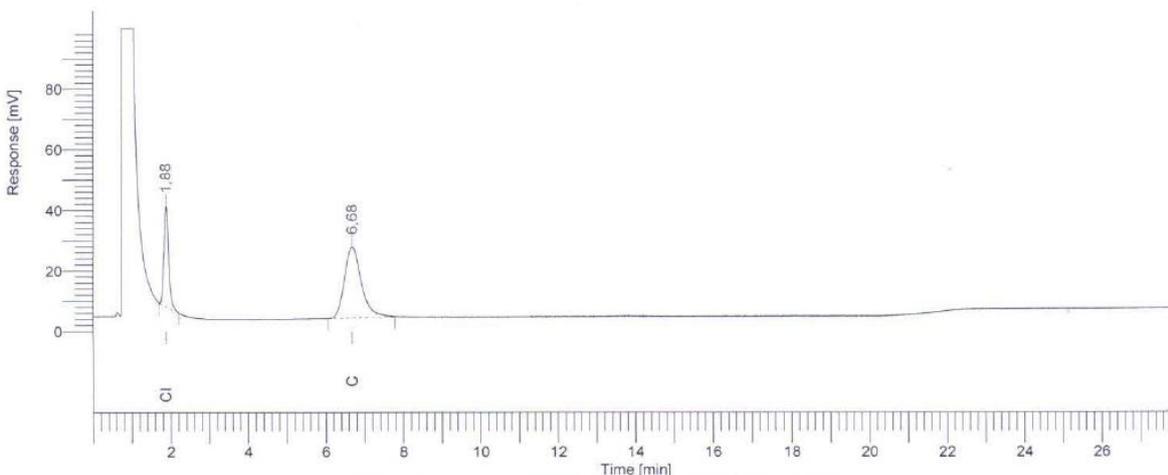


### EUCALYPTINE SIROP

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Height [uV]	Area [%]	BL	ISTD Resp Ratio	Adjusted Amount
1	Cinéole	1,881	280850,91	32107,09	29,41	BB	0,4166	425,0000
2	Camphre	6,674	674197,41	22802,64	70,59	BB	1,0000	-----
			955048,32	54909,72	100,00		1,4166	425,0000

**Figure 9 : Chromatogramme du témoin 1 de la deuxième injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics l'un du principe actif (cinéol) à 1,881 min, et l'autre du camphre à 6,674 min.



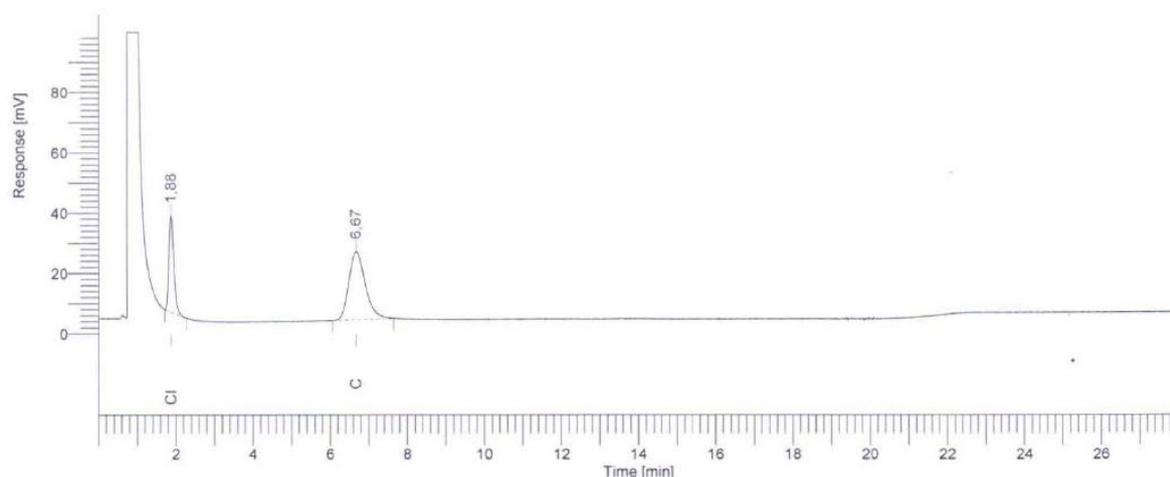
### EUCALYPTINE SIROP

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Height [uV]	Area [%]	BL	ISTD Resp Ratio	Adjusted Amount
1	Cinéole	1,879	290141,38	33338,27	29,10	BB	0,4104	417,2327
2	Camphre	6,682	706985,64	23583,40	70,90	BB	1,0000	-----
			997127,03	56921,67	100,00		1,4104	417,2327

**Figure 10 : Chromatogramme du témoin 1 de la troisième injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics l'un du principe actif (cinéol) à 1,879 min, et l'autre du camphre à 6,682 min.

### Résultats d'analyse du témoin 2

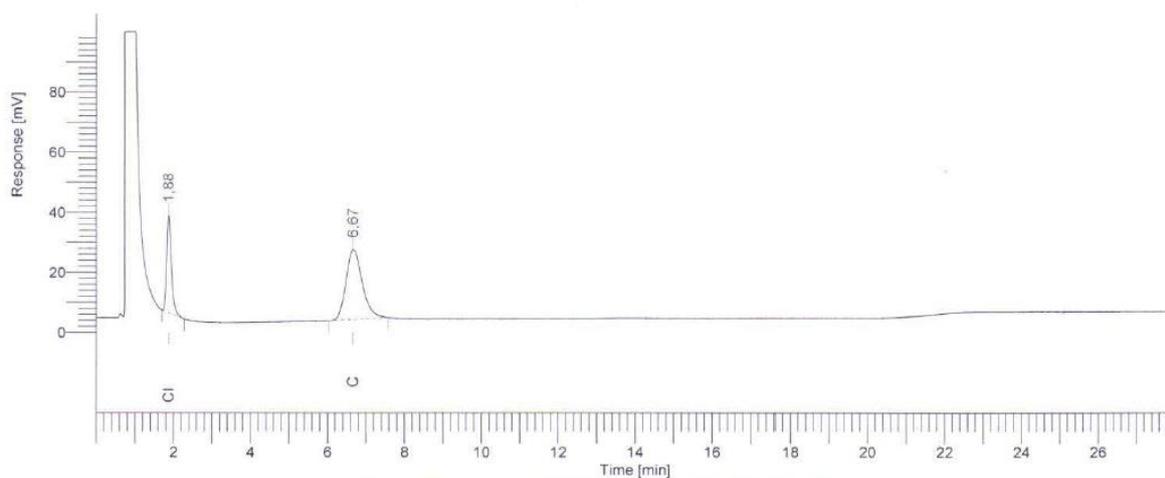


#### EUCALYPTINE SIROP

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Height [uV]	Area [%]	BL	ISTD Resp Ratio	Adjusted Amount
1	Cinéole	1,881	280850,91	32107,09	29,41	BB	0,4166	425,0000
2	Camphre	6,674	674197,41	22802,64	70,59	BB	1,0000	-----
			955048,32	54909,72	100,00		1,4166	425,0000

**Figure 11 : Chromatogramme du témoin 2 de la première injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présent deux pics l'un du principe actif (cinéol) à 1,881 min, et l'autre du camphre à 6,674 min.

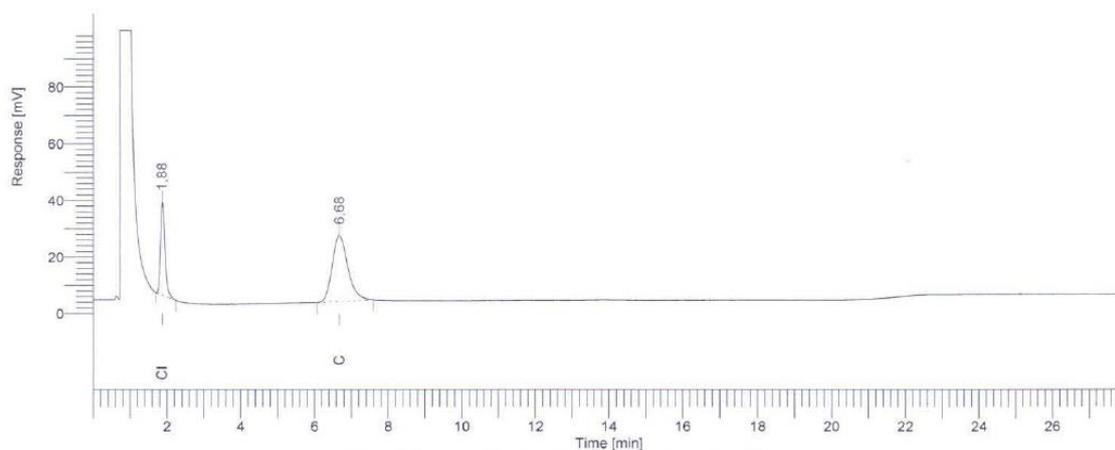


### EUCALYPTINE SIROP

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Height [uV]	Area [%]	BL	ISTD Ratio	Resp	Adjusted Amount
1	Cinéole	1,878	286860,76	32609,46	29,63	BB	0,4211		424,6810
2	Camphre	6,671	681193,90	23164,33	70,37	BB	1,0000		-----
			968054,66	55773,79	100,00		1,4211		424,6810

**Figure 12 : Chromatogramme du témoin 2 de la deuxième injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics l'un du principe actif (cinéol) à 1,878 min, et l'autre du camphre à 6,671 min.



