

## Licence Sciences et Techniques (LST)

# GENIE CHIMIQUE

## PROJET DE FIN D'ETUDES

### L'Identification de l'impureté 4-aminophénol dans le Paracétamol par les méthodes chromatographiques

#### Présenté par :

- ◆ **Fatima-Zahra Dahni**

#### Encadré par :

- ◆ **Mr ZARHLOUL Redouane**
- ◆ **Pr SAFFAJ Taoufiq**

**Soutenu Le 05 Juin 2018 devant le jury composé de :**

- **Pr SAFFAJ Taoufiq**
- **Pr IHSSANE Bouchaib**
- **Pr ZAITAN Hicham**

**Stage effectué à LAPROPHAN**

**Année Universitaire 2017 / 2018**

# REMERCIEMENT

- ✦ Je tiens à remercier dans un premier temps, toute l'équipe pédagogique de la Faculté des Sciences et Techniques de FES et les intervenants professionnels responsables de la filière génie chimique.
- ✦ Je remercie également mon encadrant Mr. SAFFAJ Taoufiq, pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.
- ✦ Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à ma recherche en acceptant d'examiner mon travail Et de l'enrichir par leurs propositions.
- ✦ Je tiens à remercier tout particulièrement Mr. ZEGHLOUL (chef de laboratoire de contrôle de qualité de LAPROPHAN) d'avoir accepté de me diriger et de suivre ma formation avec bienveillance et intérêt. Je désire le remercier pour la chance qu'il m'a donnée d'élargir mon horizon scientifique et d'approfondir mon apprentissage dans ce domaine pharmaceutique.
- ✦ Je tiens également à remercier Mr. ROUANE, pour son encadrement, son soutien et ses bonnes explications qui m'ont éclairé le chemin de la recherche et sa collaboration avec nous dans l'accomplissement de ce modeste travail.
- ✦ Je tiens enfin à remercier tout particulièrement ma famille qui m'a accordé la liberté d'action et la patience nécessaires pour réaliser ce travail ainsi que toutes les personnes qui m'ont soutenue.

# SOMMAIRE

Introduction.....	1
Chapitre 1: Présentation de l'organisme d'accueil et contrôle de qualités.....	2
1. Département de contrôle de qualité .....	4
1.1 : les sections de laboratoire de contrôle.....	4
1.2 : Contrôle de la matière première.....	4
1.3 : Contrôle du produit fini .....	7
1.4 : Contrôle des produits en cours de fabrication .....	8
Chapitre 2 : Contrôle de qualité des produits pharmaceutiques.....	9
1.Analyse et contrôle de qualité des produits pharmaceutiques .....	10
2.Classification des impuretés .....	11
2.1 Impuretés organiques .....	11
2.1.1: Substances apparentées.....	11
2.1.2 : Les isomères .....	11
2.2 Impuretés inorganiques .....	12
2.3 Solvants résiduels .....	12
3.Méthodes d'analyses .....	12
3.1: Chromatographie sur couche mince (CCM).....	12
3.2: Chromatographie liquide haute performance (HPLC).....	13
Chapitre 3 : Partie expérimentale.....	14
1. Le paracétamol .....	15
2. Le contrôle du 4-aminophénol par CCM .....	16
3. Le contrôle du 4-aminophénol par HPLC.....	19
Conclusion .....	26

## Introduction

L'industrie pharmaceutique est un secteur industriel chargé de la conception, la fabrication, du conditionnement et de la commercialisation des spécialités pharmaceutiques, pour la prévention et le traitement des maladies. Les spécialités pharmaceutiques destinées à l'homme doivent nécessairement, avant leur distribution, avoir reçu une autorisation de mise sur le marché des autorités compétentes. Ceci est effectué grâce à des sociétés qui sont chargées de contrôler les médicaments pour leur commercialisation sur le marché sans aucun danger pour la santé publique.

La fabrication des médicaments fait l'objet de contrôles rigoureux tout au long du procédé de fabrication. Un médicament n'est pas une simple mixture d'ingrédients, il est très complexe, il doit répondre aux trois critères : qualité, sécurité et efficacité. Pour toutes ces raisons la maîtrise des méthodes de contrôle et la connaissance des bons pratiques de laboratoire sont les piliers de la formation des analystes de laboratoire ce qui fait le sujet de la première formation de tout personnel intégrant le laboratoire de contrôle de qualité.

L'objectif de ce stage, effectué au sein de l'entreprise LAPROPHAN, est d'identifier les impuretés du paracétamol, notamment le 4-aminophénol par des techniques d'analyses chromatographiques.

La structure de ce rapport s'articule autour de trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à la présentation de l'entreprise LAPROPHAN et du laboratoire de contrôle de qualité
- Le deuxième chapitre est réservé à la classification des impuretés et l'exposition des méthodes d'analyses utilisées généralement dans le laboratoire de contrôle qualité LAPROPHAN pour identifier les impuretés des médicaments
- Enfin, le dernier chapitre est dédié à la partie expérimentale qui concerne les tests et les analyses effectués par deux méthodes Chromatographiques à savoir la chromatographie sur couche mince (CCM) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

# **Chapitre I : Présentation générale du laboratoire de contrôle de qualités**

---

LAPROPHAN S.A est depuis sa création en 1949, l'une des phares de la dimension industrielle pharmaceutique du Maroc, et ce dans le cadre des Plans Nationaux et des Hautes Directives Royales de développement économique du Maroc.

LAPROPHAN S.A. avec son usine modèle de 23.000 m<sup>2</sup>, à Casablanca, est devenu le premier producteur en unités et le premier laboratoire national au Maroc grâce aux orientations et à

l'impulsion qui lui sont données par son Président feu Monsieur ABDERRAHIM BENNIS, Pharmacien biologiste, diplômé de l'I.P.I. de Paris. Les structures scientifiques mises en place, notamment dans le domaine des contrôles, placent LAPROPHAN S.A. au meilleur niveau international (normes G.M.P.) De plus, LAPROPHAN.SA a lancé en exploitation depuis février 2004 son nouveau Centre de Distribution intelligent doté des nouvelles technologies de l'information et de logistique. Cet investissement, étalé sur une superficie de 13 000 m<sup>2</sup> et d'une valeur estimée à plus de 10 millions de Dollars USD, a pour principal objectif l'amélioration de la qualité de service relative à la distribution des produits pharmaceutiques au niveau national et international.

La "GAMME LAPROPHAN" développée et mise au point dans le cadre de sa société filiale de recherches et d'applications galéniques, en liaison avec les universités et hôpitaux marocains et étrangers autorise LAPROPHAN S.A. à répondre à la majorité des demandes thérapeutiques avec près de 200 Médicaments fabriqués qui bénéficient d'innovations continues. Les performances de LAPROPHAN S.A., témoignent d'une croissance annuelle de l'ordre de 10 à 15% sont non seulement le fait de ses moyens matériels sophistiqués mais surtout de la dynamique propre de son encadrement pharmaceutique, technique, administratif et commercial de très haut niveau.

L'ensemble du personnel de LAPROPHAN S.A. 800 personnes - bénéficie d'une formation continue Contribuant largement à la promotion individuelle.

LAPROPHAN S.A. développe un réseau national et international de relations publiques à l'écoute et au service du corps médical, tant au Maroc que dans plusieurs pays étrangers où LAPROPHAN S.A. exporte ses médicaments.

Le contrôle de qualités fait partie des bonnes pratiques de fabrication, il concerne l'échantillonnage des spécifications du contrôle ainsi que les procédures d'organisation de documentation et de libération qui garantissent que les analyses nécessaires et appropriées ont réellement été effectués et que les matières premières des articles de conditionnement et les produits ne sont pas libérés pour l'utilisation , la vente ou l'approvisionnement sans que leur qualité n'ait été satisfaisante ceci que leur réalisable que si la société dispose d'un laboratoire bien équipé en matériel d'analyse et avec un personnel organisé compétent et responsabilisé.

