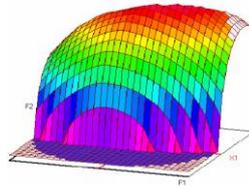


Année Universitaire : 2018-2019



Master Sciences et Techniques CAC Ageq

Chimométrie et Analyse Chimique : Application à la gestion de  
la qualité

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et  
Techniques

**Identification des résultats hors tendance en stabilité lors du dosage  
de Benzoate de Métronidazole et de conservateurs et son impureté  
par HPLC**

**Présenté par:**

- Mlle. BOUAIN Khadija

**Encadré par :**

- Dr. BAKIR Adnane (MAPHAR eurapharma)
- Pr. SAFFAJ Taoufiq (FSTF)

**Soutenu Le 17 Juin 2019 devant le jury composé de:**

- Pr. T. SAFFAJ (FSTF)
- Pr. B. IHSSANE (FSTF)
- Pr. Ch. AMEZIANE (FSTF)

**Stage effectué à : MAPHAR aurapharma**

Faculté des Sciences et Techniques - Fès

☒ B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES

☎ 212 (0) 35 60 29 53 Fax : 212 (0) 35 60 82 14



## Remerciement

Merci à Allah

J'adresse mes sincères remerciements à mon encadrant universitaire **Mr T. SAFFAJ** qui m'a beaucoup appris et accompagné tout au long de cette expérience professionnelle.

Je saisis cette occasion pour exprimer ma gratitude et mon profond respect à **Mr M. EL HADRAMI** responsable du Master CAC Agiq. Pour ses efforts cet pour nous avoir assuré une formation riche et complète.

Au terme de ce stage, je tiens à remercier **Mme K. FARAJ**, responsable de contrôle de qualité du laboratoire pharmaceutique Maphar pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire. Je lui suis reconnaissante pour le temps, l'aide et la confiance qu'il m'a accordé durant tout le stage.

Je tiens à remercier mon parrain de stage **Mr Mr A. Bakir** responsable de Contrôle de produit fini du laboratoire pharmaceutique Maphar. Pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son orientation et son aide tout au long de mon stage. Je suis très touché par sa qualité humaine et scientifique qui a joué un rôle déterminant dans l'accomplissement de ce travail, ainsi que son précieux encadrement, son aide, et son collaboration durant toute la période de mon stage.

Je remercie enfin l'ensemble du personnel du laboratoire pharmaceutique Maphar pour l'ensemble des services qu'ils m'ont rendu et leur accueil chaleureux.

## *Dédicace*

### **A mes très chers parents**

A ceux que j'aime le plus au monde, A ceux qui m'ont tout donné sans compter. Vous avez été pour moi tout au long de mes études le plus grand symbole d'amour de dévouement qui n'a ni cessé ni diminué. En ce jour, j'espère réaliser l'un de vos rêves, et je n'espère ne jamais vous décevoir, ni trahir votre confiance. Que dieu vous garde et procure santé, bonheur, et longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant le chemin de vos enfants.

### **A mes chers frères**

A ceux que j'aime le plus au monde, A ceux qui m'ont tout donné sans compter. Vous avez été pour moi tout au long de mes études le plus grand symbole d'amour de dévouement qui n'a ni cessé ni diminué. En ce jour, j'espère réaliser l'un de vos rêves, et je n'espère ne jamais vous décevoir, ni trahir votre confiance. Que dieu vous garde et procure santé, bonheur, et longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant le chemin de vos enfants.

### **A toutes ma famille**

Je vous dédie ce travail en vous souhaitant tout le bonheur du monde.

### **A mes chers amis et ceux qui me sont chers Hanae, naima, saaida, Fatima**

Je vous dédie ce travail avec mes sentiments les plus sincères, en projet de fin d'études de tous les moments agréables vécus ensemble. Pour votre soutien personnel et professionnel. Pour votre accompagnant tous au long mon cursus.

## Listes des Figures

<b>Figure 1 :</b> Organigramme du site industriel. ....	4
<b>Figure 2 :</b> Circuit d'analyse des matières premières (MP) et articles de conditionnement. ....	5
<b>Figure 3 :</b> Analyse des produits finis (PF) et des produits semi-finis (PSF).....	8
<b>Figure 4 :</b> Structure chimique de Benzoate de métronidazole. ....	15
<b>Figure 5 :</b> Structure chimique de Parahydroxybenzoate de propyle. ....	16
<b>Figure 6 :</b> Structure chimique de Parahydroxybenzoate de méthyle.....	17
<b>Figure 7 :</b> Méthode des moindres carrés pour la période de 0 à 9 mois.....	23
<b>Figure 8:</b> Chromatogramme du blanc. ....	31
<b>Figure 9:</b> Chromatogramme de la solution témoin. ....	31
<b>Figure 10:</b> Chromatogramme de la solution essai. ....	32
<b>Figure 11:</b> Le profil de stabilité du PA dans les conditions à long terme. ....	35
<b>Figure 12:</b> Le profil de stabilité du PA dans les conditions intermédiaires. ....	36
<b>Figure 13:</b> Le profil de stabilité du PHBM dans les conditions à long terme. ....	37
<b>Figure 14:</b> Le profil de stabilité du PHBM dans les conditions intermédiaires. ....	38
<b>Figure 15:</b> Le profil de stabilité du PHBP dans les conditions à long terme. ....	39
<b>Figure 16:</b> Le profil de stabilité du PHBP dans les conditions intermédiaires. ....	40
<b>Figure 17:</b> Le profil de stabilité d'impureté de l'Acide benzoïque dans les conditions à long terme.....	41
<b>Figure 18:</b> Le profil de stabilité d'impureté de l'Acide benzoïque dans les conditions intermédiaires. ....	42

## Listes des Tableaux

<b>Tableau 1:</b> Représentatif des conditions et des périodes d'étude de stabilité.....	20
<b>Tableau 2:</b> les données du témoin pour l'étude de la conformité de système .....	32
<b>Tableau 3:</b> Les résultats de séparation de la solution examiné.....	32
<b>Tableau 4:</b> Résultats d'analyse dans des conditions à long terme.....	33
<b>Tableau 5:</b> Résultats d'analyse dans des conditions intermédiaires.....	34
<b>Tableau 6:</b> Les Intervalles de contrôle de régression du PA dans les conditions à long durée.....	34
<b>Tableau 7:</b> Les Intervalles de contrôle de régression du PA dans les intermédiaires.....	35
<b>Tableau 8:</b> Les Intervalles de contrôle de régression du PHBM dans les conditions à long terme.....	37
<b>Tableau 9:</b> Les Intervalles de contrôle de régression du PHBM dans les conditions intermédiaires.....	38
<b>Tableau 10:</b> Les Intervalles de contrôle de régression du PHBP dans les conditions à long terme.....	39
<b>Tableau 11:</b> Les intervalles de contrôle de régression du PHBP dans les conditions intermédiaires.....	40
<b>Tableau 12:</b> Les Intervalles de contrôle de régression d'impureté de l'Acide benzoïque dans les conditions à long terme.....	41
<b>Tableau 13:</b> Les Intervalles de contrôle de régression d'impureté de l'Acide benzoïque dans les conditions intermédiaires.....	42

## *Listes Abréviations*

<b>AT.PL</b>	: Approvisionnement transit planning logistique
<b>MMP</b>	: Magazine matière première
<b>AC</b>	: Article de conditionnement
<b>MP</b>	: Matière première
<b>LCQ</b>	: Laboratoire de contrôle de qualité
<b>PF</b>	: Produit fini
<b>PSF</b>	: Produit semi-fini
<b>HPLC</b>	: chromatographie liquide à haute performance
<b>SCR</b>	: Substance chimique de référence
<b>ICH</b>	: Conférence internationale sur l'harmonisation
<b>PA</b>	: Pharmacopée européenne.
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>AMM</b>	: autorisation de mise en marché
<b>PA</b>	: Principe actif
<b>PHBM</b>	: Parahydroxybenzoate de méthyle
<b>PHBP</b>	: Parahydroxybenzoate de propyle
<b>OOT</b>	: Out Of Trend
<b>OOS</b>	: Out of Specification
<b>LCL</b>	: Lower confidence limit
<b>LCU</b>	: Upper confidence limit
<b>LPL</b>	: Lower prediction limit
<b>LPU</b>	: Upper prediction limit
<b>LSL</b>	: Lower shewhart limit
<b>LSU</b>	: Upper shewhart limit
<b>LTL</b>	: Lower tolerance limit
<b>LTU</b>	: Upper tolerance limit
<b>Fs</b>	: Facteur de symétrie
<b>Nth</b>	: Nombre de plateau théorique
<b>Tr</b>	: Temps de rétention

## Table des matières

<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Présentation générale de l'organisme d'accueil et contrôle de qualités.....</b>	<b>2</b>
I. Présentation de l'industrie pharmaceutique Maphar : .....	3
II. Historique :.....	3
III. Activités :.....	4
IV. Organigramme du site industriel Maphar Zenata : .....	4
V. Département de contrôle de qualité : .....	5
1. Contrôle de la matière première : .....	5
1. Contrôle du produit fini :.....	8
2. Contrôle des produits en cours de Fabrication : .....	10
<b>CHAPITRE II : Etude bibliographique.....</b>	<b>11</b>
I. Généralités sur les médicaments.....	12
1. Définition .....	12
2. Composition d'un médicament .....	12
1. Quelques termes relatifs aux médicaments .....	13
II. Généralité sur Benzoate de métronidazole et ses conservateurs:.....	15
1. Benzoate de métronidazole : .....	15
2. Parahydroxybenzoate de propyle : .....	16
3. Parahydroxybenzoate de méthyle :.....	17
III. Etude de stabilité :.....	18
1. Définitions :.....	18
2. Objectifs des études de stabilité : .....	18
3. Conditions de stabilité selon la norme ICH :.....	19
IV. Identification des résultats en dehors de la tendance lors de la stabilité des médicaments:.....	21
1. Définition des résultats-hors tendance (OOT) :.....	21
2. Objectif de l'étude des OOT : .....	21
3. Problème d'identification des résultats OOT : .....	22

---

4. La différence entre OOT et OOS : .....	22
5. Méthodes de détection des résultats OOT : .....	22
6. Identifier les données OOT par tableau de contrôle de régression:.....	23
<b>CHAPITRE III : Partie expérimentales .....</b>	<b>27</b>
I. Dosage du benzoate de métronidazole, des conservateurs et des substances apparentées : 28	
1. Conditions chromatographiques : .....	28
2. Protocole analytique .....	29
II. Résultats du Dosage du benzoate de métronidazole, ses impuretés et ses conservateurs : 30	
1. Resultants d'analyse: .....	30
2. Résultats du contrôle : .....	33
3. Interprétation des résultats : .....	34
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>44</b>



## *Introduction générale*

Le stage est un champ d'application des acquis théoriques qui permet d'acquérir des connaissances, des expériences pratiques et des compétences professionnelles mais aussi d'approfondir les connaissances dans les sciences et techniques. Ainsi, c'est une occasion de confronter et de se familiariser avec le domaine professionnel. Dans ce sens, j'ai eu l'occasion d'effectuer un stage pour une durée de 4 mois au sein du Laboratoire de contrôle des médicaments (MAPHAR) à Casablanca.

Dans ce cadre, le sujet traité concerne l'identification des résultats hors tendance en stabilité lors du dosage de Benzoate de Métronidazole et de conservateur et son impureté dans la forme pharmaceutique reconstitué par HPLC.

Le but de cette étude était de confirmer la méthode du tableau de contrôle de régression, ce qui prouvera leur fonctionnalité dans l'identification des résultats OOT dans les données de stabilité en cours dans un lot, et de faire une confrontation entre deux conditions de stockage.

Ce rapport résume dans le premier chapitre une représentation générale de l'organisme d'accueil et département de contrôle de qualité MAPHAR.

En second lieu, nous avons consacré le deuxième chapitre pour une étude bibliographique toutes en mettant le point sur le PA étudié et ses conservateurs. Par ailleurs, nous avons exposé la démarche statistique utilisée pour identifier les OOT en stabilité.