### EUCALYPTINE SIROP

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Height [uV]	Area [%]	BL	ISTD Ratio	Resp	Adjusted Amount
1	Cinéole	1,877	286352,35	32932,27	29,51	BB	0,4186		425,0225
2	Camphre	6,681	684027,41	23250,21	70,49	BB	1,0000		-----
			970379,76	56182,49	100,00		1,4186		425,0225

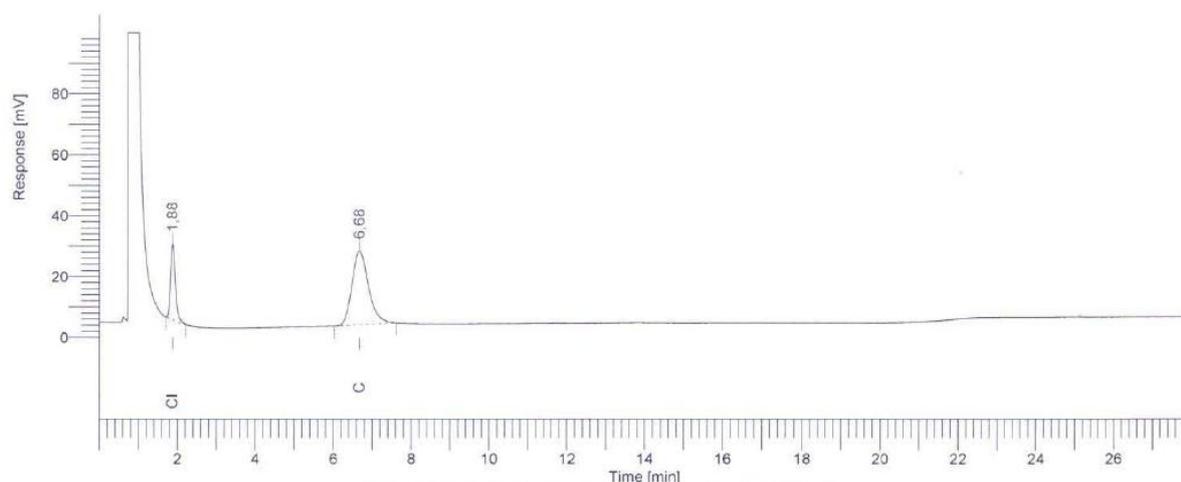
**Figure 13 : Chromatogramme du témoin 2 de la troisième injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics l'un du principe actif (cinéol) à 1,877 min, et l'autre du camphre à 6,681 min.

Ces chromatogrammes obtenus par chromatographie en phase gazeuse correspondent aux injections du témoin 1 et 2 et montrent qu'il y a une ressemblance entre ces derniers au niveau du temps de rétention et la surface des pics, ce qui reflète une conformité du système permettant d'avoir de fiables résultats. Voir chromatogrammes (figures 10, 11, 12, 13, 14,15).

### Résultats d'analyse de l'essai

**Norme :** La teneur en cinéol doit être comprise entre **16,63** et **18,38 mg/ 100g**.



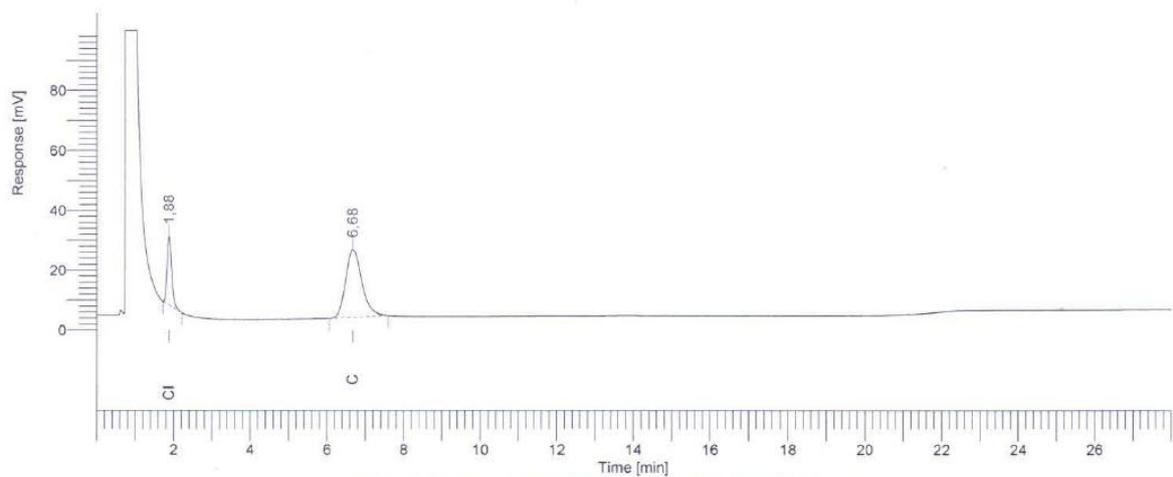
### EUCALYPTINE SIROP

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Height [uV]	Area [%]	BL	ISTD Resp Ratio	Adjusted Amount
1	Cinéole	1,880	217105,01	24774,41	23,38	BB	0,3051	13,5670
2	Camphre	6,675	711668,15	24230,26	76,62	BB	1,0000	-----
			928773,16	49004,67	100,00		1,3051	13,5670

**Figure 14 : Chromatogramme de l'essai de la première injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics l'un du principe actif (cinéol) à 1,88 min, et l'autre du camphre à 6,675 min.

On remarque que la concentration du cinéol est 13,567 mg/ 100g → **Résultat non conforme.**



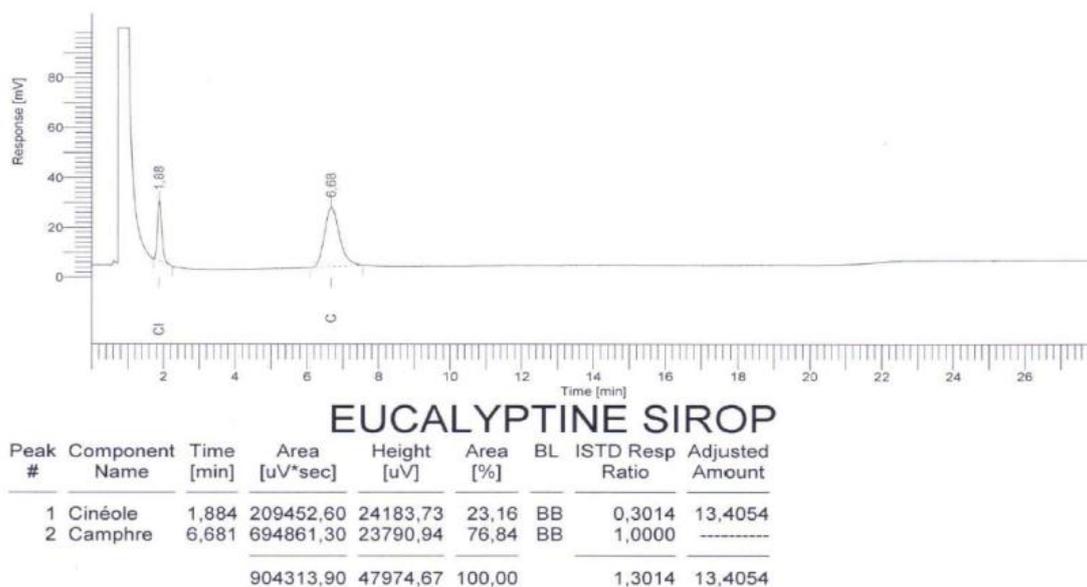
### EUCALYPTINE SIROP

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Height [uV]	Area [%]	BL	ISTD Resp Ratio	Adjusted Amount
1	Cinéole	1,884	196379,06	22992,47	22,84	BB	0,2961	13,1653
2	Camphre	6,679	663275,77	22641,05	77,16	BB	1,0000	-----
			859654,83	45633,52	100,00		1,2961	13,1653

**Figure 15 : Chromatogramme de l'essai de la deuxième injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics : l'un du principe actif (cinéol) à 1,884 min, et l'autre du camphre à 6,679 min.

On remarque que la concentration du cinéol est 13,1653 mg/ 100g 100g → **Résultat non conforme.**



**Figure 16 : Chromatogramme de l'essai de la troisième injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics l'un du principe actif (cinéol) à 1,884 min, et l'autre du camphre à 6,681 min.