Pour que l'industrie pharmaceutique garantisse la sécurité, l'efficacité et la qualité de ses produits mis sur le marché, il faut qu'elle dispose d'un laboratoire de contrôle qualité actif et efficace assurant un contrôle chimique, physique et microbiologique des produits qui lui sont adressés.

## 1. Département de contrôle de qualité :

### 1.1 Les sections de laboratoire de contrôle :

**Section prélèvement :** Elle est chargée de l'échantillonnage des matières premières, de l'examen visuel préliminaire des contenants à échantillonner, de l'identification de l'état de contrôle des matières premières, de la réception, de l'enregistrement des échantillons des produits finis pour le contrôle, le classement des échantillons débloqués et de l'identification des échantillons témoins.

**Section physico-chimie :** Elle est équipée de matériel d'analyse nécessaire pour effectuer les contrôles physico-chimiques pour l'analyse des matières premières des produits finis ou ceux en cours de fabrication.

**Section bactériologie :** Elle permet d'effectuer les contrôles bactériologiques : contrôle stérilisé. Contrôle propreté.

**Section CAC :** Elle s'occupe du contrôle des articles de conditionnement des produits finis avant libération.

**Secrétariat technique :** Edite les étiquettes informatisées, les bulletins d'analyse et s'occupe du classement des dossiers de fabrication des produits et d'archivage.

### 1.2 Contrôle de la matière première :

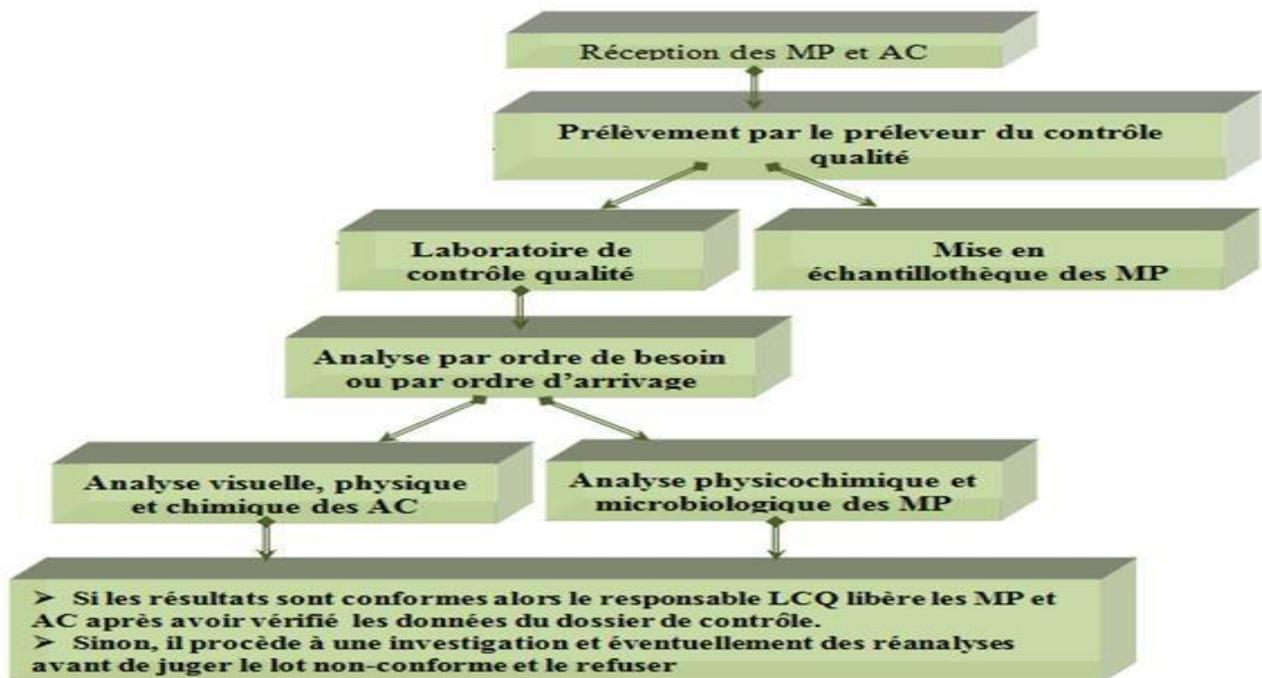


Figure 1 : Circuit d'analyse des matières premières (MP) et articles de conditionnement.

Le contrôle de la matière première se fait suivant des fiches techniques établis à partir de la pharmacopée européenne ou suivant des spécifications du fournisseur.

#### **Réception de la matière première :**

Les matières premières sont commandées par le service AT.PL « Approvisionnement transit planning logistique » à la réception d'une matière première MMP « Magazine matière première » oppose sur chaque contenant deux étiquettes

Une étiquette rouge : comportant les désignations :

- non prélevé
- ne pas utiliser
- non contrôlé

Une étiquette informatique désignant la matière première, son code spécifique, le Numéro de lot LAPROPHAN, le numéro de lot de fournisseur et le numéro de contenant.

#### **Échantillonnage :**

Les prélèvements d'échantillon sont effectués selon des procédures écrites et approuvées. Deux types de prélèvements sont réalisés :

- un prélèvement pour le contrôle physico-chimie.
- un prélèvement pour le contrôle bactériologique.

Le préleveur au moment du prélèvement masque la désignation « NON » avec 10 Une étiquette éditée par le système informatique partant les indications suivantes :

- Désignation produit
- Code de produit -Numéro d'arrivage
- Numéro de lot de fournisseur -Numéro de commande -Numéro de contenant
- Quantité /nombre de contenants -Pastille bleue
- Date d'arrivage
- Nom de fournisseur.

#### **Le contrôle :**

Le technicien de laboratoire contrôle le produit qui lui a été planifié, en se référant à la fiche technique approprié établie à partir de la pharmacopée européenne en suivant des spécifications fournisseur.

Le contrôle se base sur quatre axes principaux :

Caractères organoleptiques : C'est une caractérisation concernant la couleur, l'odeur et la granulométrie de la matière première qui permet de vérifier la conformité par rapport à un témoin déjà accepter et suivant la fiche technique correspondante aussi des tests de solubilité.

Identification : permet de reconnaître la matière première, elle se fait par :

- Des réactions chimiques qui sont souvent sélectives.
- Des réactions d'absorption dans l'UV-Visible.
- Des spectres d'infrarouge.
- Chromatographie sur couche mince.

Les essais : Ils sont effectués sur des échantillons moyens et permettent de caractériser la substance contrôlée (conductivité, pouvoir rotatoire, pH, viscosité.....), de déterminer un titre (taux de matière minérale par cendres ou taux d'humidité par perte à la dessiccation, ou la densité relative de la substance), ou la quantité des constituants mineurs ou étrangers qui peuvent influencer sur l'activité de la substance et induire aussi à des effets indésirables et même toxiques (essais limites des constituants inorganiques).

Les méthodes de dosage : Elles permettent de déterminer avec précision le titre ou la pureté de la substance chimique. Elles sont soit manuelles ou instrumentales.

- Dosage volumétrique : basé sur l'utilisation des solutions titrées qui réagissent avec la substance à doser. Il peut être direct ou en retour. Les points d'équivalence sont déterminés soit visuellement (Indicateurs colorés) soit par potentiomètre.
- Dosage gravimétrie.
- Dosage par HPLC.
- Dosage par spectrophotométrie.

**Déblocage** : Après contrôle, le technicien enregistre les résultats trouvés sur son cahier de contrôle de matière première et sur le bulletin d'analyse et les transmet au pharmacien qui effectue les vérifications nécessaires et donne sa décision d'acceptation ou de refus.