Finalement nous avons étudié la stabilité de Benzoate de Métronidazole et de conservateur et son impureté dans le produit fini pour une durée de 36 mois dans deux conditions de stockage différentes.



***Chapitre I : Présentation générale de l'organisme  
d'accueil et contrôle de qualités.***



## I. Présentation de l'industrie pharmaceutique Maphar :

Maphar est une filiale du Groupe Sanofi, un leader mondial de la santé centré sur les besoins des patients.

Le site industriel de Maphar Zenâta s'étend sur une superficie de 25670m<sup>2</sup> (dont 12900m<sup>2</sup> de surface construite). Il emploie un effectif de plus de 350 collaborateurs dont 50 ingénieurs et cadres avec un chiffre d'affaire d'environ 84,7 millions d'Euro.

Le site de Zenata dispose d'une double certification de son système de management intégré en environnement (ISO 14001) et en Santé et Sécurité (OHSAS 18001). Il possède aussi une pré-qualification par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) pour la production d'ASAQ Winthrop, (Antipaludéen) qui est exporté dans plus de 30 pays d'Afrique subsaharienne. [1]

## II. Historique :

- **1951** : Création de Copharma
- **1964** : Changement de raison sociale : Copharma devient MAPHAR
- **1978** : Construction de l'usine Cyprès à Ain Sebaâ
- **1981** : Maphar devient filiale du Groupe Sanofi
- **1989** : Acquisition de Sopharma basée à Zenata qui a permis à Maphar de renforcer son activité vétérinaire et diététique
- **1990** : fusion de Sanofi et Synthélabo au niveau international qui a donné naissance au groupe Sanofi-Synthélabo,
- **2004** : Création du groupe Sanofi-Aventis
- **2011** : Sanofi-aventis devient Sanofi
- **2012** : Maphar devient Maphar A SANOFI COMPANY
- **2017** : Intégration de la division Healthcare d'Eurapharma du groupe français CFAO [1].

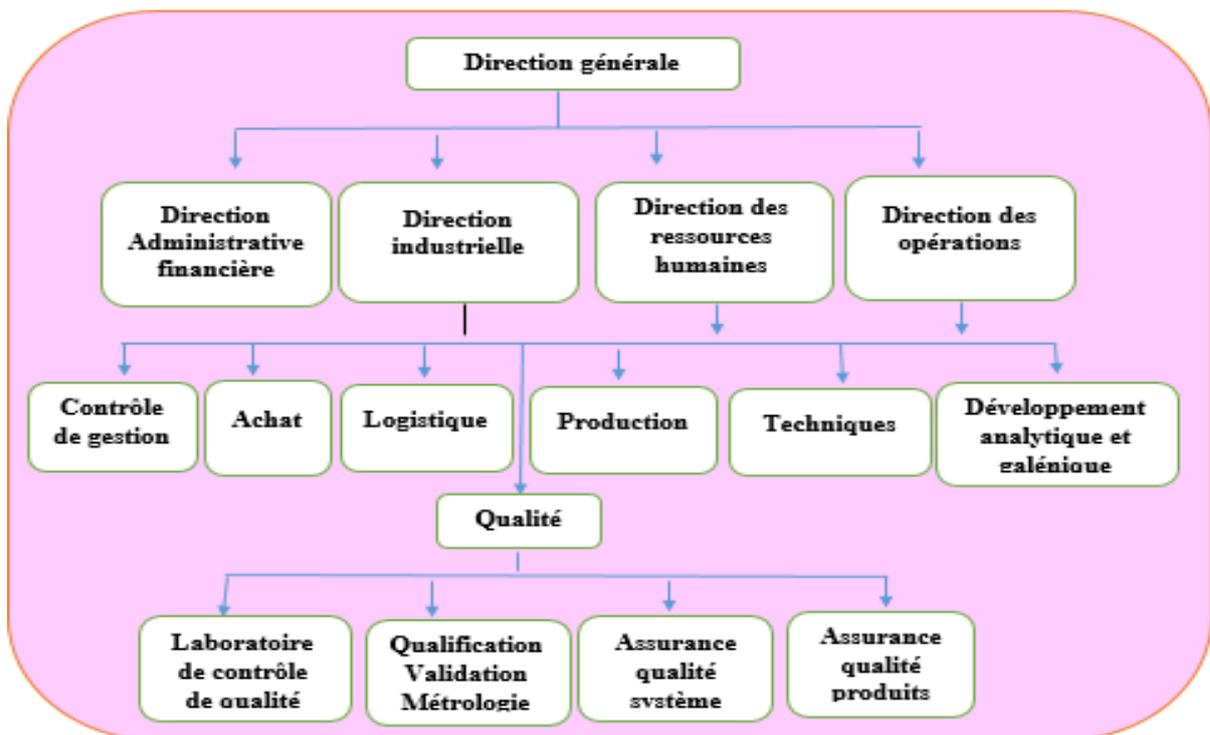
### III. Activités :

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

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.
- Plus de 500 spécialités pharmaceutiques.
- Plus de 30 laboratoires partenaires commettants. [1]

### IV. Organigramme du site industriel Maphar Zenata :

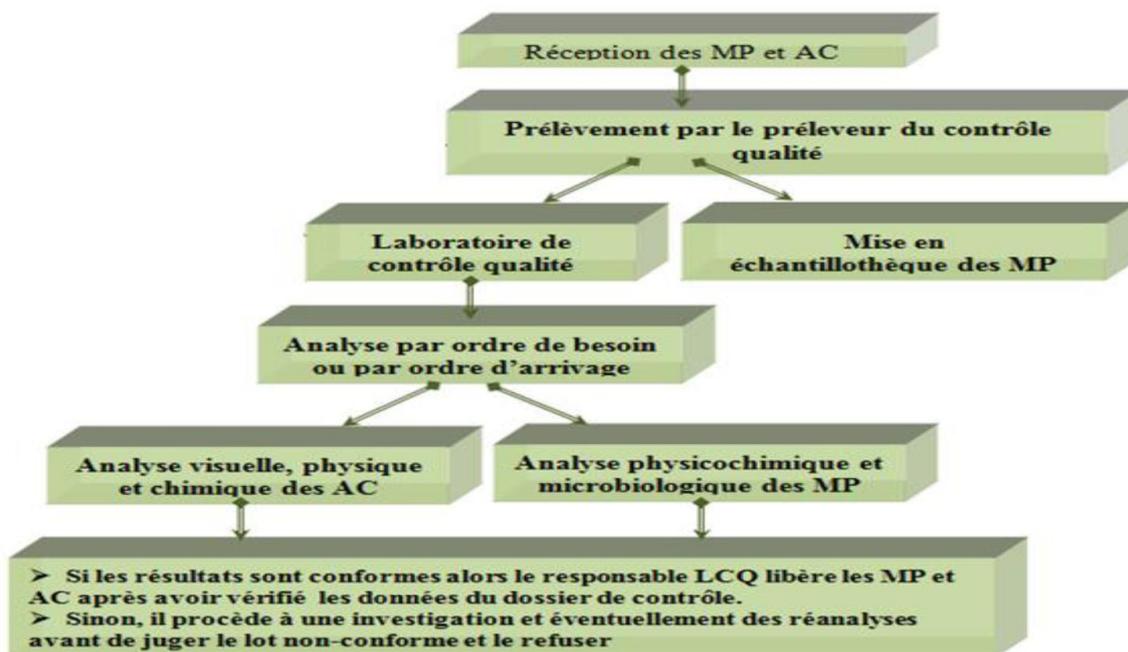


*Figure 1 : Organigramme du site industriel.*

## V. Département de contrôle de qualité :

### 1. Contrôle de la matière première :

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



**Figure 2 : Circuit d'analyse des matières premières (MP) et articles de conditionnement.**

#### A. 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 « Magazin matière première » on pose 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 MAPHAR, le numéro de lot de fournisseur et le numéro de contenant.

### **B. 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 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.

### **C. 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.
- Chromatographie liquide à haute performance.
- Chromatographie en phase gazeuse.

**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 UV

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

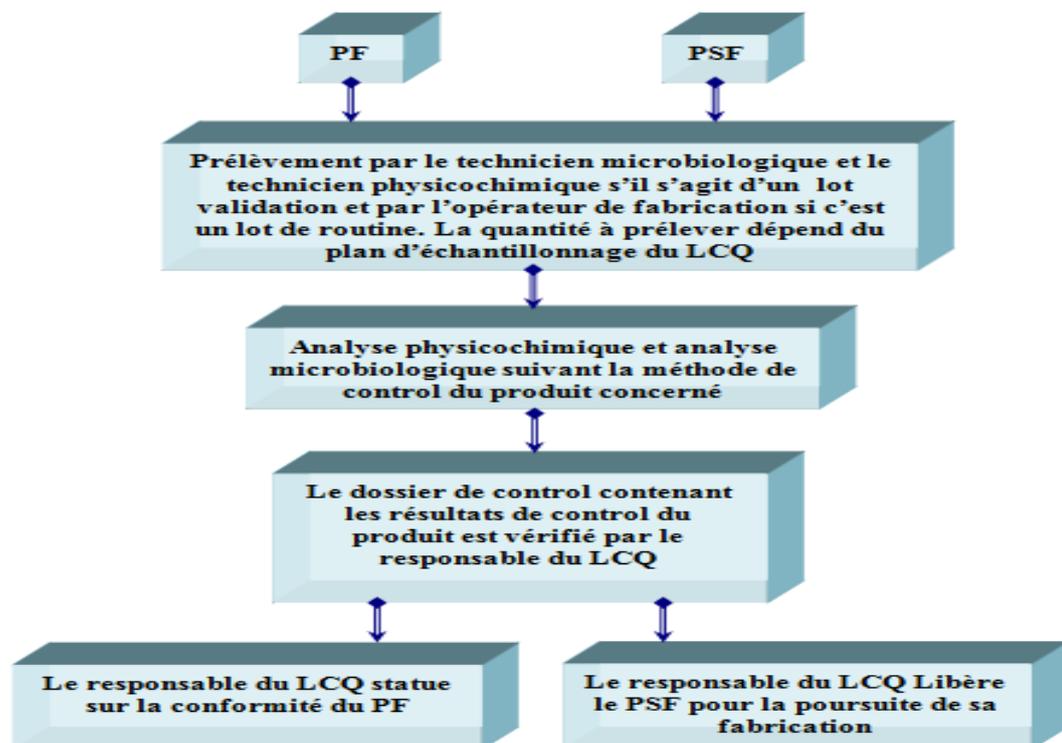
Pour les lots de matière première conforme, le technicien transmet deux échantillons représentatifs au service prélèvement :

- Un pour l'expertise dont la qualité est suffisante pour effectuer trois complets.
- Un qui va servir de témoin pour le contrôle.

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

### 1. Contrôle du produit fini :

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.



**Figure 3 : Analyse des produits finis (PF) et des produits semi-finis (PSF).**

**A. 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.

**A. 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 .....

**B. Déblocage du produit fini :**

A la fin du contrôle, l'ensemble des documents de fabrication et de contrôle sera vérifié et transmet 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.

## **2. 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 établies. 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 II : Etude bibliographique*



## I. Généralités sur les médicaments

### 1. Définition

Un médicament est toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales. Il est administré en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, de corriger ou de modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique [2].

Il existe deux types de médicaments tels que les génériques et les princeps.

#### a. Médicament princeps

Un médicament princeps ou médicament d'origine est un médicament mis au point par un laboratoire pharmaceutique qui en garde l'exclusivité jusqu'à expiration du brevet (environ 20 ans d'exploitation) [3].

#### b. Médicament générique

Un médicament générique est une copie d'un médicament original rendu possible par la chute du brevet initial dans le domaine public à la fin de la période légale de protection [4].

En effet, le médicament générique doit contenir la même quantité en principe actif et doit être de même forme pharmaceutique que le médicament original. Il ne peut pas avoir de nouvelles indications que la molécule princeps qu'il copie. De même, sa notice scientifique ne peut être transformée qu'après modification de la notice de la molécule princeps.