On remarque que la teneur du cinéol est 13,4054 mg/ 100g 100g → **Résultat non conforme.**

Le résultat de l'analyse du cinéol illustrée par les chromatogrammes 16,17 et 18 montre sa non-conformité vu les teneurs obtenues dans chaque essai et qui sont inférieures à **16,63 mg/ 100g.**

**Remarque :**

La teneur des principes actifs est donnée automatiquement par l'appareil de la chromatographie en phase gazeuse, mais, on peut la calculer par la relation suivante :

$$T = R F_i / SA \times Aire PA / Aire i \times XF$$

$$RF = (Aire EI / Aire PA) \times Pt.$$

- RF : Facteur de réponse pour le principe actif.
- SA : Prise d'essai de l'essai en g.
- XF : Facteur multiplicateur.
- XF : Facteur multiplicateur.

- Pt : Prise d'essai du principe actif.

## IV.2 : Dosage de la codéine et du parahydroxybenzoate de méthyl par HPLC :

### IV.2.1 : Conditions opératoires:

Pour effectuer le dosage par la méthode de chromatographie liquide à haute performance il faut suivre les conditions chromatographiques suivante :

- Colonne : lichrospher 250 × 4 mn, 5 μm
- Pré-colonne : lichrospher 100 RP 18 endcapped, 25 \* 4mm, 5μm
- Débit : 1ml/ min
- Température : Ambiante
- Détection : UV à 230 nm
- Volume d'injection : 20μL

### IV.2.2 : Mode opératoire :

#### *Préparation d'acétate d'ammonium 0,25 M :*

Dans une fiole de 1 L, nous avons introduit 19,27 g d'acétate d'ammonium, et ajusté le volume à l'eau purifiée.

#### *Préparation de la solution tampon pH =8,2 :*

Dans un bécher de 1000 ml, nous avons introduit 100 ml de solution d'acétate d'ammonium 0,25 M, 850 ml d'eau distillée et ajusté à pH = 8,2 au pH mètre avec l'ammoniaque diluée.

Nous avons en suite transvasé quantitativement le mélange dans une fiole jaugée de 1000 ml et complété au volume avec de l'eau purifiée.

#### *Préparation de la phase mobile :*

Dans un bécher de 1000 ml, nous avons introduit 100 ml d'acétonitrile, 350 ml du méthanol et 550 ml du tampon pH= 8,2.

Nous avons après, filtré le contenu sur une membrane filtrante et le dégazé.



**Figure 17 : Phase Mobile.**

**Préparation des solutions à analyser:**

**Solution à 0,25mg/ml de parahydroxybenzoate de méthyle de référence (extemporanée) (a) :**

Dans une fiole jaugée de 100ml, nous avons introduit 25 mg de PHBM et ajusté par la solution tampon pH= 8,2.

**Solution à 0,5 mg/ml de codéine de référence (extemporanée) (b):**

Dans une fiole jaugée de 100 ml, nous avons introduit 50 mg de la codéine et compléter avec la solution tampon de pH =8,2.

**Solution témoin (extemporanée) (c) :**

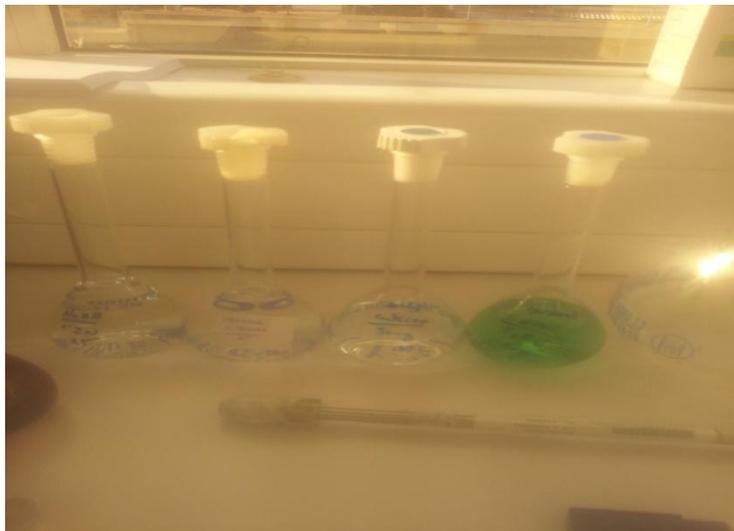
Dans une fiole jaugée de 100 ml, nous avons introduit 20 ml de la solution (a) et 20ml de solution (b), puis nous avons ajouté 1ml de NaOH 1N et ajusté par la solution tampon pH =8,2. Préparer de même une seconde solution à partir de prise d'essai P2 mg et C2 mg de PHBM et de codéine de référence : T2.

**Solution d'essai (extemporanée) E1 :**

Dans une fiole jaugée de 100 ml, nous avons introduit 10g de sirop avec 1ml de NaOH 1N et nous avons complété par la solution tampon pH= 8,2.

Préparer de même une seconde solution à partir d'une prise d'essai (PE2) g de sirop : E2

Séquence d'injection



**Figure 18 : Les solutions utilisées lors de la manipulation .**

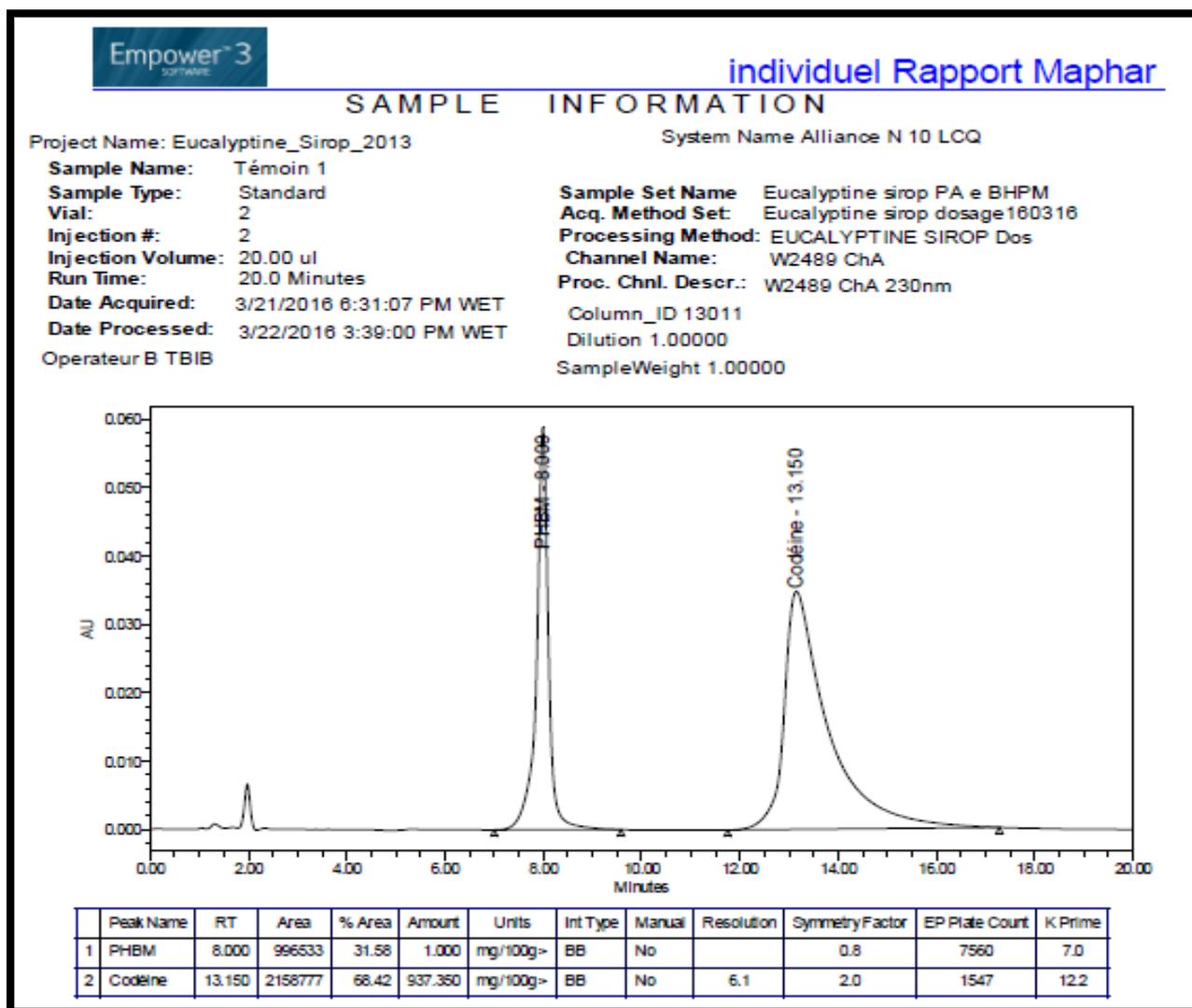
### IV.2.3 : Résultats et interprétations :

Les solutions préparées étaient injectées deux fois dans l'appareil HPLC, et nous avons obtenu les résultats suivants :

**Norme :** La teneur de la codéine : 95 à 105 mg/100g.

La teneur du PHBM : 45 à 55 mg/100g.