Si la matière première est acceptée, le préleveur masque les désignations « Ne pas utiliser »

Et « Non contrôlée » par l'étiquette « Acceptée ». Dans le cas contraire, le préleveur masque l'étiquette « Refusée » sur laquelle une pastille rouge est collée.

Pour les lots de matière première conforme, Un pour l'expertise dont la qualité est suffisante pour effectuer trois compléments.

-Un qui va servir de témoin pour le contrôle.

Le reste des échantillons déjà contrôlés sera transmis au service prélèvement pour la destruction avec une fiche qui indique : Désignation du produit, Code, Numéro d'arrivage, Nombre de prélèvements.

### 1.3 Contrôle du produit fini :

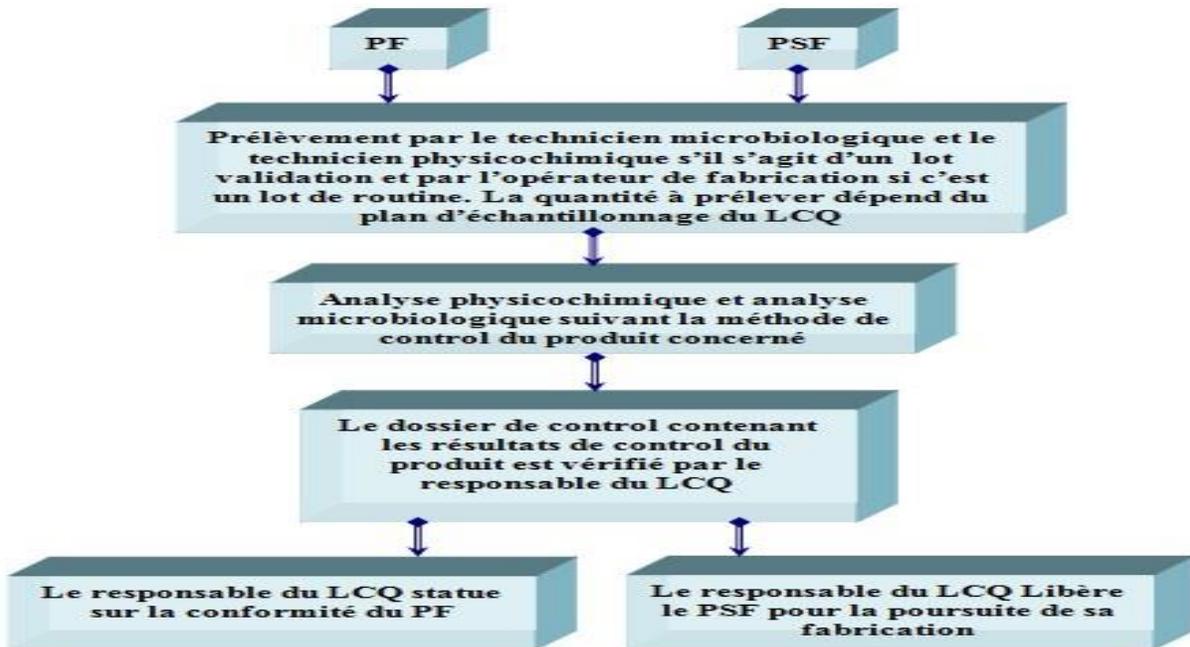


Figure 2 : Analyse des produits finis (PF) et des produits semi-finis (PSF).

- **Prélèvement :**

A la fin de la fabrication d'un produit, l'atelier livre un échantillon du produit accompagné du dossier de fabrication à la section prélèvement, en vue de le contrôler.

Le technicien transmet deux échantillons représentatifs au service prélèvement ;

- **Le contrôle :**

La section de prélèvement transmet au technicien de laboratoire de contrôle des échantillons du produit fini qui peut être sous l'une des formes suivantes :

- Forme liquide : sirop, ampoule buvable.....
- Forme pâteuse : Pommade, crème.....
- Forme sèche : comprimés, poudre, et granulés.....
- Forme injectable : solvants injectables, solutés massifs...

Le contrôle du produit fini porte sur les rubriques suivantes en principe :

- Caractérisation
- Détermination du poids et volume.
- Identification du premier actif ou excipients. Dosage des principes actifs.
- Autres : Désagrégation, perte de masse, pH .....

Les contrôles sont réalisés selon les fiches techniques appropriées et les résultats obtenus sont enregistrés sur les cahiers de laboratoire au fur et à mesure de l'avancement du contrôle. Ils sont reportés ensuite sur des bulletins d'analyse de couleur blanche.

#### **Déblocage du produit fini :**

A la fin du contrôle, l'ensemble des documents de fabrication et de contrôle sera vérifié et transmis au chef du laboratoire pour donner sa décision finale.

Les échantillons des produits finis acceptés seront classés par la section prélèvement dans une échantillothèque, le reste des échantillons contrôlés sera ensuite détruit.

NB : Les Produits Finis (PF) sont libérés par le Pharmacien responsable après vérification de leur dossier de contrôle par l'assurance qualité.

### **1.4 Contrôle des produits en cours de Fabrication**

Pour garantir un bon déroulement de la fabrication, avec des produits conformes, des contrôles en cours de fabrication ont été établis. Ils permettent de prévoir les anomalies en fabrication et ainsi de prendre les mesures nécessaires et de mettre en œuvre les actions correctives remédiant ainsi à tout problème de non-conformité détectée.

Les contrôles les plus courants sont :

#### ❖ Soluté massif :

- Dosage de principe actif : soit volumétrique ou par polarimétrie.
- Contrôle du pH.

#### ❖ Forme liquide :

- Dosage volumétrique du principe actif.
- Densité.
- Indice de réfraction.

#### ❖ Forme injectable :

- Contrôle du pH.
- Contrôle du volume.

## **Chapitre 2 : Contrôle de qualité des produits pharmaceutiques**

---

## 1. Analyse et contrôle de qualité des Produits pharmaceutiques :

Le dosage et l'identification de toute molécule médicamenteuse font appel à des procédés d'analyse très divers dont le choix n'est pas toujours facile. Il y a donc un lien avant de mettre au point ou adapter une technique analytique plus ou moins complexe (en temps et en matériels) de bien positionné le problème à résoudre, s'agit – il d'un contrôle d'identification ou du dosage. En effet la méthode analytique à utiliser sera fonction de :

- ❖ La composition du milieu :
  - Dans une matière première, le principe actif est le constituant Essentiel.
  - Dans une forme pharmaceutique, le ou les principes actifs Coexistent avec des excipients et des conservateurs.
- ❖ Des caractéristiques des méthodes analytiques :

Certaines méthodes sont plus ou moins sensibles et spécifiques. Ainsi les méthodes volumétriques ou spectrophotométriques seront utilisées sur des milieux limpides en l'absence de toute interférence importante. A l'inverse des méthodes chromatographiques seront utilisées lorsqu'il y a lieu de séparer le principe de substance endogène ou d'autres molécules à propriété voisine.

- ❖ Des caractéristiques de la molécule :
  - Les caractères organoleptiques de la molécule permettront dans certains cas simples une identification.
  - Les caractères physico-chimiques tels que le point de fusion le pouvoir rotatoire, les longueurs d'absorption UV ou IR, peuvent aider à l'identification d'une substance, le caractère acide/base, les propriétés spectrales, la solubilité, la stabilité, la volatilité..., Permettent de mettre au point l'extraction et le dosage de la molécule.

Il est noté que pour connaître les caractères physico-chimiques d'une matière première, il faut consulter :

- La pharmacopée Européenne qui renseigne sur les caractères Organoleptiques, les solubilités, les points de fusion, le pouvoir Rotatoire, les réactions colorées, les conditions de CCM.

Les fiches techniques et les dossiers techniques fournis par les laboratoires fabricants qui consignent généralement l'ensemble des renseignements nécessaires à l'identification et au dosage d'un principe actif.