Un générique est donc conforme à la spécialité de référence, et présente les mêmes effets, même fabrication et même forme pharmaceutique. En revanche, le goût, la couleur, les excipients utilisés peuvent être différents [3].

### 2. Composition d'un médicament

Un médicament est un mélange de nombreuses espèces chimiques. Il contient un ou plusieurs principes actifs et des excipients [5].



### A. Principe actif

Le principe actif est la substance responsable de l'action pharmacologique. Son dosage est établi en fonction de la puissance et l'âge du patient [6].

### B. Excipients

Les excipients désignent toute substances autre que le principe actif dans un médicament, destinée à faciliter la mise en forme du médicament, lui conférer un gout particulier et diminuer certains effets indésirables (conservateurs, aromatisants...) [7]

### C. Additifs

D'après le comité FAO-OMS, un additif est défini comme une substance dotée ou non d'une valeur nutritionnelle, ajoutée internationalement à un aliment dans un but technologique, sanitaire, organoleptique ou nutritionnel. Son emploi doit améliorer les qualités du produit fini sans présenter de danger pour la santé, aux doses utilisées [7].

## 1. Quelques termes relatifs aux médicaments

### A. Pharmacopée

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), une pharmacopée est une norme pharmaceutique destinée à assurer dans une entité politique donnée, l'uniformité de la nature, de la qualité, de la composition et de la concentration des médicaments.

Il existe plusieurs pharmacopées : Française, Britannique, américaine (USP), Japonaise, Chinoise et internationale. Chaque pharmacopée est constituée de plusieurs parties : Les monographies, les prescriptions générales, les réactifs et les méthodes générales d'analyses [8].

### B. Spécialité

La réglementation précise que la spécialité pharmaceutique, est tout médicament préparé à l'avance, présenté sous un conditionnement particulier et



caractérisé par une dénomination spéciale portant sa composition, le nom et l'adresse du fabricant [3].

### C. Les impuretés

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 devraient être identifiées, qualifiées et étudiées sur le plan toxicologique.

Les impuretés sont classées dans les catégories suivantes :

- Impuretés organiques (liées au procédé et au médicament).
- Impuretés inorganiques.
- Solvants résiduels [9].

### D. Les substances chimiques de référence (SCR):

La substance chimique de référence est définie comme un matériau prévu pour être utilisé dans des essais chimiques et physiques spécifiques, dans lesquels ces propriétés sont comparées aux propriétés des échantillons à examiner. Le degré de pureté d'une telle substance dépend du but de son utilisation. Ils sont classés en étalon primaire et secondaire [10].

### E. Le lot

Un lot est une quantité définie d'une matière première, d'un article de conditionnement ou d'un produit fabriqué en une opération ou une série d'opérations telle que cette quantité puisse être considérée comme homogène. Chaque lot est caractérisé par un numéro de lot.

### F. Produit fini

Le produit fini est un objet qui a subi tous les processus de fabrication y compris le médicament.

## II. Généralité sur Benzoate de métronidazole et ses conservateurs:

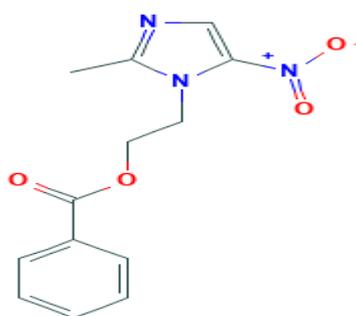
### 1. Benzoate de métronidazole :

#### A. Histoire :

Le métronidazole a été synthétisé par les laboratoires français Rhône-Poulenc et introduit au milieu des années 50 sous la marque Flagel aux États-Unis, tandis que Sanofi-Aventis commercialise le métronidazole dans le monde entier sous le même nom commercial, Flagyl, ainsi que par divers fabricants de médicaments génériques. [11]

#### B. Définition :

Le benzoate de métronidazole est un ester de benzoate résultant de la condensation formelle de l'acide benzoïque avec le groupe hydroxy du métronidazole. Il joue un rôle d'antibactérien, d'agent antimicrobien, d'antiparasitaire, d'antitrichomonal et de pro médicament. Il provient d'un métronidazole et d'un acide benzoïque. Le benzoate de métronidazole a pour formule chimique  $C_{13}H_{13}N_3O_4$ . [12]



**Figure 4 : Structure chimique de Benzoate de métronidazole.**

#### C. Solubilité :

Pratiquement insoluble dans l'eau, librement soluble dans le dichlorométhane R, soluble dans l'acétone R [12].

#### D. Effet thérapeutique :

Le métronidazole est un antibiotique et antiparasitaire appartenant aux métronidazoles. Il inhibe la synthèse des acides nucléiques et est utilisé pour le traitement des infections liées à des bactéries anaérobies ainsi qu'à des protozoaires.

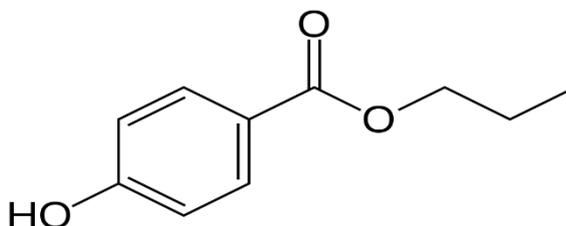
Le métronidazole est utilisé dans le traitement de colites pseudomembraneuses, c'est pourquoi on peut le retrouver associé à d'autres antibiotiques tels que les macrolides apparentés pouvant provoquer ce type de maladie.

Le métronidazole n'est efficace que contre les infections bactériennes anaérobies, car la présence d'oxygène inhibe le processus de réduction de l'azote, essentiel au mécanisme d'action du médicament [13].

#### 2. Parahydroxybenzoate de propyle :

##### A. Définition :

Le 4-hydroxybenzoate de propyle ou propyle parabène est un composé organique de la famille des parabènes, Il provient d'un propane-1-ol et d'un acide 4-hydroxybenzoïque. Il existe à l'état naturel dans de nombreuses plantes et chez quelques insectes, mais on le synthétise pour l'industrie des cosmétiques, la pharmacie et l'industrie agro-alimentaire. C'est un conservateur (E2167) que l'on trouve fréquemment dans les cosmétiques à base d'eau, comme les crèmes, lotions, shampooings et produits de bains, car il est hydrosoluble. Parahydroxybenzoate de propyle a pour formule chimique  $C_{10}H_{12}O_3$ . [14]



**Figure 5 : Structure chimique de Parahydroxybenzoate de propyle.**

## B. Caractéristique :

Le 4-hydroxybenzoate de propyle est un cristal incolore, une poudre blanche ou un solide blanc épais. Point de fusion 95-98 ° C. Odeur sans odeur ou faible odeur aromatique, faible toxicité, insipide, pH légèrement acide en solution, soluble dans l'eau et dans l'alcool. [14]

### 3. Parahydroxybenzoate de méthyle :

#### A. Définition :

Le méthyle parabène est un ester de 4-hydroxybenzoate résultant de la condensation formelle du groupe carboxy de l'acide 4-hydroxybenzoïque avec du méthanol. C'est le conservateur antimicrobien le plus utilisé dans les cosmétiques. Il se produit naturellement dans plusieurs fruits, en particulier dans les myrtilles. Il joue un rôle de métabolite végétal, de conservateur antimicrobien, d'agent neuroprotecteur et d'antifongique, Parahydroxybenzoate de méthyle a pour formule chimique  $C_8H_8O_3$ . [15]

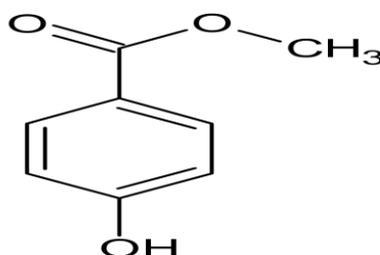


Figure 6 : Structure chimique de Parahydroxybenzoate de méthyle.

#### B. Caractéristique

Le méthyle parabène se présente sous forme de cristaux incolores ou de poudre cristalline blanche. Il est inodore ou presque inodore et a un léger goût de brûlé. Soluble dans l'alcool, l'éther et légèrement soluble dans l'eau, le benzène et le tétrachlorure de carbone. [16]

### III. Etude de stabilité :

#### 1. Définitions :

La stabilité des médicaments selon les normes ICH c'est l'aptitude d'un médicament à conserver ses propriétés chimiques, physique, microbiologique et biopharmaceutique dans des limites spécifiées pendant toute sa durée de validité. [17]

Date limite d'utilisation ou date de péremption : Date jusqu'à laquelle le médicament est censé rester conforme aux spécifications s'il est conservé correctement. Cette date doit figurer en clair sur les conditionnements primaire et secondaire, elle est précédée des mentions suivantes : « A UTILISER AVANT... » ou « DATE LIMITE D'UTILISATION ... ».

Les normes ICH parlent de la stabilité dans les différentes « guideline » :

- ✓ Q1 A (2R): les études de stabilité pour les nouveaux principes actifs et les nouveaux produits formulés.
- ✓ Q1 B: les études de photo stabilité.
- ✓ Q1C: les nouvelles formes galéniques.
- ✓ Q1D: les plans d'études réduites.
- ✓ Q1E: l'évaluation des études de stabilité.
- ✓ Q1F: l'ensemble des études pour les zones climatiques III & IV.

#### 2. Objectifs des études de stabilité :

L'étude de stabilité des médicaments a pour objectif de vérifier qu'ils répondent aux spécifications exigés dans l'**AMM (autorisation de mise en marché)** en terme de qualité pendant toute la 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 et des commercialisations.

On peut étudier la stabilité du principe actif comme la stabilité du produit fini, qui ont pour objectifs : [18]



**A. Objectif des études de stabilité sur principes actif :**

- Définir la stabilité intrinsèque de la molécule.
- Identifier ses produits de dégradation.
- Établir une cinétique d'apparition des produits de dégradation.
- Mettre en place des techniques adaptées à leur détection et à leur quantification.
- Prévenir certaines incompatibilités.
- Orienter le choix des méthodes de contrôle sur le produit fini.
- Orienter les conditions d'études de stabilité du produit fini.
- Déterminer la durée de validité et définir les conditions de stockage.

**B. Objectif des études de stabilité sur le produit fini :**

- Identifier les produits de dégradation provenant de l'interaction des différents composants de la formule.
- Établir une cinétique d'apparition de ces produits de dégradation.
- Mettre en place des techniques analytiques capables d'identifier et de quantifier les produits de dégradation.
- Déterminer la durée de validité du produit.
- Définir les conditions de conservation pendant le stockage et en cours d'utilisation.

**3. Conditions de stabilité selon la norme ICH :**

Les essais de stabilité fournissent des données probantes sur la façon dont la qualité d'un produit varie en fonction du temps et sous l'effet de divers facteurs environnementaux (la température et l'humidité), tout en permettant d'établir les conditions et la durée d'entreposage. [19]

Les études de stabilité doivent être menées sur toutes les dimensions et types de conditionnement prévus pour la mise sur le marché du produit. Elles sont réalisées dans des étuves thermostatées, sous humidité contrôlée et dans des conditions définies selon la norme ICH.

- **Les conditions de longue durée :**

Permettent de définir la date de péremption du produit, intervalle de temps où le produit reste conforme à ses spécifications.

- **La dégradation accélérée:**

C'est une étude conçue pour augmenter la vitesse de dégradation chimique ou d'altération physique d'une substance active, tout en restant compatible avec les mécanismes mis en jeu lors de la conservation normale. Lorsqu'un changement significatif survient au cours des 6 mois de l'étude accélérée, une étude complémentaire dans des conditions intermédiaires doit être mise en place.

Ces différents tests permettent d'apprécier les conséquences d'un changement de formulation sur la conservation d'un produit, ou encore les effets de stabilisants.