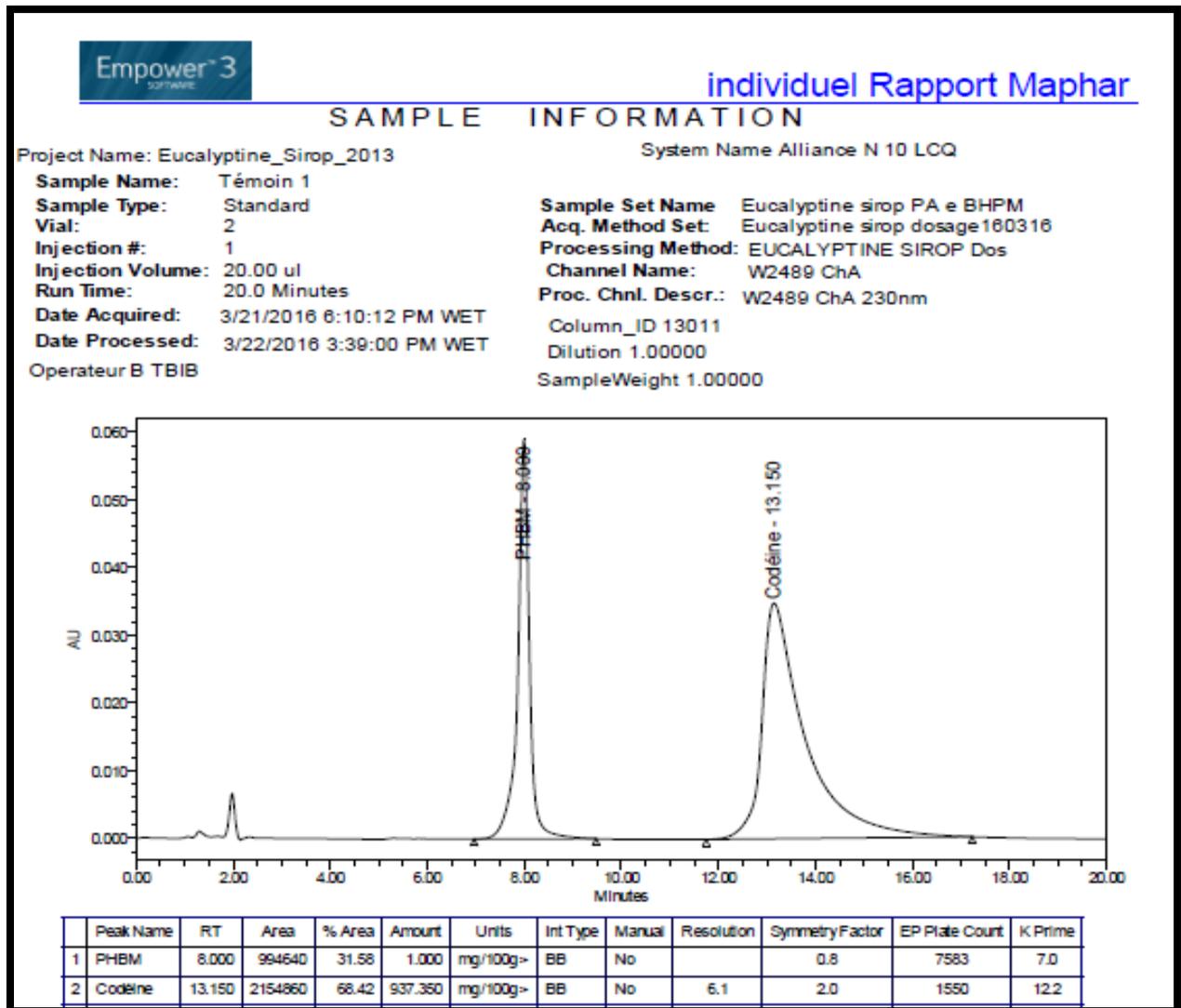
### Résultats d'analyse du témoin



**Figure 19 : Chromatogramme du témoin 1 de la première injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics du parahydroxybenzoate de méthyle (conservateur), et de la codéine qui sortent respectivement à 8 min et 13,15 min.

On remarque que le pic du PHBM est symétrique (agent conservateur), au temps que le pic de la codéine est assymétrique à cause de sa teneur élevée.



**Figure 20 : Chromatogramme du témoin 1 de la deuxième injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics du parahydroxybenzoate de méthyle (conservateur), et de la codéine qui sortent respectivement à 8 min et 13,15 min.

On remarque que le pic du PHBM est symétrique (agent conservateur), au temps que le pic de la codéine est asymétrique.

## SAMPLE INFORMATION

Project Name: Eucalyptine\_Sirop\_2013

System Name Alliance N 10 LCQ

Sample Name: Témoin 1

Sample Type: Standard

Vial: 2

Injection #: 3

Injection Volume: 20.00 ul

Run Time: 20.0 Minutes

Date Acquired: 3/21/2016 6:52:04 PM WET

Date Processed: 3/22/2016 3:39:00 PM WET

Operateur B TBIB

Sample Set Name Eucalyptine sirop PA e BHPM

Acq. Method Set Eucalyptine sirop dosage 160316

Processing Method: EUCALYPTINE SIROP Dos

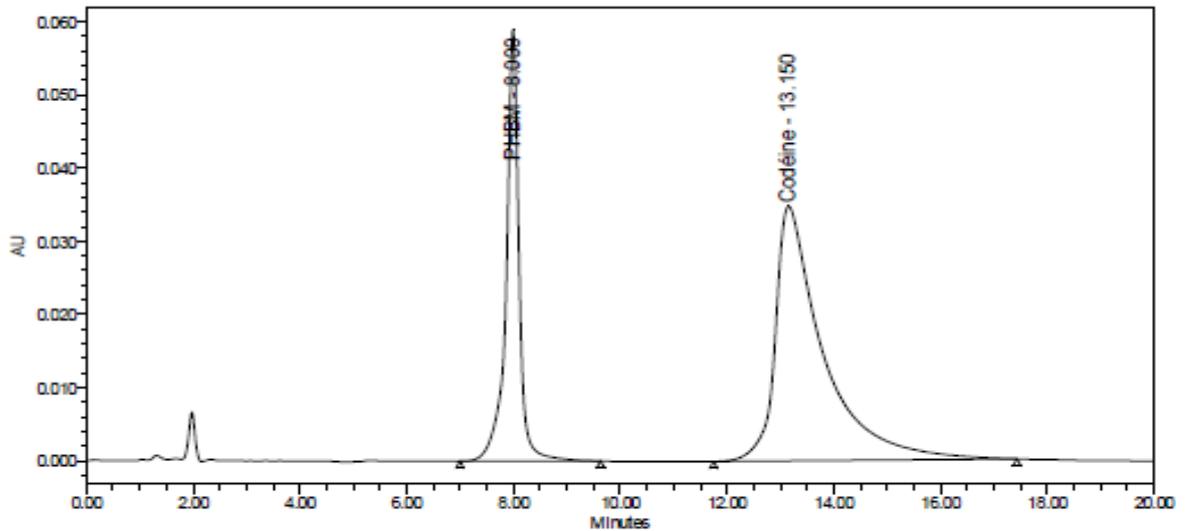
Channel Name: W2489 ChA

Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 230nm

Column\_ID 13011

Dilution 1.00000

SampleWeight 1.00000



Peak Name	RT	Area	% Area	Amount	Units	Int Type	Manual	Resolution	Symmetry Factor	EP Plate Count	K Prime
1 PHBM	8.000	993782	31.51	1.000	mg/100g>	BB	No		0.8	7614	7.0
2 Codéine	13.150	2159697	68.49	937.350	mg/100g>	BB	No	6.1	2.1	1552	12.2

**Figure 21 : Chromatogramme du témoin 1 de la troisième injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics du parahydroxybenzoate de méthyl (conservateur), et de la codéine qui sortent respectivement à 8 min et 13,15 min.

On remarque que le pic du PHBM est symétrique (agent conservateur), au temps que le pic de la codéine est asymétrique.

Les tableaux suivants présentent les moyennes du temps de rétention et de la surface des pics du témoin par trois injections successives.