Le contrôle des impuretés dans les produits pharmaceutiques est l'objet d'une préoccupation essentielle des analystes de l'industrie pharmaceutique et d'une attention particulière des autorités de santé. Il s'agit de s'assurer de la qualité des produits mais également de leur sécurité.

Les impuretés, présentes dans principes actifs utilisées dans les médicaments, peuvent engendrer des conséquences plus ou moins graves et plus ou moins réversibles en termes de santé publique.

## 2. Classification des impuretés

Il existe de nombreux types d'impuretés. Celles-ci peuvent être classées en 3 grandes catégories :

2.1 - Impuretés organiques

2.2- Impuretés inorganiques

2.3- Solvants résiduels.

### 2.1 : impuretés organiques

- **Substances apparentées**

L'essai des « substances apparentées » est réalisé dans nombreux de monographies afin de rechercher des éventuelles molécules organiques dérivées du produit synthétisé, ou potentiellement dangereuses. Il peut aussi bien s'agir de précurseurs de synthèse, que d'éléments intermédiaires, ou de produits de dégradation.

L'essai des substances apparentées a donc pour objectif de contrôler la présence d'impuretés indésirables toxiques ou non.

Ainsi, pour exemple, le paracétamol peut se dégrader facilement en 4-aminophénol. Or, selon la fiche de données de sécurité de celui-ci, disponible auprès des fournisseurs de matière première, le 4-aminophénol peut être très dangereux en cas de contact avec la peau, d'ingestion ou d'inhalation. Même si aucune précision sur les risques d'effets carcinogènes, tératogènes ou mutagènes n'est apportée par la fiche de sécurité, il est impératif de vérifier la non dégradation du paracétamol. D'autant plus que le 4-aminophénol possède également des propriétés néphrotoxiques

- **Isomères**

La présence d'un (ou plusieurs) carbone(s) asymétrique(s), formant ainsi un (des) centre(s) de chiralité, peut engendrer des propriétés différentes pour chaque isomère. Ceci peut entraîner aussi bien des propriétés thérapeutiques différentes, que des toxicités différentes. Dans certains cas, ces isomères peuvent cependant être utilisés en mélange racémique. C'est souvent le cas lorsque les propriétés sont extrêmement proches, ou lorsqu'aucun des isomères ne montre de toxicité excessive. Le coût de la séparation serait donc superflu. Cependant, pour certains isomères, l'un peut avoir un effet thérapeutique, tandis que l'autre est toxique

## 2.2 Impureté inorganique :

Les impuretés inorganiques font référence aux éléments tels que les catalyseurs chimiques de réaction, source fréquente de métaux lourds, chlorures, sulfates, etc...

La présence potentielle de ces éléments est presque systématiquement vérifiée car ils sont très couramment utilisés au cours des synthèses et représentent un danger pour la santé publique.

Les métaux lourds représentent une catégorie d'impuretés qu'il est absolument indispensable de rechercher afin de vérifier la conformité de la substance contrôlée. L'essai des métaux lourds permet de rechercher les éléments suivants :

Plomb	Mercure	Ruthénium	Palladium	Antimoine
Cuivre	Cadmium	Or	Vanadium	Etai
Argent	Bismuth	Platine	Arsenic	Molybdène

Parmi ceux-ci, le plomb, élément le plus fréquemment rencontré, est utilisé comme mode d'expression des résultats de l'essai : « ppm de plomb ». Par exemple, l'intoxication au plomb peut être extrêmement dangereuse que ce soit chez l'adulte ou chez la femme enceinte, ou allaitant son bébé. En effet, le plomb franchit sans difficulté la barrière placentaire et passe également dans le lait maternel. Chez l'enfant, ces effets peuvent être potentialisés car leurs organes sont en plein développement, et leur absorption intestinale est approximativement trois fois plus importante que chez l'adulte. L'intoxication infantile au plomb s'appelle le saturnisme. C'est une maladie extrêmement grave, qui peut laisser des séquelles très handicapantes.

## 2.3 Solvants résiduels :

En cas d'utilisation de solvants de classe 1 ou 2 durant la dernière phase de synthèse d'un médicament, un essai de solvants résiduels doit être obligatoirement mis en place. C'est également le cas si un solvant est utilisé avant la dernière phase de synthèse, mais que son utilisation n'est pas suivie par une procédure validée d'élimination de ce solvant. Dans ces conditions, des traces de ces solvants peuvent subsister. L'essai « solvants résiduels » permet de vérifier les taux auxquels ces solvants sont présents.

## 3. Méthodes d'analyses :

Pour identifier et quantifier les impuretés dans un principe actif, on utilise la chromatographie :

### 3.1 : Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une technique de séparation dans laquelle une phase stationnaire, constituée d'un matériau approprié, est répandue en une couche mince et uniforme sur un support (plaque) de verre, de métal ou de plastique. Des solutions d'analytes sont appliquées sur la plaque avant le développement. La séparation repose sur les mécanismes d'adsorption, de partage ou d'échange d'ions ou sur des combinaisons de ces mécanismes et elle s'effectue par migration (développement) de solutés (solutions d'analytes) dans un solvant ou un mélange de solvants approprié (phase mobile) à travers la couche mince (phase stationnaire).

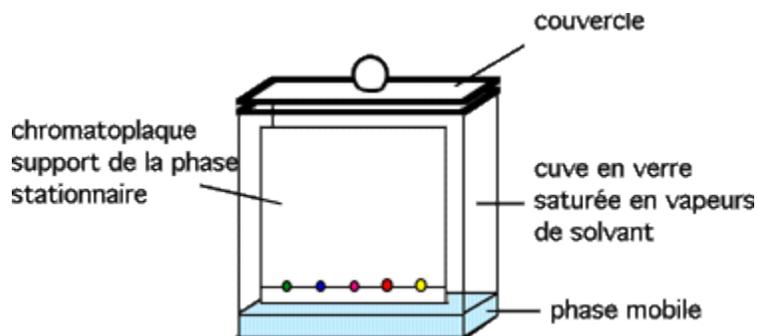


Figure3 : Représentation de la chromatographie sur couche mince

## 2.2 Chromatographie liquide haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est une forme de chromatographie à colonne qui pompe un mélange d'échantillons ou un analyte dans un solvant (aussi appelé phase mobile) à une pression élevée à travers une colonne avec une garniture chromatographique (phase stationnaire). La HPLC a la possibilité de séparer et d'identifier les composés qui sont présents dans tout échantillon qui peuvent être dissous dans un liquide en concentrations infimes de l'ordre de parties par millier.

Le temps de rétention d'échantillon varie selon l'interaction entre la phase stationnaire, les molécules étant analysées et le ou les solvants utilisés. À mesure que l'échantillon passe à travers la colonne, il interagit entre les deux phases à des vitesses différentes, principalement à cause des polarités différentes des analytes. Les analytes qui ont le moins d'interactions avec la phase stationnaire ou le plus d'interaction avec la phase mobile sortiront de la colonne plus rapidement.