Si les études de longue durée sont effectuées à  $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}/60\% \text{ HR} \pm 5\% \text{ HR}$  et s'il y a des « changements significatifs » à n'importe quel moment pendant la période de six mois d'entreposage dans des conditions de dégradation accélérée, des essais supplémentaires dans des conditions intermédiaires doivent être effectués et évalués en regard des critères qui ont présenté des changements significatifs.

Les essais dans les conditions d'entreposage intermédiaires doivent comprendre tous les essais, Pour une substance médicamenteuse, un « changement significatif » correspond à toute dérogation aux spécifications.

<b>Etude</b>	<b>Conditions d'entreposage</b>	<b>Dates de prélèvements</b>
<b>Conditions intermédiaires</b>	30°C / 65% HR	T0 T3 T6 T9 et T12 en cas de changements significatif dans les conditions de stabilité accélérée.
<b>Conditions accélérées</b>	40°C / 75% HR	T0 T3 T6
<b>long terme</b>	25°C / 60% HR	T0 T3 T6 T9 T18 T24 puis tous les ans jusqu'à péremption.

**Tableau 1: Représentatif des conditions et des périodes d'étude de stabilité.**

#### **IV. Identification des résultats en dehors de la tendance lors de la stabilité des médicaments:**

L'industrie pharmaceutique n'a toujours pas de directives appropriées pour l'identification des résultats OOT actuels parmi les données de stabilité en cours. En conséquence, de nombreuses sociétés pharmaceutiques ne sont pas harmonisées dans la manière dont elles effectuent ce type d'analyse.

Dans cette étude on est intéressée par la méthode du contrôle de régression, pour obtenir une identification plus précise des résultats OOT existants.

##### **1. Définition des résultats-hors tendance (OOT):**

En général, les données OOT sur la stabilité peuvent être décrites comme un résultat ou une séquence de résultats qui se situent dans les limites de la spécification, mais sont inattendus, compte tenu de la variation typique d'analyse et d'échantillonnage et de l'évolution normale d'une caractéristique mesurée dans le temps (par exemple, une augmentation du produit de dégradation pour la stabilité).

##### **2. Objectif de l'étude des OOT:**

Des données de stabilité de haute qualité sont essentielles pour les industries pharmaceutique et biopharmaceutique. Ces données constituent la base pour justifier les limites de spécification (également appelées critères d'acceptation dans les directives Q1 et Q6 de la Conférence internationale sur l'harmonisation [ICH]), pour fixer et prolonger les dates d'expiration des produits et pour établir des déclarations de stockage des étiquettes des produits.

Des études de stabilité de routine annuelles peuvent également être utilisées pour prendre en charge les modifications de produits ou de processus et sont essentielles pour garantir la qualité continue des lots de production. Pour faciliter l'identification rapide des problèmes potentiels et garantir la qualité des données, il est avantageux d'utiliser des méthodes objectives (souvent statistiques) permettant de détecter rapidement les données de stabilité potentiellement hors-tendance.



### 3. Problème d'identification des résultats OOT :

Les résultats de stabilité OOT peuvent avoir un impact commercial et réglementaire important. Par exemple, si un résultat OOT se produit dans le lot de production annuel placé sur la stabilité, la production de l'année entière pourrait être affectée, en fonction du niveau d'alerte OOT. Les systèmes utiles à la détection des résultats OOT offrent un accès facile aux résultats antérieurs, ce qui leur permet de suivre les données de stabilité et de déclencher une alerte en cas de situation OOT potentielle. Les procédures décrivant les limites d'OT, les responsabilités pour tous les aspects d'un système d'OT et les instructions d'investigation sont toutes des composantes du système qualité d'une entreprise.

### 4. La différence entre OOT et OOS :

Les résultats des deux termes, hors tendance (OOT) et hors spécification (OOS), sont souvent confondus par les sociétés pharmaceutiques et les organismes de réglementation. Les résultats OOT sont définis comme un résultat de stabilité ne correspondant pas à la tendance attendue, ni par rapport à d'autres lots de stabilité, ni par rapport aux résultats antérieurs recueillis au cours d'une étude de stabilité. Les résultats OOT ne sont pas nécessairement OOS, mais ils ne ressemblent pas à un point de données typique. Bien que les résultats OOT constituent un problème sérieux, la littérature scientifique et les directives réglementaires ne répondent pas pleinement à ce problème. [20]

### 5. Méthodes de détection des résultats OOT :

Trois méthodes sont décrites et illustrées par les équipes d'experts en statistique et stabilité des CMC de la PhRMA :

- Méthode du tableau de contrôle de régression
- Méthode par point de temps
- Méthode du tableau de contrôle des pentes.

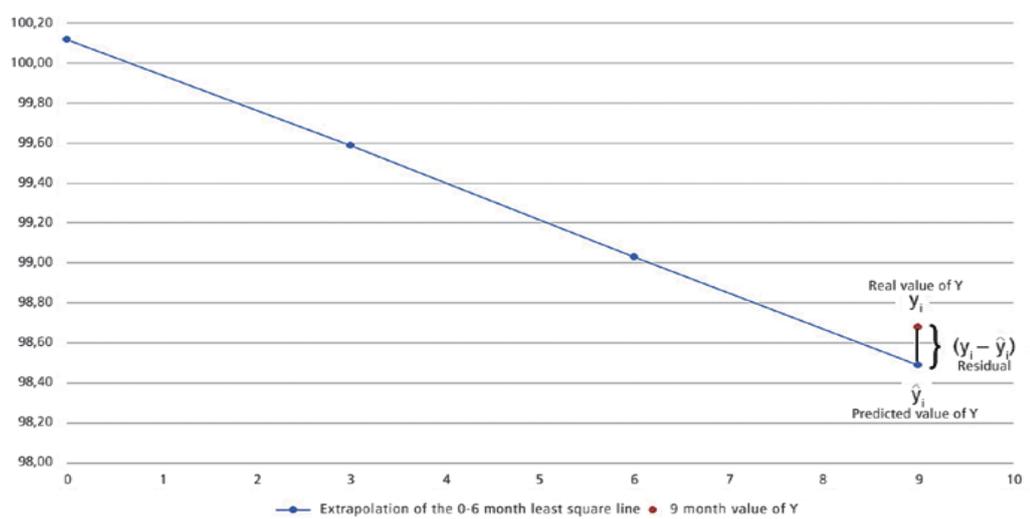
Dans la méthode du diagramme de contrôle de régression, les données sont comparées à l'intérieur d'un lot, tandis que dans la méthode du point de référence, les

données sont comparées aux données historiques des lots antérieurs au même moment. Dans la méthode de la carte de contrôle de la pente, une caractéristique (la pente) du profil de stabilité du lot observé est comparée à celle des lots antérieurs. [21]

**6. Identifier les données OOT par tableau de contrôle de régression:**

La méthode de régression-contrôle-graphique est utilisée pour comparer les résultats dans le lot et détecter les résultats OOT actuels. Aux fins de cette méthode, le lot a été examiné. Plusieurs droites de régression par les moindres carrés ont été ajustées aux données appropriées. La première droite de régression a été construite à partir des trois résultats du test aux trois premiers points de temps (0, 3 et 6 mois). Avec estimation de cette droite de régression, les valeurs prédites pour Y et les résidus Y ont été calculées **figure 7**.

Avec x c'est le nombre de point temporel et y dans cette exemple c'est la teneur de PA déclaré pendant cette durée d'étude.



**Figure 7 : Méthode des moindres carrés pour la période de 0 à 9 mois.**

La procédure a été ensuite répétée en ajoutant progressivement tous les autres points temporels consécutifs.



**A. Critères d'identification de l'OOT :**

La technique de décision consiste à comparer une valeur à un intervalle statistique. Quatre types d'intervalles statistiques sont utilisés : l'intervalle de confiance, l'intervalle de prévision, l'intervalle de shewarht et l'intervalle de tolérance. [21]

• **L'intervalle de confiance IC :**

Les intervalles de confiances sont des étendues de valeurs ayant de forte chances de contenir la réponse moyenne pour la population qui présente les valeurs observées pour les prédicteurs ou les facteurs de modèle pour un niveau de confiance donné.

L'intervalle de confiance est composé de deux parties :

- L'estimation ponctuelle : est l'estimation du paramètre calculé à partir des données échantillons, IC est centré sur cette valeur.

$\hat{Y}$  est calculé par estimation de la droite de régression au nouveau point  $X^*$  par l'équation :  $\hat{Y} = b_0 + b_1x^*$  **Equation 1**

Où  $b_0$  et  $b_1$  sont l'interception et la pente de la droite de régression

- Marge d'erreur : définir la largeur de confiance IC et est déterminée par la variabilité observée dans l'échantillons, l'effectif de l'échantillon et le niveau de confiance. La marge d'erreur est ajoutée à l'estimation ponctuelle.

$$CL = \hat{y}^* \pm t_{\alpha/2} S_r / \sqrt{n} \quad \text{Equation 2}$$

Où  $\hat{Y}$  est la valeur prédite de  $X^*$ ,  $t_{\alpha/2}$  est la valeur critique t au niveau  $\alpha/2$  avec n-2 degrés de liberté, où n est le nombre de points utilisés pour construire la droite de régression.

- **L'intervalle de Shewhart :**

Calcul des limites Shewhart se fait par équation suivant :

$$IS = \hat{y} \pm Z_{\alpha/2} * Sr \quad \text{Equation 3}$$

Où  $Z_{\alpha/2}$  est la valeur critique de la distribution normale standard au niveau  $\alpha/2$ ,  $Sr$  est l'écart type résiduel.

La variance de l'échantillon combiné est la moyenne arithmétique des écarts d'échantillon individuels :  $S^2_p = \sum S^2_i / p$

Où  $S^2_p$  est la variance de l'échantillon combiné, est  $S_i^2$  variance des résidus, et  $p$  est le nombre de termes historiques impliqués.

Lorsque la racine carrée de la variance estimée mise en commun est remplacée,  $Sr$  est considérée comme égale à  $Sp$  (res).

- **L'intervalle de prédiction IP :**

L'intervalle de prédiction est une étendue ayant de fortes chances de contenir une réponse future pour une combinaison des paramètres de variables sélectionnée. L'intervalle de prédiction est toujours plus large que l'intervalle de confiance correspondant.

$$\hat{Y} - t_{\alpha/2} S_{y^* - \hat{y}} < y^* < \hat{Y} + t_{\alpha/2} S_{y^* - \hat{y}} \quad \text{Equation 4}$$

$Y^*$  est la nouvelle valeur mesurée à  $X^*$  point temporel.

Le côté droit de l'inégalité est la limite supérieure de prévision (UPL), tandis que le côté gauche est la limite inférieure de prédiction (LPL). Si l'inégalité est satisfaite, c'est-à-dire que le  $Y$  est dans les limites, les données sont acceptées, sinon c'est OOT.  $\hat{Y}$  Est calculé par l'estimation de la droite de régression au nouveau point  $x^*$  par

l'équation :  $\hat{Y} = b_0 + b_1 x^*$

Où  $b_0$  et  $b_1$  sont l'interception et la pente de la ligne de régression (créées avec des données de référence), respectivement.

$S_{y^*-\hat{y}}$  est calculé par l'équation :

$$S_{y^*-\hat{y}} = S_R \sqrt{\left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(x^*-\bar{x})^2}{\sum_{j=1}^k (x_j-\bar{x})^2}\right)} \quad \text{Equation 5}$$

Où  $S_r$  est l'écart-type résiduel,  $n$  est le nombre de points utilisés pour construire la ligne de régression, et  $\bar{X}$  est la moyenne des valeurs  $x_j$  (points de temps) des données (sans  $X^*$ ) utilisées pour estimer la ligne de régression.