**Component Summary For Retention Time**  
Channel: W 2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	PHBM	Codéine
1	Témoin 1	1	W2489 ChA	2	8.000	13.150
2	Témoin 1	2	W2489 ChA	2	8.000	13.150
3	Témoin 1	3	W2489 ChA	2	8.000	13.150
Mean					8.000	13.150
Std. Dev.					0.000	0.000
% RSD					0.0	0.0

**Component Summary For Area**  
Channel: W 2489 ChA

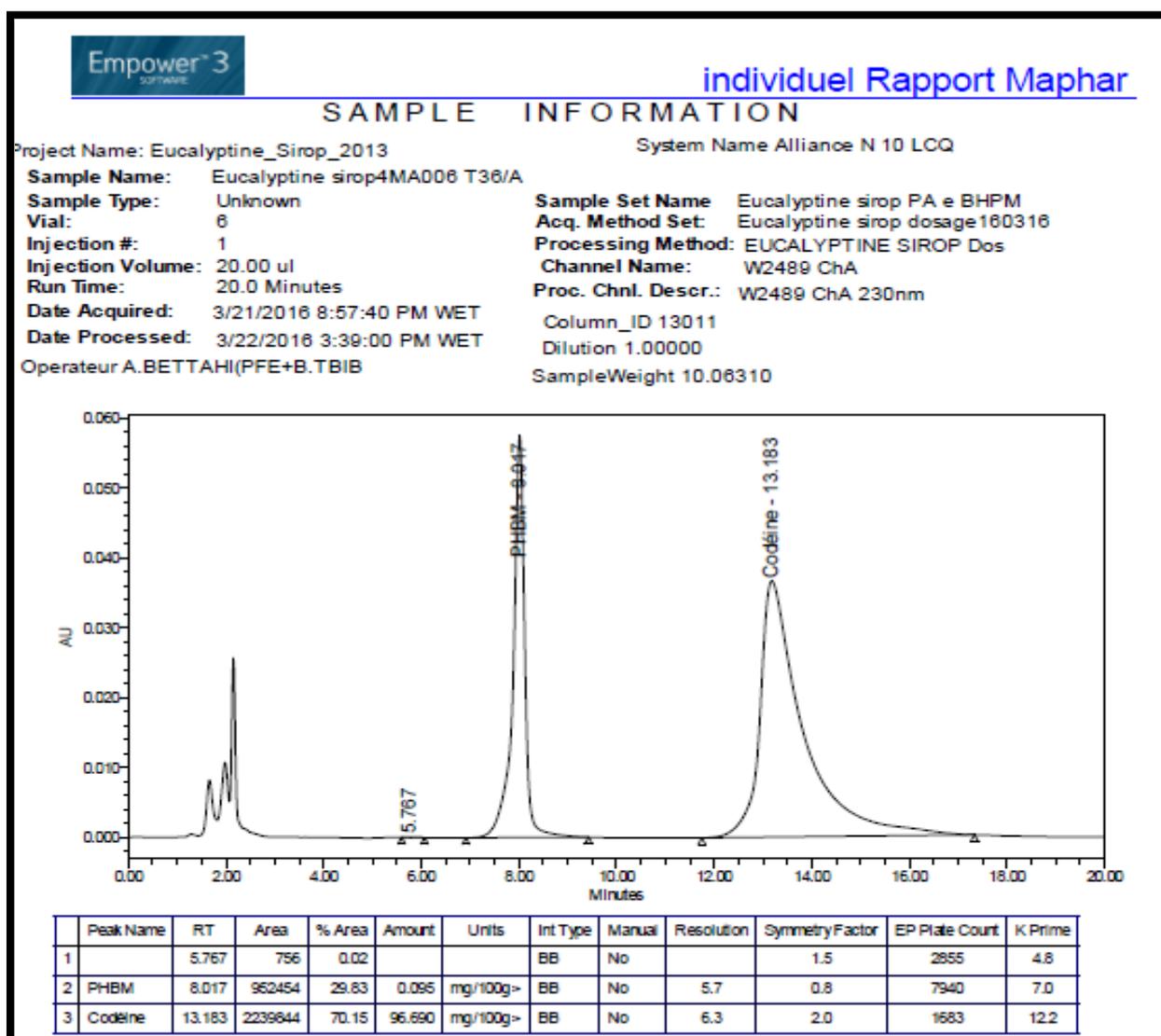
	Sample Name	Inj	Channel	Vial	PHBM	Codéine
1	Témoin 1	1	W2489 ChA	2	994640	2154860
2	Témoin 1	2	W2489 ChA	2	996533	2158777
3	Témoin 1	3	W2489 ChA	2	993782	2159697
Mean					994985	2157778
Std. Dev.					1408	2569
% RSD					0.1	0.1

**Component Summary For Amount**  
Channel: W 2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	SampleWeight	Dilution	PHBM	Codéine
1	Témoin 1	1	W2489 ChA	2	1.0000	1.0000	1.000	937.350
2	Témoin 1	2	W2489 ChA	2	1.0000	1.0000	1.000	937.350
3	Témoin 1	3	W2489 ChA	2	1.0000	1.0000	1.000	937.350
Mean							1.000	937.350
Std. Dev.							0.000	0.000
% RSD							0.0	0.0

**Figure 22 : Résultats obtenus par les chromatogrammes du témoin.**

## Résultats d'analyse de l'essai



**Figure 23 : Chromatogramme de l'essai de la première injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics du parahydroxybenzoate de méthyle (conservateur), et de la codéine qui sortent respectivement à 8,017 min et 13,183 min.

## SAMPLE INFORMATION

Project Name: Eucalyptine\_Sirop\_2013

System Name Alliance N 10 LCQ

Sample Name: Eucalyptine sirop4MA006 T36/A'

Sample Type: Unknown

Vial: 7

Injection #: 1

Injection Volume: 20.00 ul

Run Time: 20.0 Minutes

Date Acquired: 3/21/2016 9:18:36 PM WET

Date Processed: 3/22/2016 3:39:00 PM WET

Operateur A.BETTAHI(PFE+B.TBIB)

Sample Set Name Eucalyptine sirop PA e BHPM

Acq. Method Set: Eucalyptine sirop dosage 160316

Processing Method: EUCALYPTINE SIROP Dos

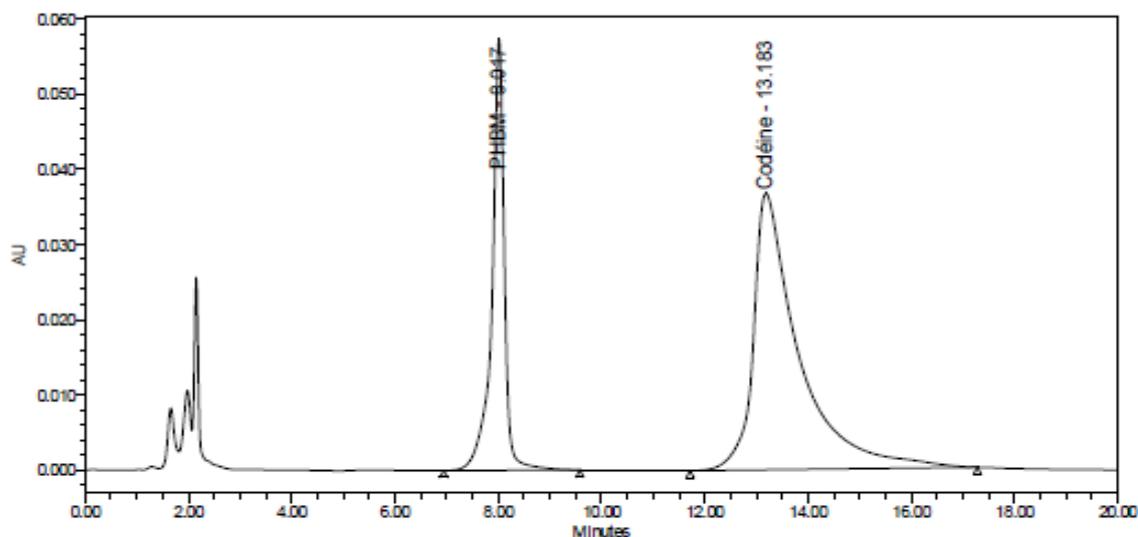
Channel Name: W2489 ChA

Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 230nm

Column\_ID 13011

Dilution 1.00000

SampleWeight 10.06320



Peak Name	RT	Area	% Area	Amount	Units	Int Type	Manual	Resolution	Symmetry Factor	EP Plate Count	K Prime
1 PHBM	8.017	957167	29.93	0.096	mg/100g>	BB	No		0.8	7826	7.0
2 Codéine	13.183	2241156	70.07	96.746	mg/100g>	BB	No	6.3	2.0	1689	12.2

**Figure 24 : Chromatogramme de l'essai de la deuxième injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics du parahydroxybenzoate de méthyle (conservateur), et de la codéine qui sortent respectivement à 8,017 min et 13,183 min.

Les tableaux suivants présentent les moyennes du temps de rétention et de la surface des pics de l'essai par trois injections successives.