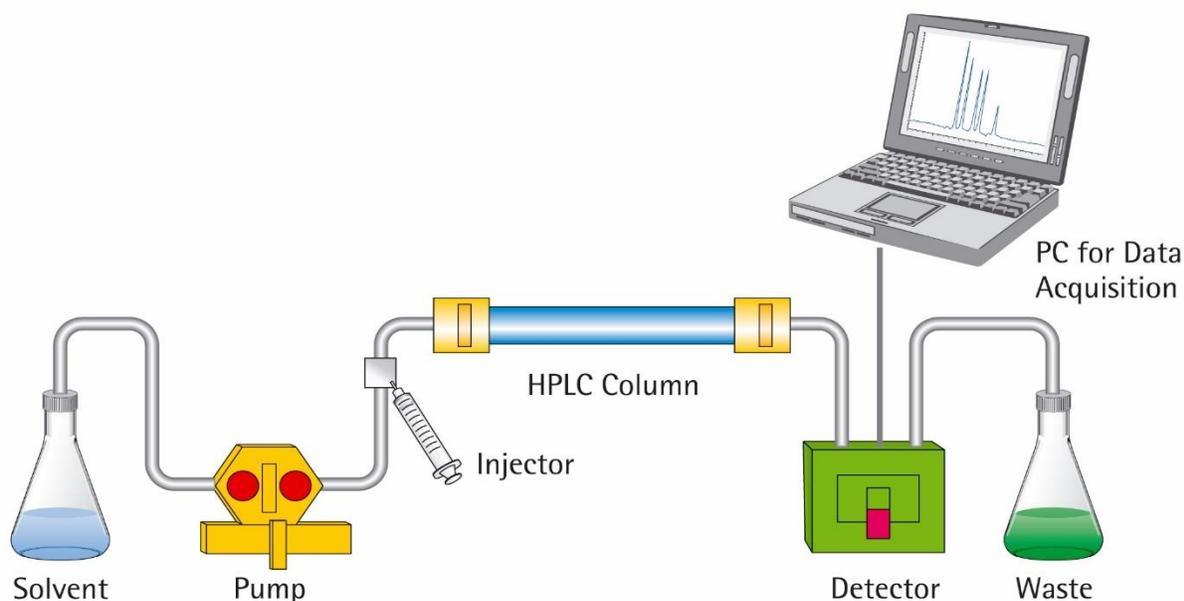


Figure4 : Représentation du principe de la chromatographie liquide à haute performance

## Chapitre 3 : Partie expérimentale

---

Dans le cadre de recherche du principe actif qu'on va travailler sur, on a bien choisi le **PARACETAMOL** dont son impureté est le 4-aminophénol ; on a pu travailler alors sur les formes pharmaceutiques **PARANTAL** qui contiennent une importante quantité du paracétamol.

## 1. Le Paracétamol

Le paracétamol, aussi appelé acétaminophène, est un composé chimique utilisé comme antalgique (anti-douleur) et antipyrétique (anti-fièvre), qui figure parmi les médicaments les plus communs, utilisés et prescrits au monde.

### + Molécule :

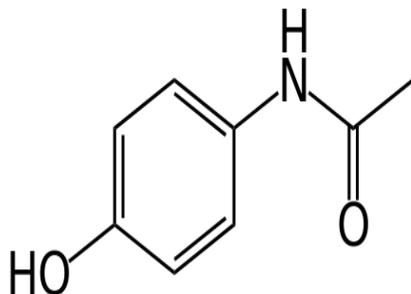


Figure5 : Représentation de la molécule Paracétamol

La molécule est constituée d'un cycle benzénique, substitué par un groupe hydroxyle et par un groupe amide en position para. Le paracétamol ne comporte pas de carbone asymétrique et n'a pas de stéréoisomère.

### + Propriétés chimiques :

Formule brute :  $C_8H_9NO_2$

Masse molaire :  $151,1626 \pm 0,0078$  g/mol

Pka : 9.5

### + Propriétés physiques :

T° de fusion : 168 °C à 172 °C

T° d'ébullition : décomposition >500 °C

Aspect : poudre cristalline, blanche

Solubilité : assez soluble dans l'eau, facilement soluble dans l'alcool, très soluble dans le Chlorure de méthylène

### + Impureté :

Le paracétamol est connu par sa dégradation en **4-aminophénol**

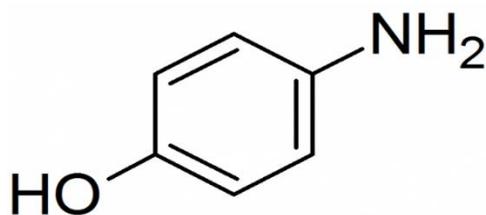


Figure6 : représentation de la molécule 4-aminophénol

Le 4-aminophénol est un composé organique aromatique de formule  $C_6H_7NO$ . Il se présente généralement sous la forme de poudre blanche.

Le 4-aminophénol est une molécule toxique et dangereuse c'est pour cela que le contrôle de sa présence est une opération cruciale dans l'industrie pharmaceutique. Son contrôle se fait par deux méthodes qui permettent d'identifier et quantifier l'impureté.

## **2. Le contrôle du 4-aminophénol par chromatographie sur couche mince**

On procède à cette méthode pour identifier le 4-aminophénol.

Dans la chromatographie sur couche mince, on a pu travailler sur trois lots à différentes conditions :

Un comprimé PARANTAL effervescent (500mg) à 20°C, l'autre à 30°C et le dernier à 40°C

Donc il y'a trois essais.

### **Mode opératoire :**

#### **Préparation de la solution témoin :**

On pèse 400mg de para-aminophénol et on dilue avec du méthanol à 100ml. On prélève 1ml de cette solution et on l'introduit dans une fiole jaugée de 100ml et on complète à 100ml avec du méthanol.

#### **Préparation des essais :**

On prélève plusieurs comprimés et on les broie finalement.

On pèse exactement une prise de 6,78g ; on agite à l'aide d'un agitateur magnétique avec 15ml de méthanol durant 10 minutes et on filtre sur verre fritté de porosité 3, en recueillant le filtrat dans une fiole jaugée de 25ml, on complète au volume à l'aide de méthanol et on homogénéise.

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

Dans une cuve on introduit 60ml du chloroforme et 40ml de l'éthanol.

On dépose sur la plaque de gel de silice pour HPTLC 10×10 cm :

10 mcl de la solution échantillon.

5 et mcl de solution témoin de para-aminophénol.

On introduit la plaque dans la cuve et on laisse migrer sur 5cm environ dans le solvant de développement, puis on laisse sécher la plaque. On pulvérise la solution de

para-diméthylaminobenzaldéhyde à 1% (1g de paradiméthylbenzaldéhyde +100ml de l'éthanol) dans l'éthanol à 95 % puis on place la plaque dans une cuve saturée avec les vapeurs d'acide chlorhydrique.

✚ Résultats :

