

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée

Mémoire

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master Professionnalisant
Filière : Sciences biologiques, Spécialité : Bioindustrie, Analyse et Contrôle

Par: BENZAHY MOHAMMED
KLAAY ZAKARIA MEHYEDDINE

Thème

Analyse physicochimique et microbiologique de Salbutamol

Jury d'évaluation:

President de jury:	Mr. HAMIDCHI Mohamed Abed El Hafid	Prof. UFM. Constantine 1.
Rapporteur :	Mr. DINAR Karim	Dr. UFM. Constantine 1.
Examineur :	Mme. AZZOUZ Sarah	Dr. UFM. Constantine 1.
Maître de stage :	Mme. MENDI Amal	Responsable de laboratoire Physicochimique SAIDAL

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2017-2018

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Nos vifs remerciements à monsieur **HAMIDCHI Mohamed Abed El Hafid** professeur à l'université **Mentouri Constantine 1** de l'honneur qu'il nous a fait d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous tenons à remercier avec plus grande gratitude madame **Azzouz Sarah** docteure à l'université **Mentouri Constantine 1** d'avoir accepté de se joindre à ce jury comme examinatrice.

Nous les remercions pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre mémoire en acceptant de participer au jury, d'avoir contribué par leurs nombreuses remarques et suggestions à améliorer la qualité de ce mémoire et à enrichir son contenu.

Nous remercions vivement toute l'équipe des analystes, de production et notre maître de stage, Mme **MENDI A, au sein de l'entreprise SAIDAL Constantine**, pour leur accueil, le temps passé ensemble et le partage de leur expertise au quotidien. Nous remercions en particulier Mme **BEGUIRET O**, qui nous a beaucoup aidés et pour son dévouement à notre égard.

Nous tenons à remercier notre encadreur Dr : **DINAR K**, ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseignés et qui par leurs compétences nous ont soutenus dans la poursuite de nos études.

Enfin, on remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Zakaria & Mohammed

Dédicace

À mon père, que je souhaitai être présent avec moi dans ce moment, qu'il a tant voulu y assister.

Que Le Tout-Puissant lui Accorde sa Sainte Miséricorde.

ZAKARIA

Dédicace

À mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

À toute ma famille et mes amis pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire, que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible.

Merci d'être toujours là pour moi.

MOHAMMED

Table des matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des schémas	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1

Première partie Étude Bibliographique

Chapitre I: Généralité sur le Salbutamol

Présentation de Salbutamol sirop 2mg/5ml	3
1. Introduction	3
2. Présentation du Salbutamol	3
3. Synthèse et mécanisme réactionnel de Salbutamol	4
4. Aspect physicochimique du Salbutamol	5
4.1. Propriétés du Salbutamol.....	5
4.2. Paramètres physicochimiques	5
4.2.1. Solubilité et perméabilité du Salbutamol en fonction du pH.....	6
5. Composition du Salbutamol SAIDAL.....	7
5.1. Présentation du principe actif	8
5.2. Les excipients	9
5.2.1. Saccharose (Sucre fine)	9
5.2.2. Le méthyle parabène	10
5.2.3. Éthyle parabène	11
5.2.4. Acide citrique monohydrate	11
5.2.5. Rouge Azorubine.....	12
5.2.6. L'éthanol 96% (Adjuvant).....	12
5.2.7. Essence de cerise (Aromes).....	13
6. Pharmacologie du Salbutamol.....	13
7. Métabolisme	16
8. Les voies d'administration du Salbutamol	16
9. Aspect pharmacocinétique selon les voies d'administration du Salbutamol.....	17

9.1. La voie inhalée	17
9.2. Les voies injectables (intraveineuse, sous-cutanée, intramusculaire)	18
9.3. Les voies d'absorption par la muqueuse gastro-intestinale et la muqueuse rectale.....	18
9.4. La voie orale.....	19

Chapitre II: Les techniques de contrôle de qualité Physico-chimique et Microbiologique