**Component Summary For Retention Time**  
Channel: W 2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	PHBM	Codéine
1	Eucalyptine sirop4MA006 T36/A	1	W2489 ChA	6	8.017	13.183
2	Eucalyptine sirop4MA006 T36/A'	1	W2489 ChA	7	8.017	13.183
Mean					8.017	13.183
Std. Dev.					0.000	0.000
% RSD					0.0	0.0

**Component Summary For Area**  
Channel: W 2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	PHBM	Codéine
1	Eucalyptine sirop4MA006 T36/A	1	W2489 ChA	6	952454	2239844
2	Eucalyptine sirop4MA006 T36/A'	1	W2489 ChA	7	957167	2241156
Mean					954811	2240500
Std. Dev.					3333	928
% RSD					0.3	0.0

**Component Summary For Amount**  
Channel: W 2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	SampleWeight	Dilution	PHBM	Codéine
1	Eucalyptine sirop4MA006 T36/A	1	W2489 ChA	6	10.0631	1.0000	0.095	96.690
2	Eucalyptine sirop4MA006 T36/A'	1	W2489 ChA	7	10.0632	1.0000	0.096	96.746
Mean							0.095	96.718
Std. Dev.							0.000	0.039
% RSD							0.3	0.0

**Figure 25 : Résultats obtenus par les chromatogrammes de l'essai.**

Lors du dosage du parahydroxybenzoate de méthyl (conservateur), et de la codéine (Principe actif), nous avons obtenu des teneurs qui correspondent à 47% et 96,72 % respectivement. Ces résultats sont conformes vue leur appartenance aux intervalles des normes d'acceptation.

**Remarque :**

La teneur de la codéine et du parahydroxybenzoate de méthyl est donnée automatiquement par l'appareil HPLC, mais, on peut la calculer par la relation suivante :

**Codéine :**

$$T'(mg/100g) = (Ec/Tc) \times (C/100) \times (20/100) \times (Tsec/100) \times (100/PE) \times 100$$

$$=(E_c/T_c) \times (C/PE) \times 20 \times (T_{sec}/100)$$

Avec :

$E_c$  : surface du pic de la codéine dans la solution essai.

$T_c$  : surface du pic de la codéine dans la solution témoin.

$C$  : prise d'essai de la codéine monohydrate en mg.

$PE$  : prise d'essai de l'essai en g.

$T_{sec}$  : Titre sec du témoin de référence.

**Parahydroxybenzoate de méthyl :**

Teneur en PHBM exprimé en mg/100g de sirop :

$$T''(\text{mg}/100\text{g}) = (E_p/T_p) * (P/100) * (20/100) * (T_{as\ is}/100) * (100/PE) * 100$$

$$=(E_p/T_p) * (P/PE) * 20 * (T_{as\ is}/100)$$

Avec:

$E_p$  : surface du pic du PHBM dans la solution essai.

$T_p$  : surface du pic du PHBM dans la solution témoin.

$P$  : prise d'essai du PHBM en mg.

$PE$  : prise d'essai de l'essai en g  $T_{as\ is}$  : titre tel quel du témoin de référence.

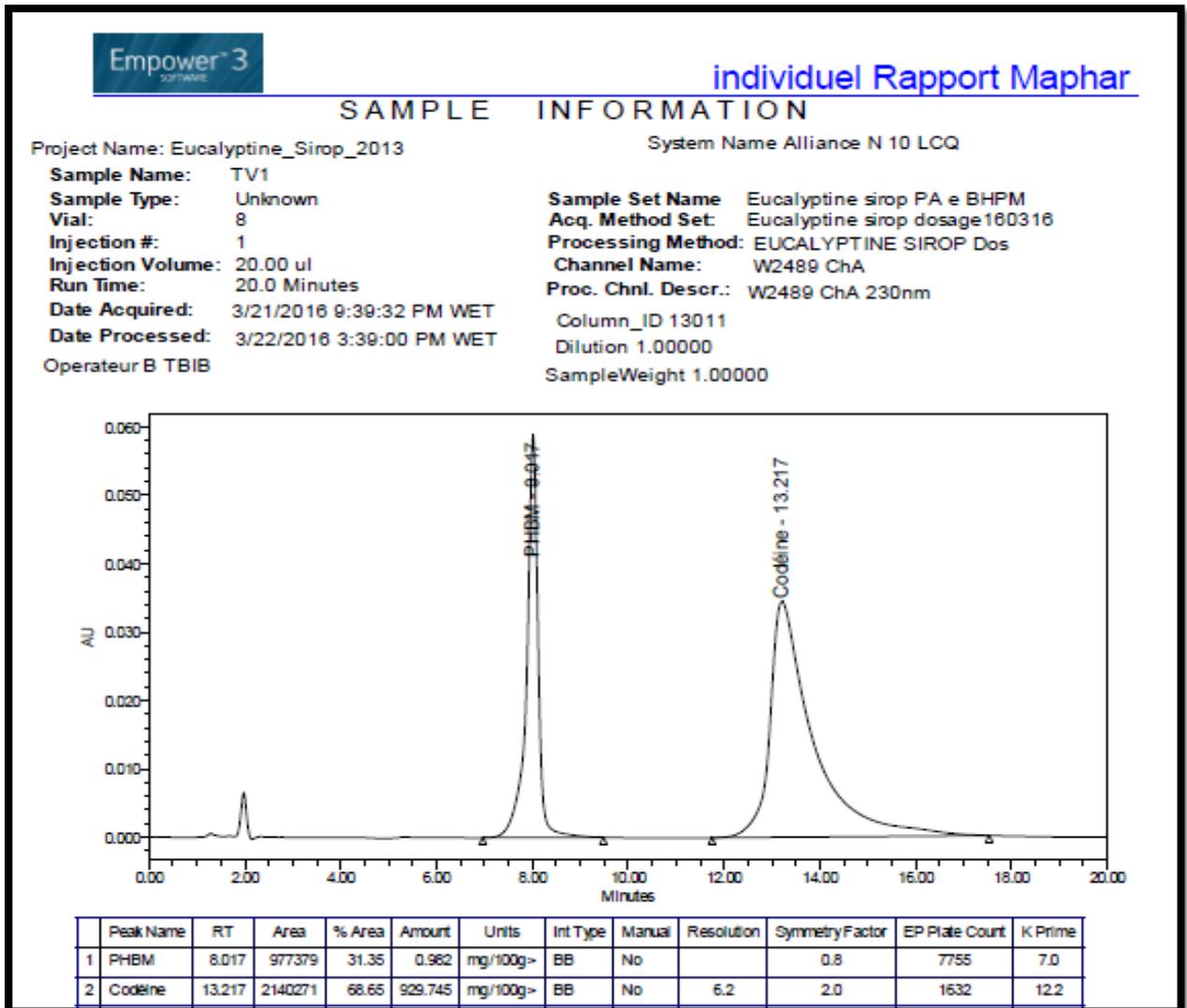
Faire la moyenne des 2 essais pour la codéine et pour le PHBM.

**Application numérique pour PHBM :**

**Tableau 6 : Résultats du parahydroxybenzoate de méthyle obtenus par HPLC**

Ep	TP	P/PE	Titre/100*20	Pourcentage (%)
954781	994640	2,494261212	19,764	47,32
952678	996533	2,494236426	19,764	47,13
953729,5	995586,5	2,494248819	19,764	47,22

## Témoin de vérification



**Figure 26 : Chromatogramme du Témoin de vérification de la première injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics du parahydroxybenzoate de méthyle (conservateur), et de la codéine (principe actif) qui sortent respectivement à 8,017 min et 13,217 min.