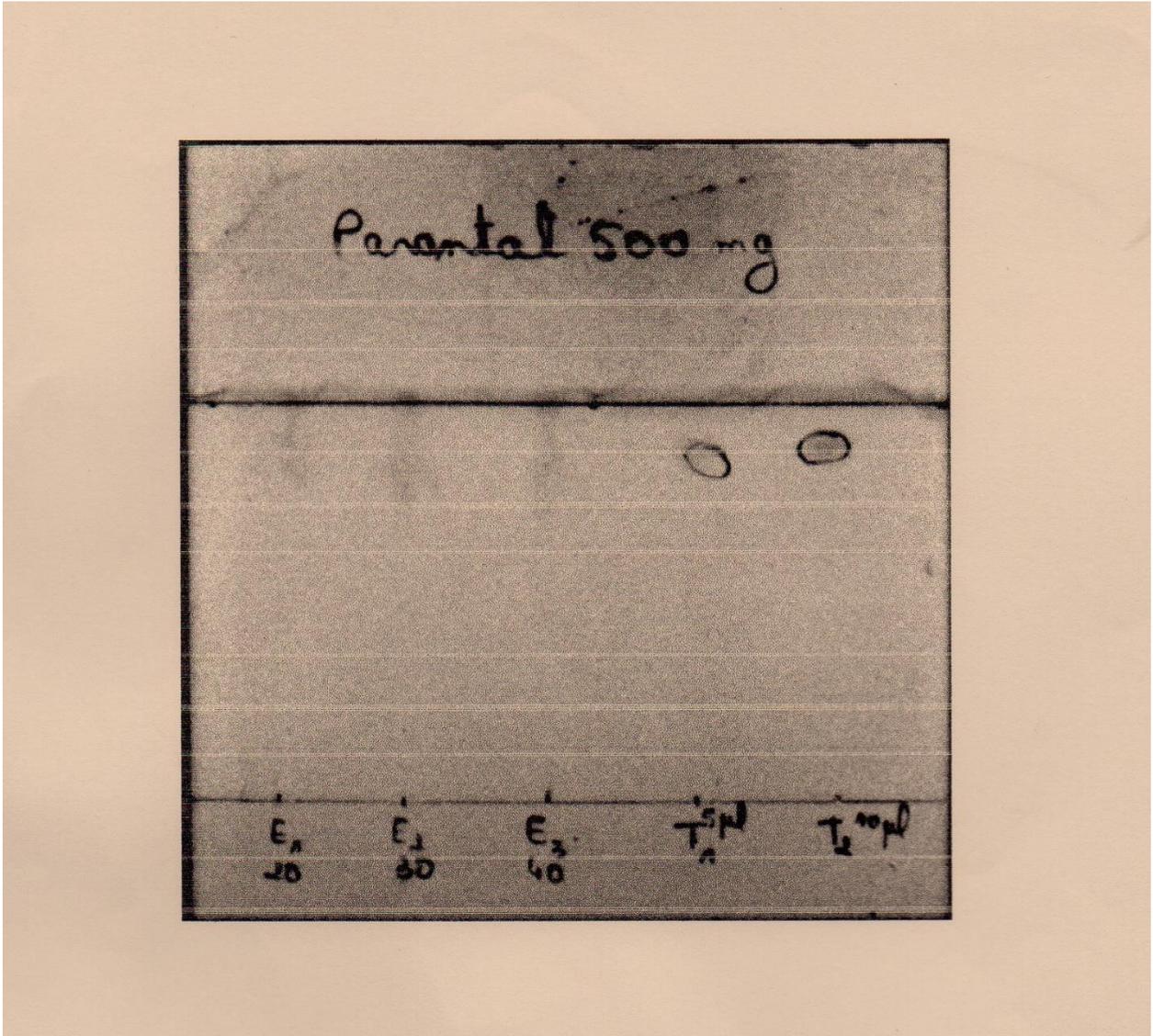


Figure 5 : représentation des spots de para-aminophénol sur une plaque de gel de silice

✚ Interprétation :

Les spots de para-aminophénol apparaissent colorés en jaune.

Leur rapport frontal (Rf) est calculé comme suit :

**Rf = (la distance ligne de dépôt-composé/la distance ligne de dépôt-front de solvant)**

Leur rapport frontal est voisin de 0.7

L'intensité des spots des essais sont moins fortes que celle du spot correspondant au dépôt de 10 mcl de solution témoin de para-aminophénol ce qui implique l'absence de para-aminophénol et donc l'absence des impuretés.

### 3. Le contrôle de 4-aminophénol par HPLC

Cette méthode vise des résultats quantitatifs et qualitatifs du 4-aminophénol.

Dans la chromatographie liquide haute performance on a pu analyser les suppositoires enfants **PARANTAL** (250 mg) et on a travaillé sur trois lots. Leurs conditions sont identiques aux comprimés utilisés dans la chromatographie sur couche mince

#### **Mode opératoire :**

##### **Conditions opératoires :**

Phase stationnaire : Colonne lichrospher RP18 ou équivalent (250\*4mm) 10 µm

Phase mobile : On dissout 1.60g d'acide butane sulfonique (sel de sodium) dans un mélange de solvants : eau-méthanol-acide formique et on filtre sur une membrane filtrante de 0.45 µm

Détection : UV ( 272 nm)

Débit : 1ml/min

Volume injecté : 20 µl

Température : 25°C

##### **Solution à analyser :**

Dans une ampoule à décanter on introduit un suppositoire, on y ajoute 50 ml de benzine de pétrole ; on agite énergiquement jusqu'à solubilisation totale. On extrait par 50ml de mélange à volumes égaux de méthanol et de l'eau et on filtre sur filtre plissé puis sur filtre seringue (0,45 µm)

##### **Solution de référence (1) :**

Dans une fiole jaugée de 20ml, on introduit 5mg de paracétamol de référence.

On dissout et on complète au volume avec la phase mobile et on dilue 1ml à 25ml avec la phase mobile.

##### **Solution de référence (2) :**

Dans une fiole jaugée de 50ml, on introduit 12.5 mg d' amino-4-phénol de référence exactement pesée, on dissout et on complète au volume avec la phase mobile et dilue 0.5ml à 50ml avec la phase mobile

##### **Solution de référence (3) :**

Dns une fiole jaugée de 20ml, on introduit 5mg d' amino-4-phénol de référence et 5mg de paracétamol de référence, o µm n dissout et on complète au volume avec la phase mobile et on dilue 2,5 ml à 25 ml avec la phase mobile.

##### **Procédure :**

On équilibre la colonne avec la phase mobile, on injecte 20µl de solution de référence (3) et on ajuste la sensibilité du détecteur.

On injecte séparément 20µl de solution de référence (1) et 20µl de solution de référence (2).

On injecte 20 µl de solution à analyser et on continue la chromatographie pendant 30min.

✚ Résultats :

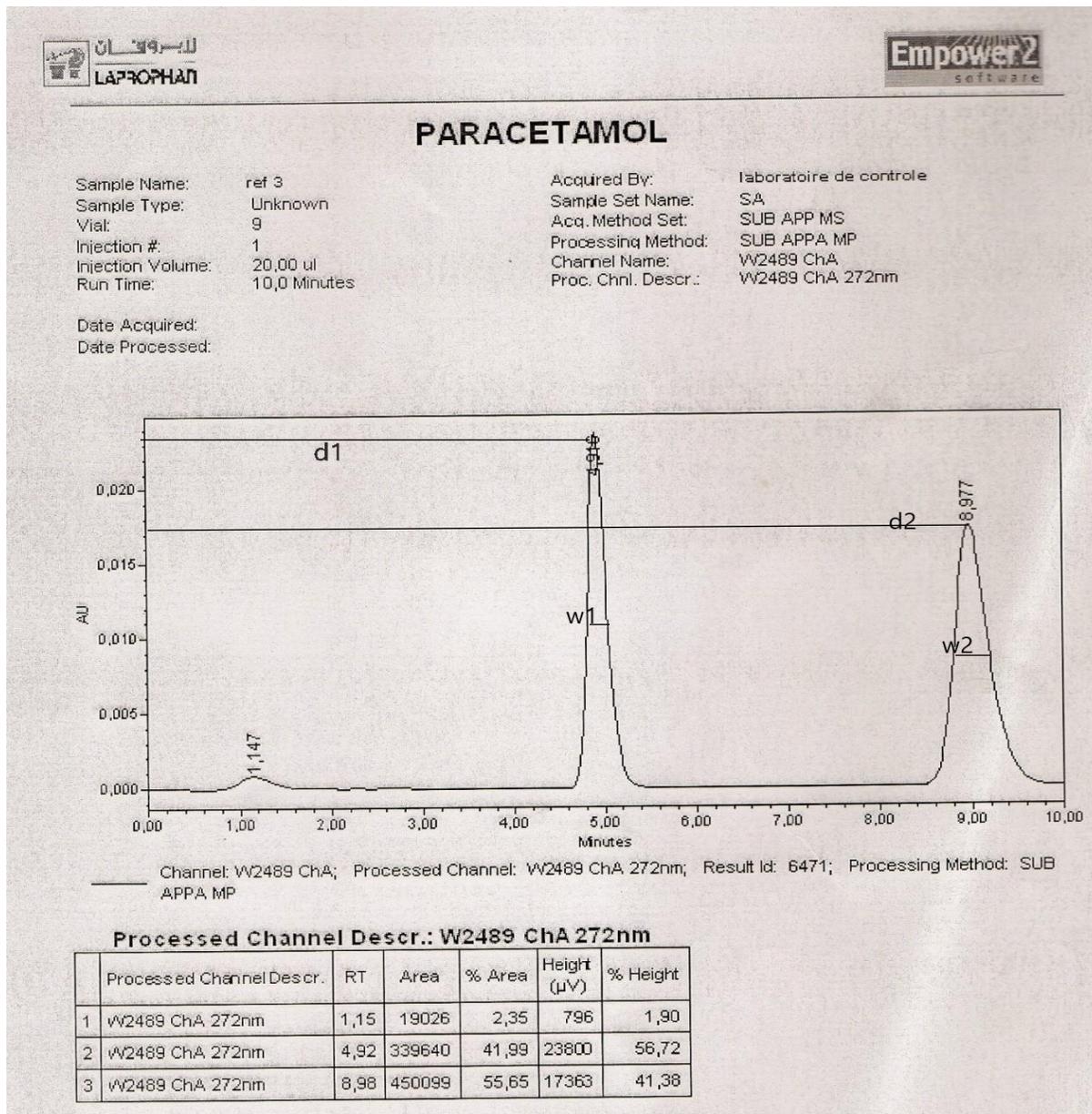


Figure6 : chromatogramme de référence (3)