- **L'intervalle de tolérance IT :**

Les limites de tolérance peuvent être calculées par l'équation :

$$TL = \hat{y}^* \pm K_1 S_r \quad \text{Equation 6}$$

Lorsque  $k_1$  est calculé par l'équation :

$$K_1 = \sqrt{\frac{\vartheta x_{P,1}^2 \left(\frac{1}{n'}\right)}{x_{1-\gamma,\vartheta}^2}} \quad \text{Equation 7}$$

Où  $n'$  est le nombre effectif d'observations,  $\nu$  est le degré de liberté ( $n-2$ ),  $\chi^2_{1-\gamma,\nu}$  est la valeur critique de khi-deux à un niveau  $1-\gamma$  unilatéral avec  $\nu$  degrés de liberté,  $\chi^2_{P,1}$  est la valeur critique de la distribution non-centrale-khi-deux au niveau  $P$  unilatéral avec  $\nu$  degrés de liberté.  $n'$  peut être calculé par l'équation :

$$n' = \frac{n \sum (x_i - \bar{x})^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2 + n(x^* - \bar{x})^2} \quad \text{Equation 8}$$



## *CHAPITRE III : Partie expérimentales*



## I. Dosage du benzoate de métronidazole, des conservateurs et des substances apparentées :

Les données provenant d'études de stabilité en cours portant sur un médicament final ayant une durée de conservation de 36 mois ont été utilisées. Les études en cours ont été menées sur 2 conditions de stockage différent. Le produit est fabriqué sous forme de suspension blanc-grisâtre à odeur d'orange et de citron, la spécialité pharmaceutique est constituée d'une substance active benzoate de métronidazole et de deux conservateurs parahydroxybenzoate de méthyle et parahydroxybenzoate de propyle de force respectivement définie de 4 g 0.08 g et 0.02 g.

Les études en cours ont été menées pendant 36 mois dans des chambres de stabilité à une température constante de  $25 \pm 2$  ° C et à une humidité relative de  $60 \pm 5\%$  dans les conditions à long terme et une température de  $30 \pm 2$  ° C et à une humidité relative de  $65 \pm 5\%$  dans les conditions intermédiaires conformément à la directive ICH Q1A (R2).

Les données rapportées sont des résultats de données uniques pour l'attribut de dosage, calculés en pourcentage la teneur déclarée de substance active et les conservateurs et la substance apparentée. L'attribut de dosage a été analysé conformément à la méthode interne validée du fabricant aux points 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 et 36 mois pour le lot testé.

### 1. Conditions chromatographiques :

Les conditions chromatographiques utilisées pour ce dosage sont résumées dans le tableau suivant :

- Colonne : Luna C18 (2) 100 A°, 250\*4,6 mm, 5 µm
- Débit : 1mL/min
- Volume d'injection : 10µL
- Détection : UV à 235 nm
- Temps d'analyse : 25 min pour la solution témoin



22 min pour la solution essai

## 2. Protocole analytique

- **Phase mobile :**

Dissolvez 1.36 g de phosphate monopotassique anhydre dans 1000 ml d'eau purifiée, ajustez à pH 4 avec l'acide phosphorique dilué.

Temps	0min	60min
Tampon phosphate pH	60%	60%
Acétonitrile	40%	40%

- **Solvant dilution**

Prélever 50 ml de solution tampon et ajoutez 50 ml d'acétonitrile en agitant.

- **Préparation de la solution d'essai :**

Dans une fiole jaugée de 50 ml, introduire une prise de produit suspension **1547 mg**, ajouter 50ml de diluant, traiter aux ultrasons pendant 10 minutes et filtrer.

- **Préparation de la solution mère d'acide benzoïque (impureté A) :**

Dans une fiole jaugée de 100 ml dissoudre **50 mg** d'acide Benzoïque dans 100 ml acétonitrile, traiter aux ultrasons pendant 5 min.

- **Préparation de la solution mère du parahydroxybenzoate de méthyle (Conservateur B):**

Dans une fiole jaugée de 50 ml dissoudre **85 mg** parahydroxybenzoate de méthyle dans 50 ml acétonitrile, traiter aux ultrasons pendant 5 min.



- **Préparation de la solution mère du parahydroxybenzoate de propyle (Conservateur C):**

Dans une fiole jaugée de 100 ml dissoudre **50 mg** parahydroxybenzoate de propyle dans 100 ml acétonitrile, traiter aux ultrasons pendant 5 min.

- **Préparation de la solution mère intermédiaire D :**

Dans une fiole jaugée de 100 ml dissoudre 5 ml solution A, 5 ml solution B, 4ml solution C et 50 ml solvant dilution.

- **Préparation de la solution témoin T1 et T2 :**

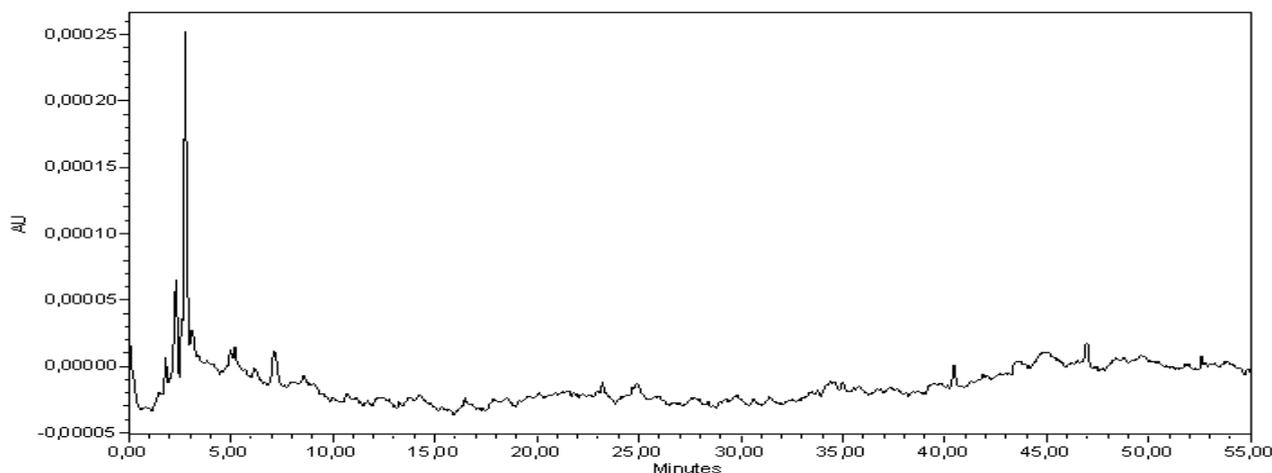
Dans une fiole jaugée de 100 ml dissoudre **50 mg** de Benzoate de métronidazole étalon de travail et 5 ml de solution D dans le diluant, traiter aux ultrasons pendant 10 min.

## **II. Résultats du Dosage du benzoate de métronidazole, ses impuretés et ses conservateurs :**

### **1. Resultants d'analyse:**

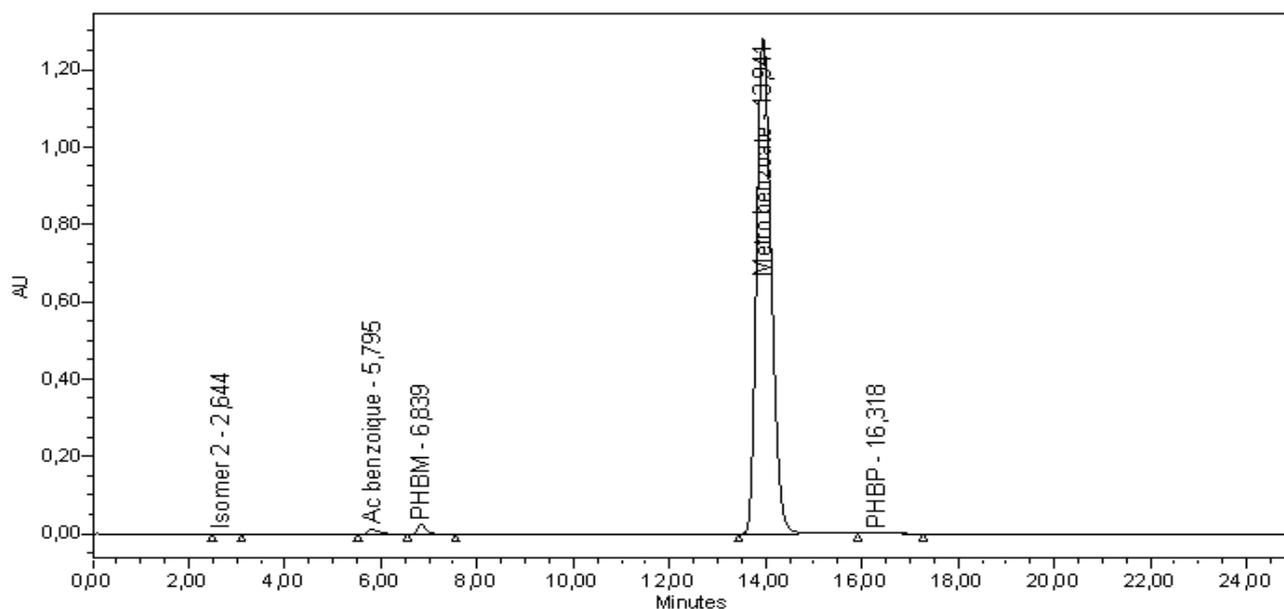
On obtient après injection de chacune des solutions à examiner et solution témoin les chromatogrammes suivants :

Solution blanc (phase mobile) après l'équilibrage de la colonne :



**Figure 8: Chromatogramme du blanc.**

La solution témoin nous donne le chromatogramme des pics suivants :



**Figure 9: Chromatogramme de la solution témoin.**

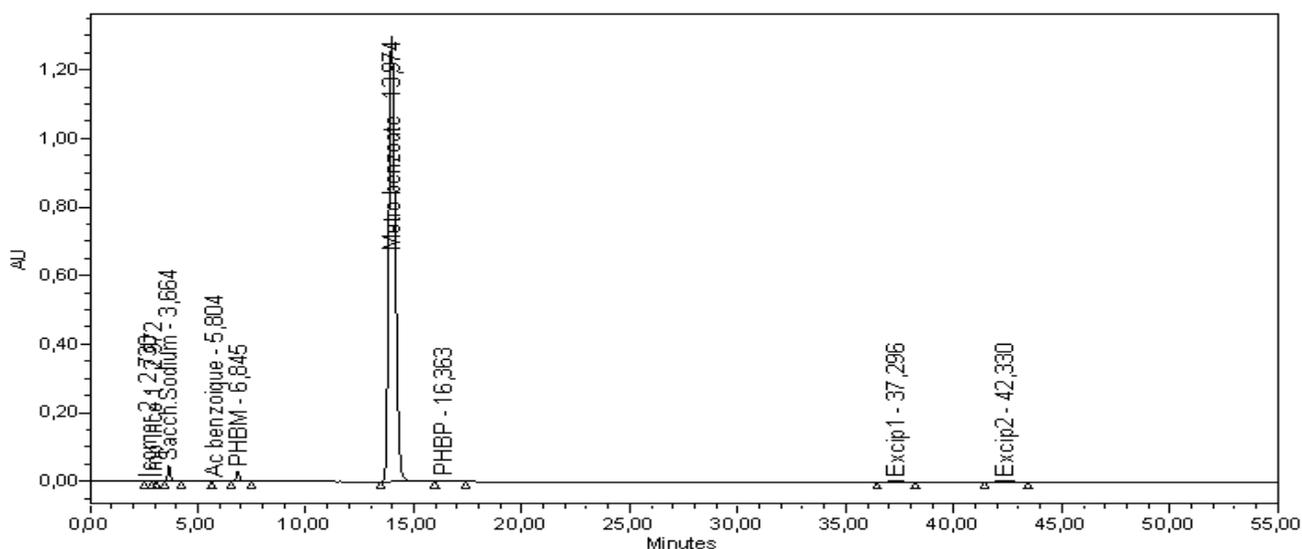
La solution témoin nous permet de tester Les performances du système chromatographiques.

Il faut avoir un nombre de plateaux théoriques qui doit être supérieure à 3000 et le facteur de symétrie entre 0,8 - 1,5 et une résolution supérieure à 1.5.