## SAMPLE INFORMATION

Project Name: Eucalyptine\_Sirop\_2013

System Name Alliance N 10 LCQ

Sample Name: TV1

Sample Type: Unknown

Vial: 8

Injection #: 2

Injection Volume: 20.00 ul

Run Time: 20.0 Minutes

Date Acquired: 3/21/2016 10:00:29 PM WET

Date Processed: 3/22/2016 3:39:00 PM WET

Operateur B TBIB

Sample Set Name: Eucalyptine sirop PA e BHPM

Acq. Method Set: Eucalyptine sirop dosage160316

Processing Method: EUCALYPTINE SIROP Dos

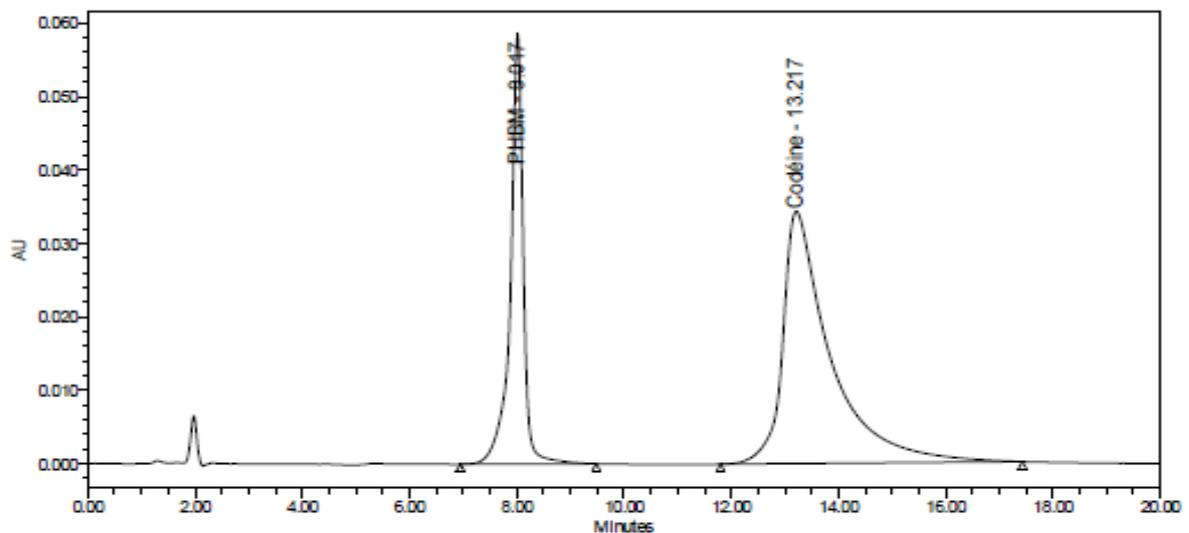
Channel Name: W2489 ChA

Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 230nm

Column\_ID 13011

Dilution 1.00000

SampleWeight 1.00000



Peak Name	RT	Area	% Area	Amount	Units	Int Type	Manual	Resolution	Symmetry Factor	EP Plate Count	K Prime
1 PHBM	8.017	979422	31.64	0.984	mg/100g>	BB	No		0.8	7639	7.0
2 Codéine	13.217	2116484	68.36	919.412	mg/100g>	BB	No	6.2	2.0	1608	12.2

**Figure 27 : Chromatogramme du témoin de vérification de la deuxième injection.**

Le chromatogramme ci-dessus présente deux pics du parahydroxybenzoate de méthyl (conservateur), et de la codéine qui sortent respectivement à 8,017 min et 13,217 min.

Les valeurs du témoin de vérification donnent presque les mêmes valeurs obtenues dans le témoin et les essais. Ces valeurs sont utilisées pour vérifier que le système est fiable.

**Component Summary For Retention Time**  
Channel: W 2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	PHBM	Codéine
1	TV1	1	W2489 ChA	8	8.017	13.217
2	TV1	2	W2489 ChA	8	8.017	13.217
Mean					8.017	13.217
Std. Dev.					0.000	0.000
% RSD					0.0	0.0

**Component Summary For Area**  
Channel: W 2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	PHBM	Codéine
1	TV1	1	W2489 ChA	8	977379	2140271
2	TV1	2	W2489 ChA	8	979422	2116484
Mean					978400	2128377
Std. Dev.					1445	16820
% RSD					0.1	0.8

**Component Summary For Amount**  
Channel: W 2489 ChA

	Sample Name	Inj	Channel	Vial	SampleWeight	Dilution	PHBM	Codéine
1	TV1	1	W2489 ChA	8	1.0000	1.0000	0.982	929.745
2	TV1	2	W2489 ChA	8	1.0000	1.0000	0.984	919.412
Mean							0.983	924.579
Std. Dev.							0.001	7.307
% RSD							0.1	0.8

**Figure 28 : Résultats obtenus par les chromatogrammes du témoin de vérification.**

Les valeurs du témoin de vérification donnent presque les mêmes valeurs obtenues dans le témoin et les essais. Ces valeurs sont utilisées pour vérifier que le système est fiable.

#### **IV.4 : Calcul des impuretés de la codéine par quantification :**

**Normes :** Chlorhydrate de morphine < 0,17%.  
Méthyl-codéine < 1%.  
Somme des impuretés < 3%.

Le tableau suivant présente les impuretés possibles dans le sirop étudié et leurs temps de rétention :

**Tableau 7 : Impuretés possibles dans le sirop et leurs temps de rétention.**

	TR (sec)	TRR
Codéine N oxyde	182	0,32
Norcodeine	214	0,38

Morphine	300	0,53
PHB de méthyle	456	0,80
Codéine	571	1
Codéinone	748	1,31
Méthylcodéine	1014	1,78

1) Calcul des impuretés non identifiées :

La formule utilisée est la suivante :  $Y = AIE/AcE$ .

2) Calcul de la teneur en impureté en mg/100mg de codéine :

La formule utilisée est la suivante :  $I\% = Y*100/ bi$ .

Avec :

**AIE:** aire du pic de l'impureté dans la solution E.

**AcE:** aire du pic de la codéine dans la solution E.

**bi:** coefficient de réponse relatif de l'impureté par rapport à celui de la codéine (pour les impuretés non identifiées  $bi = 1$ ).

Le tableau suivant présente les coefficients de réponse relative des impuretés (par rapport à la codéine monohydrate à 230nm) :

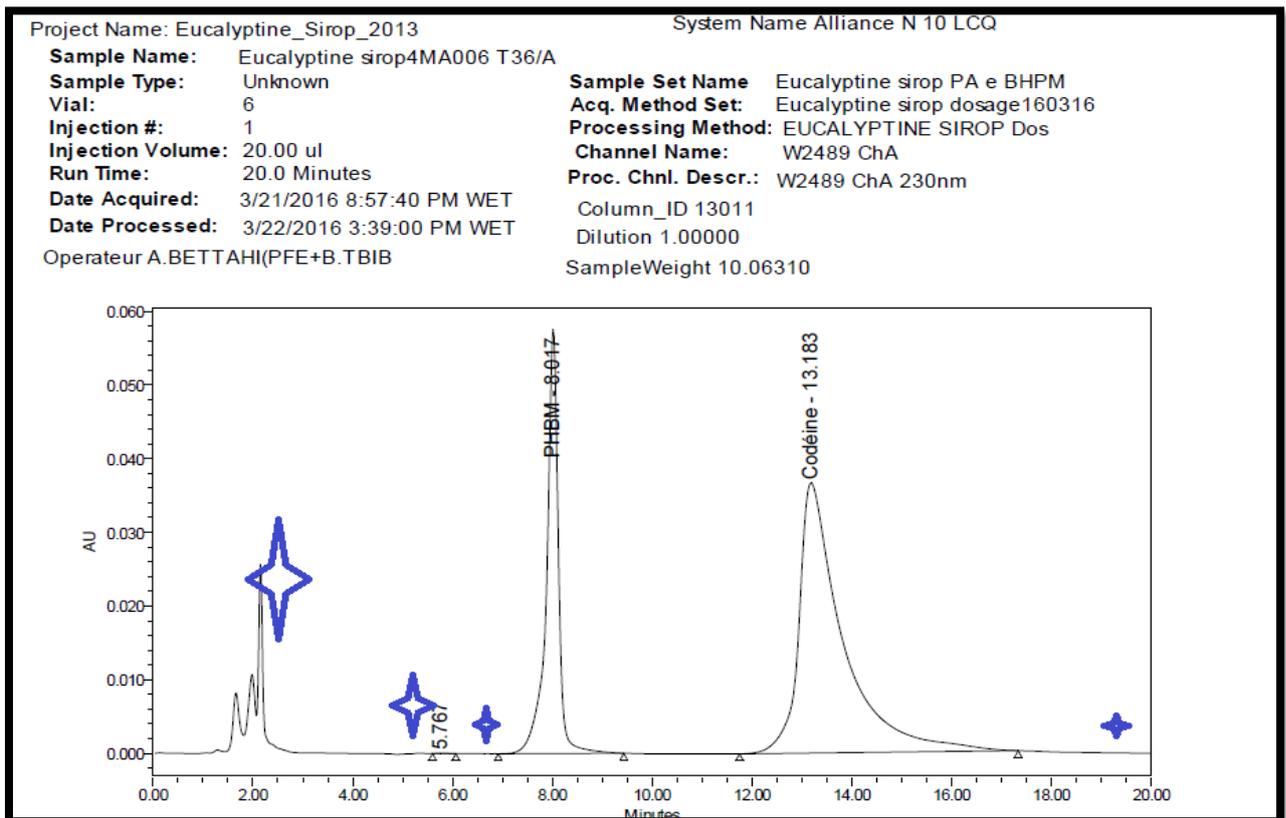
**Tableau 8 : Coefficients de réponse relatifs des impuretés.**

Impureté	Bi
Codéine N oxyde	0,86
Norcodéine	1,12
Chlorhydrate de morphine	0,80
Codéinone	1,53
Méthylcodeine	1,05

### 3) Dosage des substances apparentées de la codéine par HPLC :

**Tableau 9 : Calcul des impuretés dans le chromatogramme de l'essai.**

	Codeine N oxyede	Norco-déine	Chlorhydrate de morphine	Codéine ds l'essai	methylco-déine	PHBM	Codéinone
<b>Bis</b>	0,86	1,12	0,8	1,53	1,05	1	1,53
<b>TRRs</b>	0,32	0,38	0,53	13,167	1,78	0,8	1,31
<b>Temps de rétention</b>	4,21344	5,00346	6,97851	1	23,43726	10,5336	2,3318
<b>Surfaces</b>	0	0	0	2224873	0	953729	0
<b>Ys</b>	0	0	0	1	0	0,428666715	0
<b>i%</b>	0	0	0	65,35947712	0		0
<b>Norme</b>			≤0,17%		1%	Somme de l'imp ≤ 3%	



**Figure 29 : Chromatogramme d'analyse des impuretés dans l'essai.**

Cette analyse nous a montré que la teneur en impuretés dans la codéine est acceptable selon les normes citées ci-dessus.