Le calcul de facteur de résolution (R) nous permettra de savoir si les pics sont correctement séparés. R doit être supérieure à 1,5

$$R = (d_2 - d_1 / w_1 + w_2) \times 1.18$$

Avec w: la largeur à mi-hauteur

d: le temps de rétention

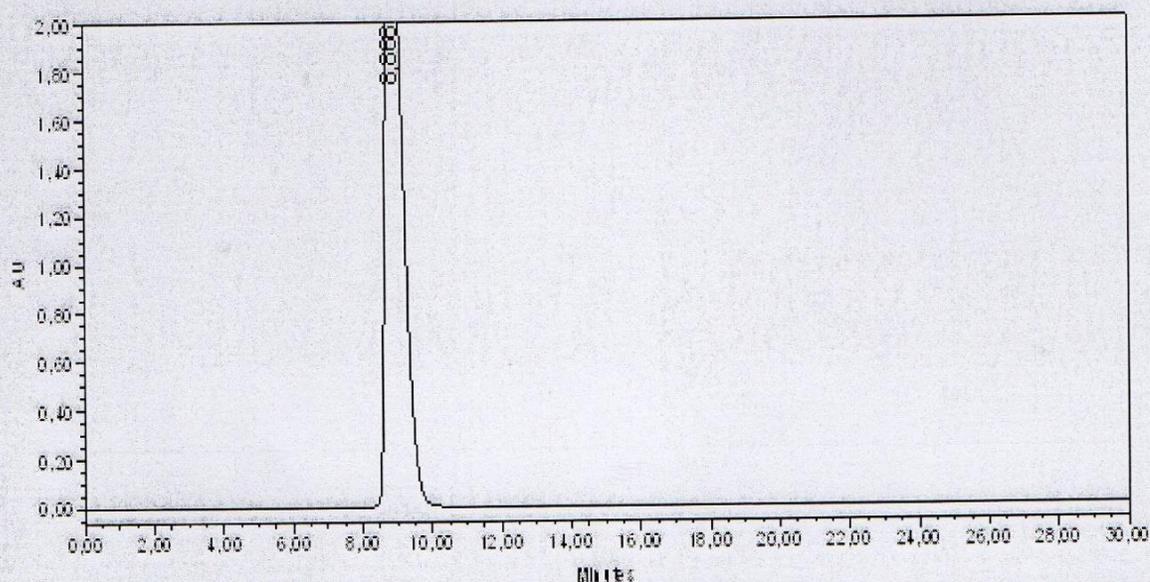
Dans notre cas **R=6.74** , Donc les pics sont correctement séparés et le système est conforme.

## Parantal -Sub apparentées

Sample Name: parantal  
 Sample Type: Unknown  
 Vial: 7  
 Injection #: 1  
 Injection Volume: 20.00  $\mu$ l  
 Run Time: 30.0 Minutes

Acquired By: LC  
 Sample Set Name: SA  
 Acq. Method Set: SLB APP MS  
 Processing Method: SLB APPA MP  
 Channel Name: W2489 ChA  
 Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 272nm

Date Acquired:  
 Date Processed:



Channel: W2489 ChA; Processed Channel: W2489 ChA 272nm; Result Id: 6506; Processing Method: SLB APPA MP

	RT	Area	Height ( $\mu$ V)	% Area	% Height
1	8,866	91592136	2579588	100,00	100,00

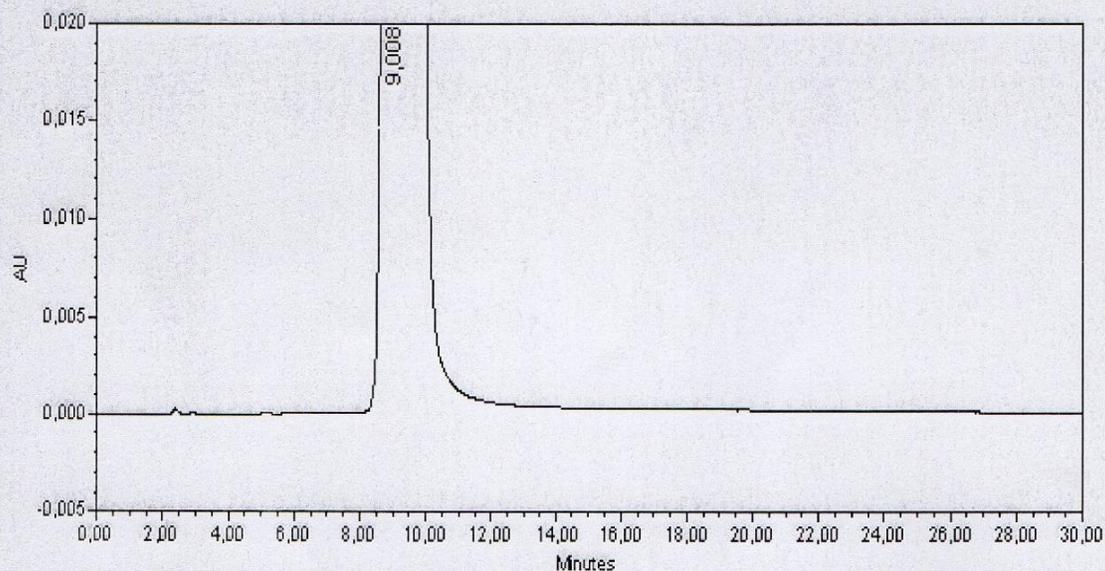
Figure7 : Chromatogramme de solution à analyser (Parantal 250mg à 40°C)

## Parantal -Sub apparentées

Sample Name: parantal  
 Sample Type: Unknown  
 Vial: 5  
 Injection #: 1  
 Injection Volume: 20,00 ul  
 Run Time: 30,0 Minutes

Acquired By: LC  
 Sample Set Name: SA  
 Acq. Method Set: SUB APP MS  
 Processing Method: SUB APPA MP  
 Channel Name: W2489 ChA  
 Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 272nm

Date Acquired:  
 Date Processed:



Channel: W2489 ChA; Processed Channel: W2489 ChA 272nm; Result Id: 6498; Processing Method: SUB APPA MP