	<b>A.benzoïque</b>	<b>PHBM</b>	<b>Benzoate de métronidazole</b>	<b>PHBP</b>
<b>tr</b>	5,34	6,91	14,74	16,43
<b>Air</b>	759077,00	1270210	112019978	244133
<b>Fs</b>	1,40	1,2	1,2	1,2
<b>Nth</b>	6715,00	11275	12345	14510

**Tableau 2: les données du témoin pour l'étude de la conformité de système.**

La solution examinée nous a donné le chromatogramme suivant :



**Figure 10: Chromatogramme de la solution essai.**

Les résultats de séparation sont repris dans le tableau suivant :

	<b>A.benzoïque</b>	<b>PHBM</b>	<b>Benzoate de métronidazole</b>	<b>PHBP</b>
<b>tr</b>	5,36	6,93	14,79	16,94
<b>Air</b>	7056,00	1512378	113707528	307073
<b>Fs</b>	1,40	1,2	1,2	1,2
<b>Nth</b>	9605,00	11371	12593	14503

**Tableau 3: Les résultats de séparation de la solution examinée.**

La première remarque qu'on observe est l'absence de tout autres impuretés exceptent l'acide benzoïque qui est le produit de dégradation de benzoate de métronidazole par les effets (humidité et température, ct...).

La deuxième remarque d'après la figure de la solution témoin et la solution essai, qu'il n'y a pas d'interférence au temps de rétention du pic de PA avec les autres solutions.

A l'aide des surfaces obtenue avec la solution examiner et la solution témoin on calcule le taux d'impureté A acide benzoïque dans PA examiné.

Calcul numérique : **[Acide benzoïque]** =  $S_{AB}$  (surface de pic d'acide benzoïque du sol. Essai) /  $S_{BM}$  (surface de pic de benzoate de métronidazole du sol. Essai).

## 2. Résultats du contrôle :

Nous avons travaillé sur deux conditions (long terme et intermédiaire) pour étudier la stabilité de produit fini avant la date de péremption par la technique de HPLC.

A cet effet, par les registres d'étude de stabilité de ce lot, nous trouvons la trace de toutes les activités concernant cette étude.

Les tableaux suivants regroupent tous les résultats trouvés pendant la durée de l'étude:

- **Condition à long terme** ( $25^{\circ}\text{C} \pm 2$  /  $60\% \text{ HR} \pm 5\% \text{ HR}$ ) :

Termes	<i>T0</i>	<i>T3</i>	<i>T6</i>	<i>T9</i>	<i>T12</i>	<i>T18</i>	<i>T24</i>	<i>T36</i>
<b>benzoate de metronidazole</b>	3,96	3,94	4,07	3,82	3,98	3,95	3,91	3,87
<b>PHBM</b>	0,078	0,079	0,076	0,073	0,076	0,073	0,067	0,069
<b>PHBP</b>	0,019	0,021	0,02	0,018	0,021	0,019	0,018	0,019
<b>Acide benzoïque</b>	0,1	0,3	0,5	0,4	0,7	1,3	1,5	2,2

**Tableau 4: Résultats d'analyse dans des conditions à long terme.**

- **Condition intermédiaire** ( $30^{\circ}\text{C} \pm 2 / 65\% \text{ HR} \pm 5\% \text{ HR}$ ) :

Termes	<i>T0</i>	<i>T3</i>	<i>T6</i>	<i>T9</i>	<i>T12</i>	<i>T18</i>	<i>T24</i>	<i>T36</i>
<b>benzoate de metronidazole</b>	3,89	3,91	3,92	3,8	3,92	3,98	3,79	3,83
<b>PHBM</b>	0,078	0,078	0,071	0,072	0,074	0,07	0,067	0,066
<b>PHBP</b>	0,019	0,021	0,02	0,018	0,02	0,019	0,018	0,019
<b>Acide benzoïque</b>	0,1	0,4	1	0,9	1,2	2,1	2,6	3,4

**Tableau 5: Résultats d'analyse dans des conditions intermédiaires.**

### **3. Interprétation des résultats :**

La retraduction des résultats illustrés dans les tableaux après traitement des données et le calcul de chacun des intervalles de confiance, prédiction, tolérance et shewhart nous a donné les tableaux de contrôle pour chacun des produits dans les deux conditions de stockage et pour faciliter la lecture nous avons allongé sur des graphes pour comparer les résultats et détecter les résultats OOT.

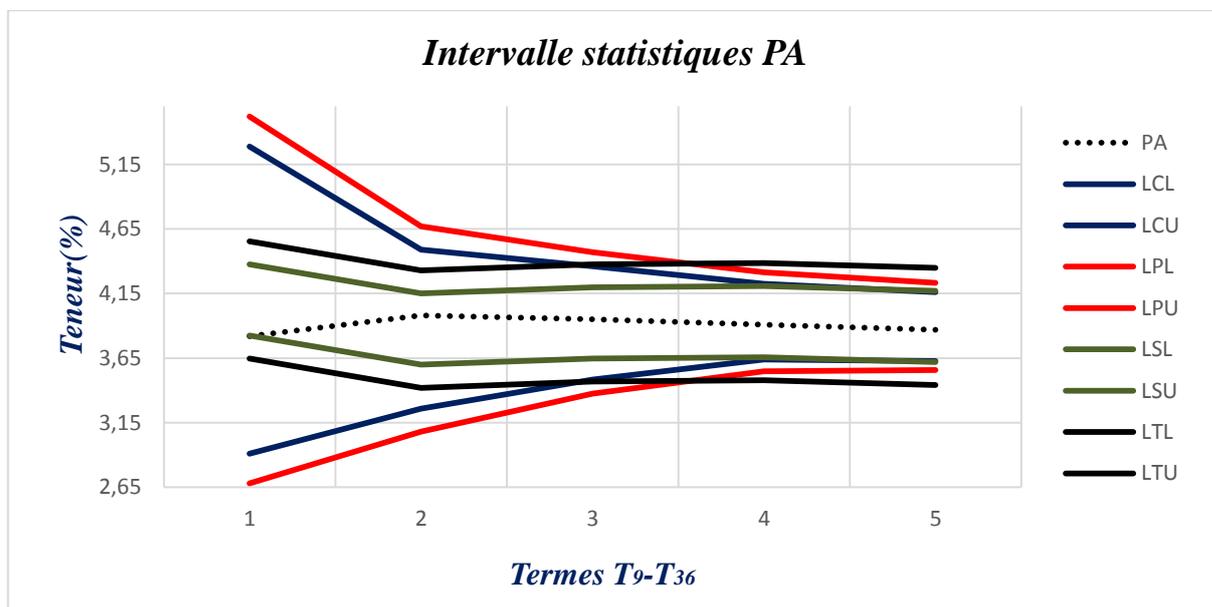
Le niveau de confiance de 95 % ( $\alpha=0,05$ ) est utilisé dans cette étude, les limites Shewhart ( $\alpha=0,05$ ), les limites de prédiction ( $\alpha=0,05$ ) et les limites de tolérance ( $P=0,99$  comme contenu,  $\gamma=0,95$  comme niveau de confiance) sont également calculées.

#### **A. Résultat de contrôle du benzoate de métronidazole :**

- **Condition à long termes :**

Termes	LCL	LCU	LPL	LPU	LSL	LSU	LTL	LTU
T9	2,91	5,29	2,68	5,52	3,82	4,38	3,65	4,55
T12	3,26	4,49	3,08	4,67	3,60	4,15	3,42	4,33
T18	3,48	4,36	3,37	4,47	3,65	4,20	3,47	4,38
T24	3,64	4,22	3,55	4,32	3,66	4,21	3,48	4,39
T36	3,63	4,16	3,56	4,23	3,62	4,17	3,44	4,35

**Tableau 6: Les Intervalles de contrôle de régression du PA dans les conditions à long durée.**



***Figure 11: Le profil de stabilité du PA dans les conditions à long terme.***

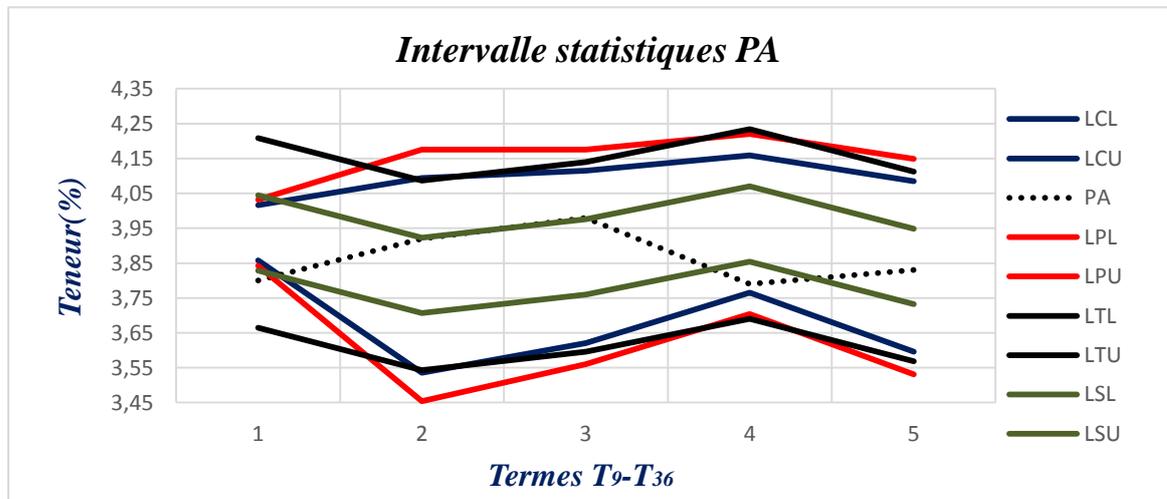
D'après le profil de stabilité, on remarque que l'intervalle de confiance et de prédiction est plus large au point temporel T9, ce qui élargirait inutilement l'intervalle d'acceptation, tandis que les limites Shewhart et tolérance possède un intervalle trop étroit.

Toutes les points temporels est sous contrôle statistique, aucun OOT ni détecté.

• **Condition intermédiaire :**

Termes	LCL	LCU	LPL	LPU	LSL	LSU	LTL	LTU
T9	3,86	4,02	3,84	4,03	3,83	4,04	3,66	4,21
T12	3,54	4,09	3,45	4,18	3,71	3,92	3,54	4,09
T18	3,62	4,11	3,56	4,18	3,76	3,98	3,60	4,14
T24	3,77	4,16	3,70	4,22	3,85	4,07	3,69	4,23
T36	3,60	4,08	3,53	4,15	3,73	3,95	3,57	4,11

***Tableau 7: Les Intervalles de contrôle de régression du PA dans les intermédiaires.***



**Figure 12: Le profil de stabilité du PA dans les conditions intermédiaires.**

Après avoir poursuivi la pratique de calcul, le point temporel T9 est révélé hors des intervalles de prédiction, de confiance et de shewhart soit  $3,8 < LPL, LCL$  et  $LPL$  par conséquent, il est déclaré OOT.

Aussi le point temporel de T24 mois est révélé hors de l'intervalles de shewhart soit  $3,79 < LSL$ , donc aussi il est déclaré comme un OOT malgré il est dans les autres limites.