On s'est appuyé sur le chromatogramme de l'essai pour calculer les temps de rétention des impuretés par la relation suivante :  $Tr_a = Tr(\text{codéine}) \times TRR$ .

#### IV.5 : Analyse microbiologique :

Dans cette analyse, on procède à deux tests :

- ✓ Dénombrement des germes aérobies totaux inférieur à  $10^2$  UFC/ml.
- ✓ Dénombrement des levures et moisissures totales inférieur à  $10^2$  UFC/ml.

Pour le calcul nous avons utilisé 2 boîtes de pétries remplies une par le ts agar et l'autre par s agar.

La première est utilisée pour la recherche des bactéries pendant 5 jours ainsi que le deuxième est spécifique pour la recherche des levures et moisissures pendant 7 jours dans l'étuve à  $35^\circ\text{C}$ .



**Figure 30 : Boîtes de pétries de ts agar et sabouro agar.**

a) Ajustement du pH :

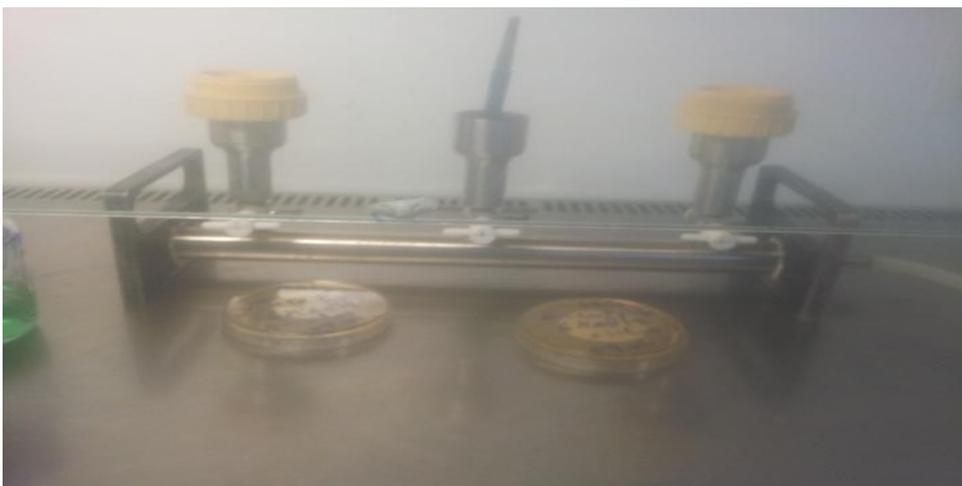
On procède à une dilution de 10ml du sirop à pH = 7 (dilution 1/10), et on ajuste le pH par HCl ou par Na OH stérile.



**Figure 31 : pH-mètre.**

Rampe à filtration qui se compose :

- Ampoule stérile
- Pince stérile
- Membrane à filtration stérile



**Figure 32 : Rampe à filtration stérile utilisée.**

**b) Mode opératoire :**

Pour faire cette étude nous avons mis dans l'ampoule stérile, une membrane a filtration stérile par la pince stérile et ajouté 10 ml de sirop puis nous l'avons rincé avec le diluant pH=7.

On prend chaque membrane a filtration avec le pince stérile et on met chaque une dans la boite de pétrie

**Calcul pour le dénombrement des germes aérobies totaux :**

$$1 \times 100 / 10 = 10 \text{ UFC/ml.}$$

**Calcul pour le dénombrement des levures et moisissures totales :**

$$0 \times 100 / 10 = 0 \text{ UFC/ml.}$$

On déduit que les deux tests sont conformes.

**IV.6 : Résultat général du test de stabilité effectué :**

Le tableau ci- dessous montre les résultats étudiés au toute long de ce rapport.

**Tableau 10 : Résultat général du test de stabilité.**

Détermination	Spécification	Résultats
<b><u>Caractères</u></b>		
Aspect	Liquide sirupeux, de couleur verte, à odeur de Cinéol, limpide	Conforme
<b><u>Essai</u></b>		
Volume moyen	≥ 125 ml	126 ml
pH	4,5 à 6,5	5,3
Substance apparentée de la codéine :		
Chlorhydrate de morphine	≤ 0,17%	0%
Méthylcodéine	≤ 1%	0%
Somme des impuretés	≤ 3%	0%
<b><u>Dosage</u></b>		
Cinéol	16,63 à 18,38mg/100g	13,32mg/100g
Codéine	95 à 105mg/100g	96,72mg/100g
Parahydroxybenzoate de méthyle sodé	45 à 55 mg/100g	47,2mg/100g
<b><u>Contamination microbienne</u></b>		
Dénombrement des germes aérobies totaux	≤ 10 <sup>2</sup> UFC/ml	<u>10 UFC</u>
Dénombrement des levures et moisissures totales	≤ 10 <sup>2</sup> UFC/ml	<u>0 UFC</u>

## CONCLUSION :

Nous avons réalisé des dosages par HPLC et CPG du produit étudié qui est un sirop nommé « Eucalyptine le brun », ces méthodes présentent des critères analytiques validés. Donc elles pourront être utilisées en stabilité au laboratoire de contrôle qualité, nous permettant la garantie que chaque mesure qui sera réalisée ultérieurement, sera suffisamment proche de la vraie valeur inconnue de l'échantillon ou du moins comprise dans une limite d'acceptation.

Ces résultats ont été validés par l'intermédiaire du logiciel, ce dernier aide à réaliser aisément l'ensemble des calculs statistiques et à valider l'ensemble des procédures analytiques utilisées dans les rubriques d'identification.

Lors du dosage du cinéol par CPG, nous avons remarqué qu'il y'a une non-conformité au niveau de la teneur du cinéol. Cette problématique nous a amené à réfléchir à l'agent causal de ceci.

Parmi les causes que nous pouvons proposer :

La dégradation du cinéol par la lumière, ou la diminution de sa teneur en présence d'excès d'eau.

D'où la manipulation du cinéol à l'abri de la lumière, ou en présence de faibles quantités d'eau peut conduire aux résultats souhaités.

Mais en raison de confidentialité de la société nous n'avions pas l'opportunité d'effectuer ces analyses

## Bibliographie :

- [1]: Chen ZR, et al. Disposition and metabolism of codeine after single and chronic doses in one poor and seven extensive metabolisers. *Br J Clin Pharmacol* 1991;31:381–90.
- [2] Ingelman-Sundberg M, et al. Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment. *Trends Pharmacol Sci* 1999;20:342–9.
- [3] Caraco Y. Genes and the response to drugs. *N Engl J Med* 2004;351:2867–9.
- [4] Gasche Y, et al. Codeine intoxication associated with ultrarapid CYP2D6 metabolism. *N Engl J Med* 2004;351(27):2827–30.
- [5] : *Chemico-Biological Interactions*, Volume 242, 5 December 2015, Pages 263-271. Biljana Nikolić, Bojana Vasiljević, Dragana Mitić-Ćulafić, Branka Vuković-Gačić, Jelena Knežević-Vukćević
- [6] : *Chemico-Biological Interactions*, Volume 242, 5 December 2015, Pages 263-271. Zahra Zeraatpisheh, Jafar Vatanparast.
- [7] : Maria Regina Gomes-Carneiro, Israel Felzenszwalb, Francisco J.R Paumgarten, Mutagenicity testing of (±)-camphor, 1,8-cineole, citral, citronellal, (–)-menthol and terpineol with the Salmonella/microsome assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, Volume 416, Issues 1-2, 7 August 1998, Pages 129-136.
- [8]: Poppenga RH. Risks associated with the use of herbs and other dietary supplements. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2001 Dec;17(3):455-77.
- [9] : *Les explorations fonctionnelles digestives*, 2010, Pages 47-59 S. Bruley des Varannes, K. Belhocine.
- [10] : Szepesi G. Selection of high performance liquid chromatographic methods in pharmaceutical analysis. *J Chromatogr.* 1989; 464:265-278.
- [11]: Jenke DR. Chromatographic method validation: a review of common practices and procedures II. *J Liq Chromat.* 1996;737-757.

[12]: Gwenola Burgot, Jean-Louis Burgot, Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications, Lavoisier, 3ème édition, 2011.

[13]: J.C. Allageas ,A. Arnaud, P. Galzy ,A. Arnaud, P. Galzy. Journal of Chromatography A .Volume 166, Issue 1, 1 December 1978, Pages 181-187.