	RT	Area	Height (μV)	% Area	% Height
1	9,008	91975157	2559368	100,00	100,00

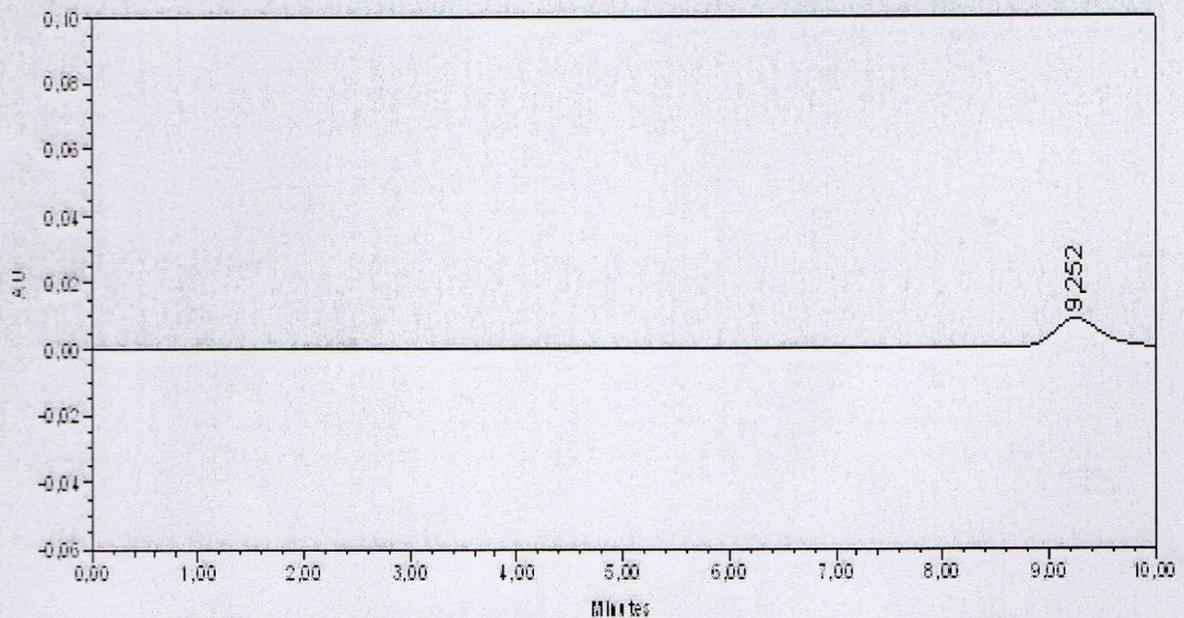
Figure8 : Chromatogramme de solution à analyser ( Parantal 250mg à 20°C)

## Parantal -Sub apparentées

Sample Name: ref 1  
 Sample Type: Unknown  
 Vial: 3  
 Injection #: 1  
 Injection Volume: 20.00  $\mu$ l  
 Run Time: 10.0 Minutes

Acquired By: LC  
 Sample Set Name: SA  
 Acq. Method Set: SLB APP MS  
 Processing Method: SLB APPA MP  
 Channel Name: W2489 ChA  
 Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 272nm

Date Acquired:  
 Date Processed:



Channel: W2489 ChA; Processed Channel: W2489 ChA 272nm; Result Id: 6487; Processing Method: SLB APPA MP

	RT	Area	Height ( $\mu$ V)	% Area	% Height
1	9,252	241,298	8541	100,00	100,00

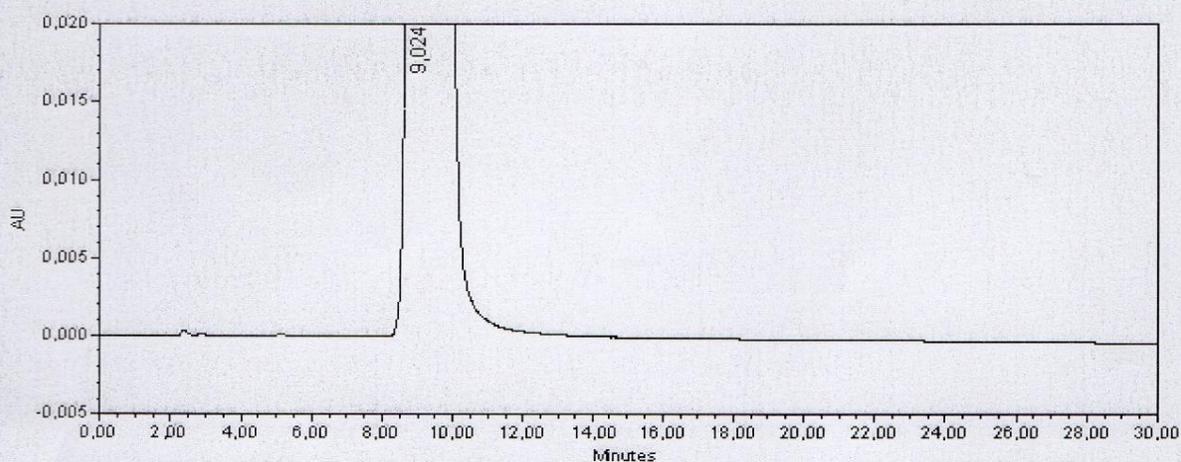
Figure9 : chromatogramme de référence (1)

## Parantal -Sub apparentées

Sample Name: parantal  
 Sample Type: Unknown  
 Vial: 6  
 Injection #: 1  
 Injection Volume: 20,00 ul  
 Run Time: 30,0 Minutes

Acquired By: LC  
 Sample Set Name: SA  
 Acq. Method Set: SUB APP MS  
 Processing Method: SUB APPA MP  
 Channel Name: W2489 ChA  
 Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 272nm

Date Acquired:  
 Date Processed:



Channel: W2489 ChA; Processed Channel: W2489 ChA 272nm; Result Id: 6502; Processing Method: SUB APPA MP

	RT	Area	Height (µV)	% Area	% Height
1	9,024	92346201	2563012	100,00	100,00

Reported by User: System  
 Report Method: SUBSTANCES APPARENTEES  
 Report Method ID: 16542

Project Name: PARANTAL  
 Date Printed: 17/05/2018  
 10:29:57 Africa/Casablanca

Figure10 : Chromatogramme de solution à analyser (Parantal 250mg à 30°C)

### **Interprétation :**

Le temps de rétention de 4-aminophénol obtenu dans le chromatogramme de référence (3) ne correspond pas à ceux des essais, donc on note l'absence de 4-aminophénol dans les solutions à examiner.

Référence (1) est une limite d'exclusion

Référence (3) est une résolution entre le 4-aminophénol et le paracétamol pour s'assurer qu'il y a une bonne séparation entre les deux

### **Conclusion :**

Les résultats ont montré que la méthode chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est une méthode fiable et efficace pour le contrôle du 4-aminophénol vu qu'elle est rapide, automatisé et extrêmement précise en ce qui concerne la quantification et l'identification des composants chimiques, par contre, la chromatographie sur couche mince (CCM) permet seulement d'identifier l'impureté.

## CONCLUSION

Après avoir atteint l'objectif de ce stage à savoir le contrôle des impuretés dans les formes pharmaceutiques à base de paracétamol en utilisant deux méthodes chromatographiques d'analyses, en particulier, la chromatographie liquide sur couche mince et chromatographie liquide à haute performance.

Dans un premier temps, nous avons analysé nos échantillons à travers la chromatographie liquide sur couche mince. Les résultats ont montré l'absence de l'impureté 4-aminophénol dans le paracétamol.

Par ailleurs, nous avons utilisé la chromatographie liquide à haute performance pour détecter éventuellement la présence ou l'absence du 4-aminophénol dans les formes pharmaceutiques suppositoires à base de paracétamol. Les chromatogrammes ont révélé également l'absence des impuretés.

En guise de conclusion, on peut déclarer que les deux techniques chromatographiques sont fiables pour l'identification des impuretés dans les formes pharmaceutiques.

## Références bibliographiques

- Mr. ESSALHI Mohamed, Méthode de contrôle de qualité « Cas de l'aspirine produit fini », Rapport de confirmation d'analyste de laboratoire, Mars 2017, LAPROPHAN
- Edouard PONT, Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique selon la pharmacopée européenne : Evolution des connaissances et des méthodes analytiques de contrôle, diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Limoges
- Pharmacopée européenne (9ème édition)