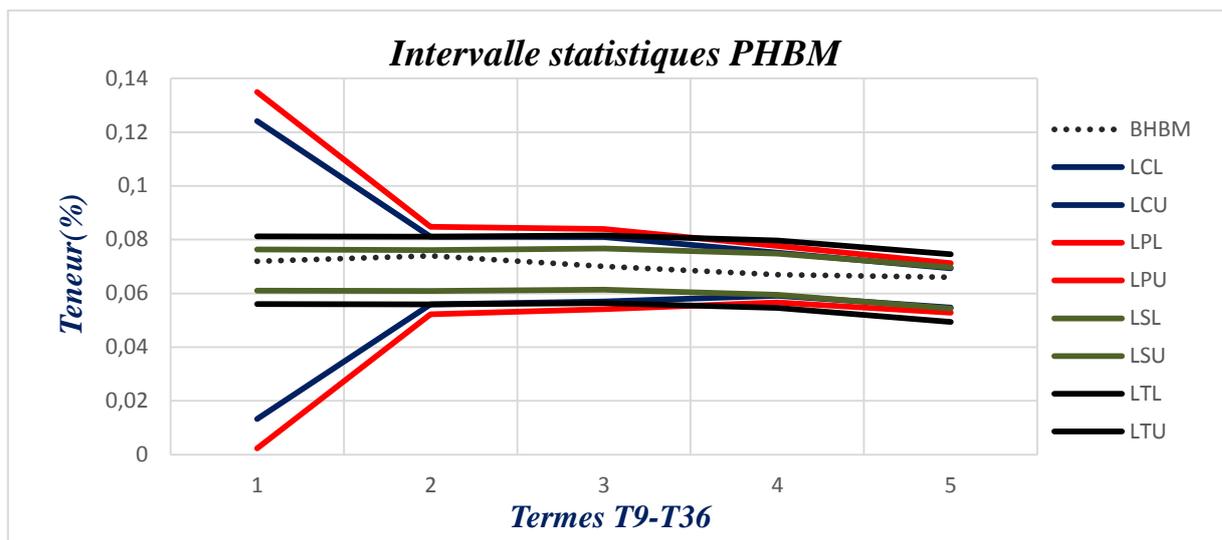
**Interprétation :** Les OOT détectés au T9 et T24 dans les conditions intermédiaires n'est pas un problème survenu de condition du stockage tandis que les autres termes sont dans les limites de contrôle. Il est dû à un non homogénéité du lot fabriquer.

**B. Résultat de contrôle du PHBM :**

- **Condition à long termes :**

Termes	LCL	LCU	LPL	LPU	LSL	LSU	LTL	LTU
T9	0,044	0,107	0,038	0,114	0,072	0,079	0,067	0,084
T12	0,064	0,080	0,061	0,083	0,069	0,075	0,063	0,081
T18	0,064	0,081	0,062	0,083	0,069	0,076	0,064	0,081
T24	0,065	0,076	0,064	0,078	0,068	0,074	0,062	0,080
T36	0,057	0,070	0,056	0,071	0,060	0,067	0,055	0,072

**Tableau 8: Les Intervalles de contrôle de régression du PHBM dans les conditions à long terme.**



**Figure 13: Le profil de stabilité du PHBM dans les conditions à long terme.**

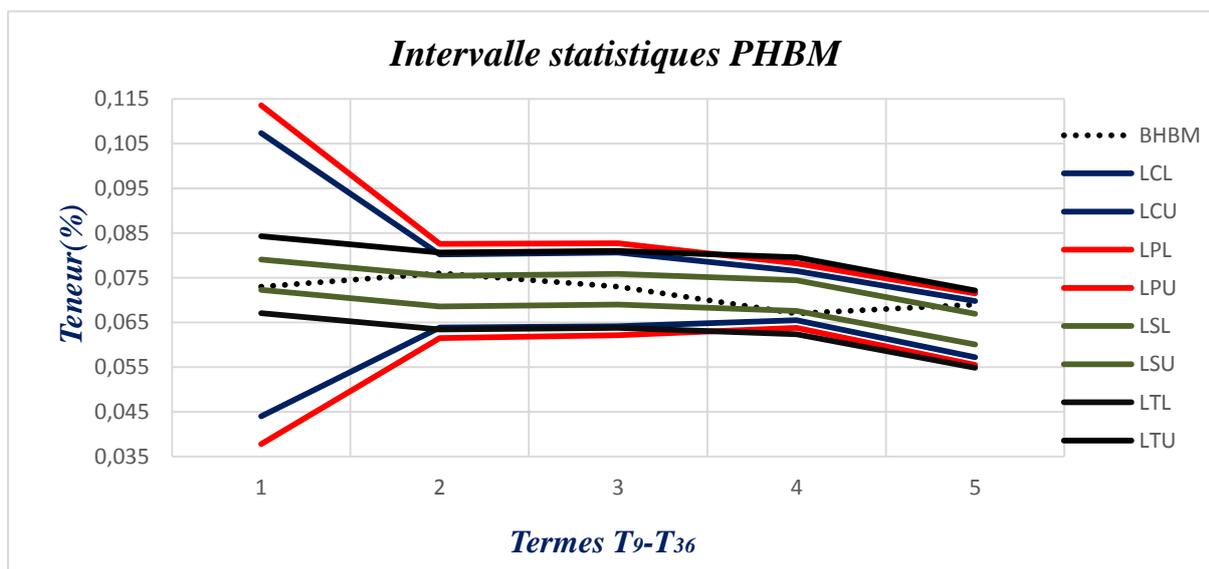
D'après le profil de stabilité, on remarque que l'intervalle de confiance et de prédiction est plus large au point temporel T9.

Toutes les points temporels est sous contrôle statistique, aucun OOT ni détecté.

• **Condition intermédiaire :**

Termes	LCL	LCU	LPL	LPU	LSL	LSU	LTL	LTU
T9	0,013	0,124	0,002	0,135	0,061	0,076	0,056	0,081
T12	0,056	0,081	0,052	0,085	0,061	0,076	0,056	0,081
T18	0,057	0,081	0,054	0,084	0,061	0,077	0,056	0,082
T24	0,059	0,075	0,057	0,078	0,059	0,075	0,055	0,080
T36	0,055	0,069	0,053	0,071	0,054	0,070	0,049	0,075

**Tableau 9: Les Intervalles de contrôle de régression du PHBM dans les conditions intermédiaires.**



**Figure 14: Le profil de stabilité du PHBM dans les conditions intermédiaires.**

D'après le profil de stabilité, on remarque que les deux points temporels T24 et T36 mois est révélé hors de l'intervalles de shewhart soit  $0,067$  et  $0,069 < LSL$ , donc aussi il est déclaré comme un OOT malgré il est dans les autres limites

**Interprétation :**

D'après l'interprétation des deux profils de stabilité de PHBM on a trouvé deux point successive T24 et T36 dans les conditions intermédiaires donc c'est un problème survenu au condition de stockage.

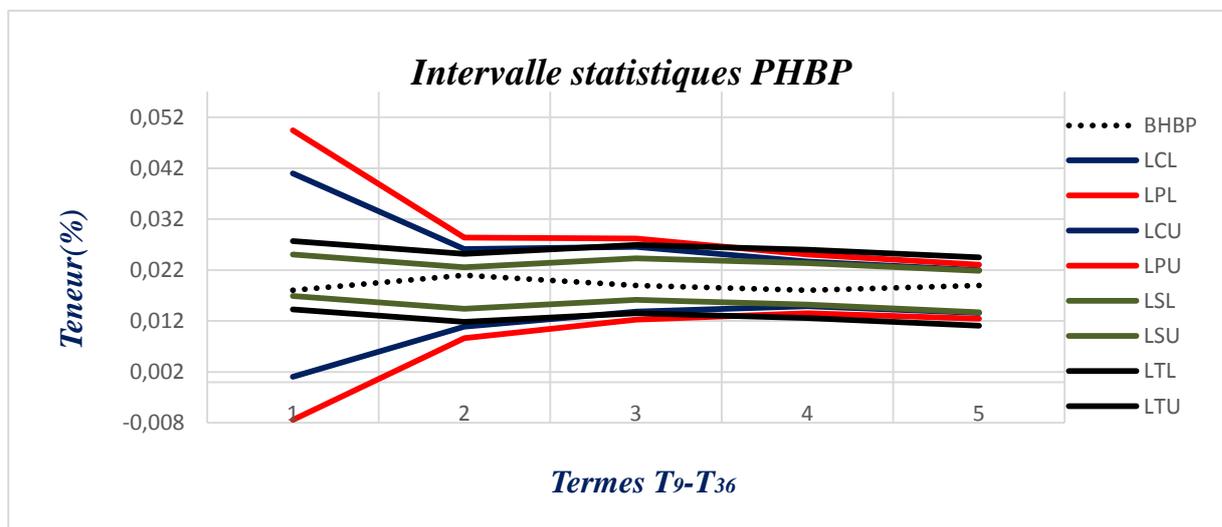
Le PHBM est sensible à la température laquelle combinée à l'humidité.

**B. Résultat de contrôle du BHBP :**

• **Condition à long termes**

Termes	LCL	LCU	LPL	LPU	LSL	LSU	LTL	LTU
T9	0,001	0,041	-0,007	0,049	0,018	0,024	0,014	0,028
T12	0,011	0,026	0,009	0,028	0,016	0,021	0,012	0,025
T18	0,014	0,027	0,012	0,028	0,018	0,023	0,014	0,027
T24	0,015	0,024	0,014	0,025	0,017	0,022	0,013	0,026
T36	0,014	0,022	0,012	0,023	0,015	0,020	0,011	0,024

**Tableau 10: Les Intervalles de contrôle de régression du PHBP dans les conditions à long terme.**

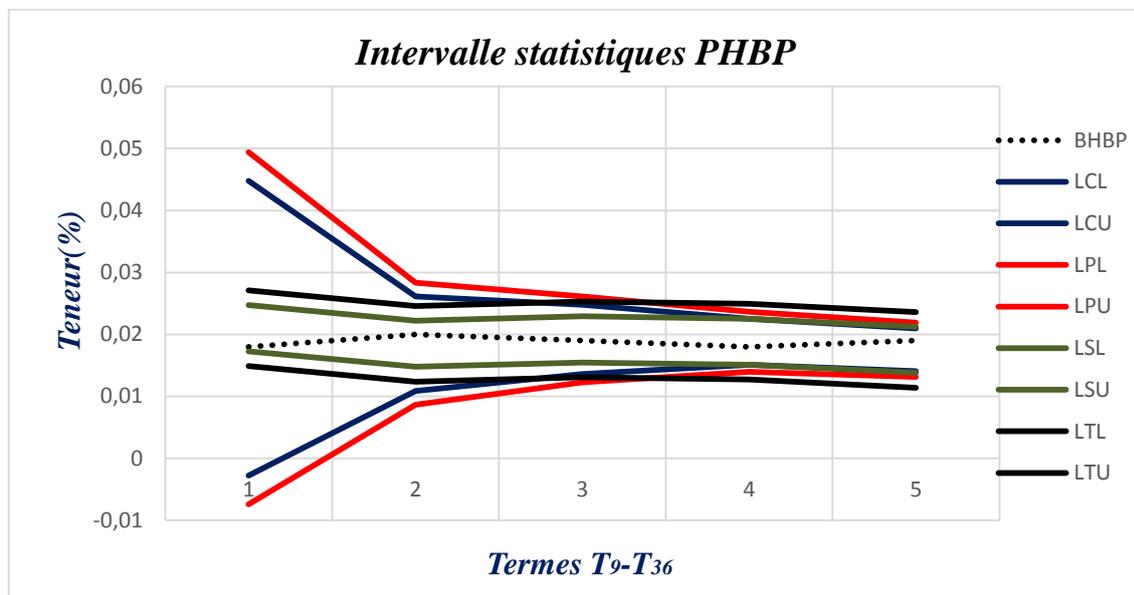


**Figure 15: Le profil de stabilité du PHBP dans les conditions à long terme.**

• **Condition intermédiaire :**

Termes	LCL	LCU	LPL	LPU	LSL	LSU	LTL	LTU
T9	-0,003	0,045	-0,007	0,049	0,017	0,025	0,015	0,027
T12	0,011	0,026	0,009	0,028	0,015	0,022	0,012	0,025
T18	0,014	0,025	0,012	0,026	0,015	0,023	0,013	0,025
T24	0,015	0,023	0,014	0,024	0,015	0,023	0,013	0,025
T36	0,014	0,021	0,013	0,022	0,014	0,021	0,011	0,024

**Tableau 11: Les intervalles de contrôle de régression du PHBP dans les conditions intermédiaires.**



**Figure 16: Le profil de stabilité du PHBP dans les conditions intermédiaires.**

**Interprétation :** D'après le profil de stabilité dans les deux conditions de stockage, on remarque que l'intervalle de confiance et de prédiction est plus large au point temporel T9, tandis que les limites Shewhart et tolérance possède un intervalle trop étroit.

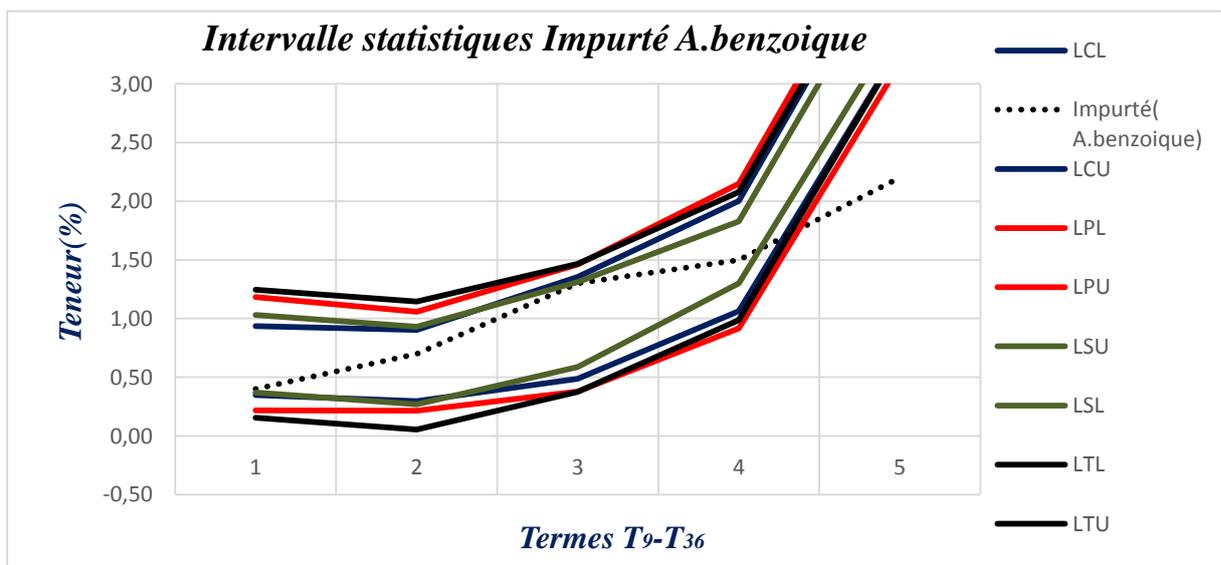
Toutes les points temporels est sous contrôle statistique, aucun OOT ni détecté, Pas de différence entre les deux conditions.

**C. Résultat de contrôle d'impureté de l'acide benzoïque :**

- **Condition à long termes :**

Termes	LCL	LCU	LPL	LPU	LSL	LSU	LTL	LTU
9	0,35	0,94	0,22	1,18	0,37	1,03	0,15	1,25
12	0,30	0,90	0,22	1,06	0,27	0,93	0,05	1,15
18	0,49	1,35	0,38	1,46	0,59	1,31	0,37	1,47
24	1,06	2,00	0,92	2,15	1,30	1,83	0,99	2,08
36	3,31	4,39	3,17	4,53	3,52	4,18	3,31	4,40

**Tableau 12: Les Intervalles de contrôle de régression d'impureté de l'Acide benzoïque dans les conditions à long durée.**



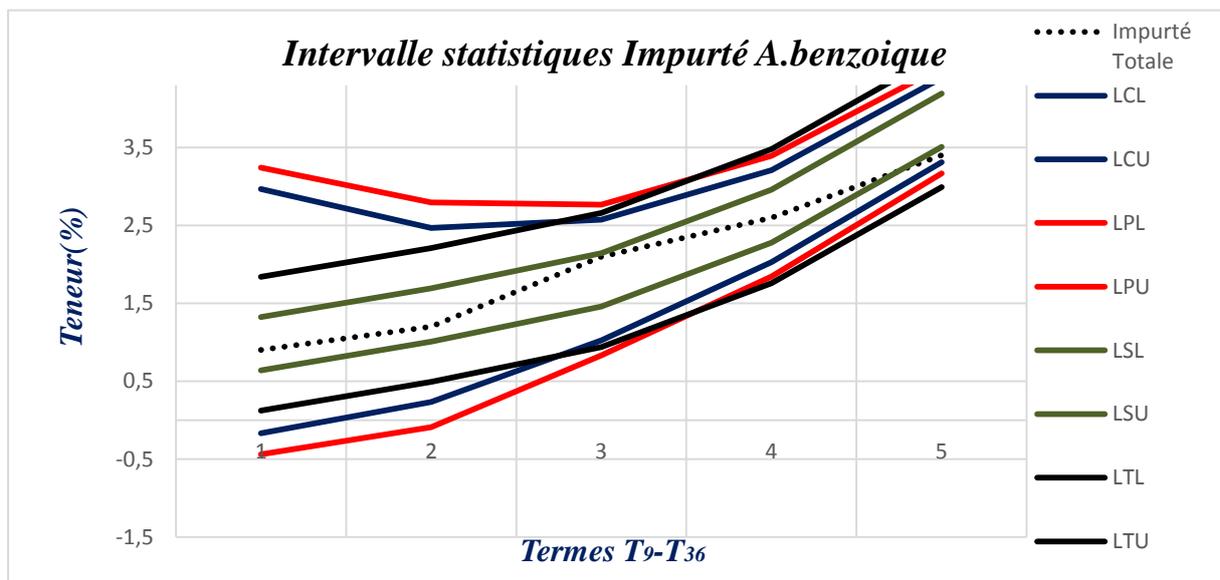
**Figure 17: Le profil de stabilité d'impureté de l'Acide benzoïque dans les conditions à long terme.**

Après avoir poursuivi la pratique de calcul, le point tempore de T36 mois est révélé hors des intervalles de prédiction, de confiance, tolérance et shewhart soit  $2.2 < LPL, LCL, LTL$  et  $LSL$  par conséquent, il est déclaré OOT.

• **Condition intermédiaire :**

Termes	LCL	LCU	LPL	LPU	LSL	LSU	LTL	LTU
T9	-0,169	2,969	-0,441	3,241	0,638	1,322	0,120	1,840
T12	0,232	2,468	-0,093	2,793	1,008	1,350	0,490	2,210
T18	1,024	2,576	0,833	2,767	1,458	1,800	0,940	2,660
T24	2,027	3,210	1,842	3,395	2,277	2,619	1,758	3,479
T36	3,312	4,392	3,170	4,534	3,510	3,852	2,992	4,712

**Tableau 13: Les Intervalles de contrôle de régression d'impureté de l'Acide benzoïque dans les conditions intermédiaires.**



**Figure 18: Le profil de stabilité d'impureté de l'Acide benzoïque dans les conditions intermédiaires.**

D'après le profil de stabilité, on remarque que le point temporel T36 mois est révélé hors de l'intervalles de shewhart soit  $3,4 < LSL$ , donc aussi il est déclaré comme un OOT malgré il est dans les autres limites.



**Interprétation :** D'après les deux profils de stabilité on a trouvé à T36 un point OOT dans les deux conditions de stockage. D'après les deux tableaux comparatifs on remarque que le taux d'impureté de l'acide benzoïque n'est pas stable et augmente dans les conditions intermédiaires plus rapide que dans les conditions à long terme, Donc la molécule de benzoate de métronidazole est sensible à l'humidité laquelle combinée à la température.

Les taux de dégradation sont évidemment plus supérieurs à condition intermédiaire qu'au condition à long terme tout peut être s'expliqué par augmentation de la vitesse de la réaction chimique à cause de l'augmentation de la température.

C'est à dire que la date de péremption du médicament n'est pas conforme.



## *Conclusion générale*

En guise de conclusion nous pouvons dire que l'identification des résultats hors tendance lors de l'étude de la stabilité des médicaments joue un rôle très important dans l'évaluation de la stabilité et détection des problèmes.

Elle nous a permis également de maîtriser la validité du produit durant la durée de vie et garantir la qualité continue des lots de production, et faciliter l'identification rapide des problèmes potentiels et garantir la qualité des données, ce qui nous servira à la conception des contrôles appropriés et des conditions convenables durant la fabrication et le stockage.

Ce travail qui a été réalisé au MAPHAR, a pour objectif d'identifier les résultats hors tendance en stabilité d'un dosage par HPLC. D'après l'étude effectuée on peut confirmer que la méthode de contrôle de régression, permet d'identifier les résultats hors de la tendance en stabilité. Et d'après les OOT détectés lors de dosage de ce principe actif et ses conservateurs et son impureté pendant la durée de stockage on peut conclure que les conditions de stockage influencent sur le taux d'acide benzoïque qui est un produit de dégradation de benzoate de métronidazole et aussi sur la stabilité de PHBM car il est sensible à la température laquelle combinée à l'humidité, les autres résultats hors tendance détectés ne sont pas dû à la condition de stockage.



## BIBLIOGRAPHIE

- [1] : [www.maphar.ma](http://www.maphar.ma) ; consulté le: 30.03.2019
- [2] : Meunier, C. Opinion vis-à-vis des médicaments génériques : enquête auprès de 300 patients de pharmacies seinomarines ; mise en évidence du rôle joué par le médecin traitant. Rouen : Faculté mixte de médecine et de pharmacie, 2013, p116.
- [3] : AMIP, le secteur pharmaceutique marocain : réalités sur le prix des médicaments intérêt du secteur, Maroc, 2010.Haut-commissariat au plan.
- [4]. Nouhoum T.M., « Etude de stabilité des comprimés sous blister de l'Usine Malienne de Produits Pharmaceutiques: Cas du paracétamol et du chloramphénicol », thèse, Université de Bamako Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS), 2009.
- [5]. TABOULET F., « La politique du médicament générique en France Un environnement en pleine évolution », Thèse, université Paul Sabatier – Toulouse, faculté des sciences pharmaceutiques, France, 2014, p 10.
- [6]. G.Dutau, F. Rancé, S. Fejji, A. Juchet, F. Brémont, P.Nouilhan, Intolérance aux additifs alimentaires chez l'enfant : mythe ou réalité. Rev FR Allergol, 1996 ;36 ; 129-42.
- [7]. Touraine, M. Ministère des affaires sociales, de la santé et des droits des femmes.2013. disponible sur « médicaments. Gouv.fr », 2013
- [8]. Pharmacopée Européenne ; sixième édition ; tome 1 ,01-2008
- [9]. Académie national de pharmacie, Rapport, « Médicament générique », p 25, 2012
- [10]. Wangani, l'étalonnage, outil d'amélioration des performances dans les organisations publiques, Paris, Juin 2010.
- [11] : <https://drugs.ncats.io/drug/A355C835XC> ; consulté le: 04.04.2019
- [12] : [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Metronidazole\\_benzoate](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Metronidazole_benzoate); consulté le: 04.04.2019
- [13] : <https://fr.wikipedia.org/wiki/M%C3%A9tronidazole>; consulté le: 04.04.2019
- [14] : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Propylparaben>; consulté le: 30.04.2019
- [15] : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methylparaben>; consulté le: 30.04.2019



[16] : [https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB0184566.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB0184566.htm);

Consulté le: 30.04.2019

[17] : WWW.sante.dz/lncpp/lncpp-formation/stabilite.pdf

[18]: Présentation "CONCEPTION DES ETUDES DE STABILITE DES  
..slideplayer.fr/slide/1206458

[19]: ETUDES DE STABILITE SELON LA NORME ICH. [www.qualtech-groupe.com/wp.../06/Cahier-de-paillasse\\_étude-de-stab-FR-2015.pdf](http://www.qualtech-groupe.com/wp.../06/Cahier-de-paillasse_étude-de-stab-FR-2015.pdf)

[20]: Mary Ann Gorko « Identification of Out-of-Trend Stability Results» Article, APRIL 2003

[21]: Máté Mihalovits, « Methods for Identifying Out-of-Trend Data in Analysis of Stability Measurements—Part I: Regression Control Chart», Article, 2017.