Les techniques de contrôle de qualité Physico-chimique et Microbiologique	20
1. Techniques de contrôle de qualité physico-chimique	20
2. Les essais du contrôle de qualité de produit fini.....	20
2.1. Propriété organoleptique.....	20
2.2. Identification par HPLC.....	21
2.3. Identification par spectrophotométrie UV-Visible	22
2.4. Mesure de PH	23
2.5. La densité	23
3. Techniques de contrôle qualité microbiologique.....	24
3.1. Les méthodes de dénombrement de germes recommandées par la Pharmacopée Européenne	24
3.2. Solutions et milieux de culture recommandés.....	25
3.3. Recherche des germes spécifiés.....	25

Deuxième Partie Étude pratique

Méthode et Matériel	26
1. Description de SAIDAL.....	26
2. Processus d'élaboration du SALBUTAMOL.....	27
2.1. Les étapes de fabrication	27
2.1.1. La pesée.....	27
2.1.2. Élément à contrôler.....	27
2.2. Formulation	28
2.2.1. Contrôle en cours de production du Salbutamol	29
2.3. Filtration	30

2.4. Conditionnement	30
2.4.1. Conditionnement primaire	30
2.4.2. Conditionnement secondaire	30
Contrôle de qualité Salbutamol SAIDAL	31
1. Contrôle du produit fini	31
1.1. Contrôle de qualité physicochimique du Salbutamol SAIDAL	31
1.1.1.1. Caractère organoleptique	32
1.1.2. Les essais :	32
1.1.2.1 Mesure pH :	32
1.1.2.2 Densité :	33
1.1.2.3 Volume moyen	33
1.1.2.4 Degré alcoolique	33
1.1.3. Dosage	33
1.1.3.1. Dosage des conservateurs par UV-Vis	33
1.1.3.2. Dosage de principe actif par HPLC	35
1.1.4. Analyse par spectrophotomètre infrarouge	37
1.1.4.1. Origine de l'absorption lumineuse dans l'infrarouge	39
1.2. Contrôle de qualité microbiologique du Salbutamol SAIDAL	40
1.2.1. Solution et milieu de culture	40
1.2.2. Préparation de l'échantillon	41
1.2.3. Examen de l'échantillon	41
1.2.4. Recherche d' <i>Escherichia Coli</i>	42
1.2.5. Spécification	43

Troisième Partie Résultat & discussion

Contrôle de qualité du Salbutamol SAIDAL	44
1. Contrôle en cours de production	44
2. Contrôle du produit fini de Salbutamol sirop (2mg /5ml)	44
2.1. Contrôle les caractères organoleptiques	44
2.2. Les essais de contrôle	45
2.2.1. Mesure de PH	45
2.2.2. Densité	45
2.2.3. Volume moyen	45
2.2.4. Degré alcoolique	46

2.2.5.	Dosage	48
2.2.5.1.	Dosage des conservateurs.....	48
2.2.5.2.	Dosage du principe actif	49
2.2.6.	Identification	52
2.2.6.1.	Identification du principe actif par spectroscopie IR.....	52
2.2.6.2.	Identification des conservateurs par UV	54
3.	Contrôle de qualité microbiologique du Salbutamol SAIDAL.....	55
	Conclusion	56
	Résumé	57
	Références Bibliographiques.....	58

List des tableaux

Tableau 01. Identité et paramètres du Salbutamol.-----	5
Tableau 02. Les propriétés physicochimiques de Salbutamol prédites par ChemOffice. -----	6
Tableau 03. Rôles des compositions du Salbutamol SAIDAL. -----	8
Tableau 04. Indication du Salbutamol selon la voie d'administration.-----	16
Tableau 05. Le mode gradient des conditions d'utilisation de HPLC.-----	36
Tableau 06. Séquence d'échantillonnage. -----	37
Tableau 07. Résultats des analyses physicochimiques pratiquées en cour de production. -----	44
Tableau 08. Caractères organoleptiques du sirop (Salbutamol). -----	45
Tableau 09. Les volumes mesurés pour chaque flacon.-----	46
Tableau 10. Représentation des résultats qui nous a permet de calculer la densité. -	47
Tableau 11. Partie de la table alcoométrique de l'organisation internationale de métrologie selon les résultats.-----	47
Tableau 12. Dosage des conservateurs par UV/Vis. -----	48
Tableau 13. Détermination des TR moyen et des surfaces moyennes pour l'essai et le standard. -----	51
Tableau 14. Interprétation du spectre IR du Salbutamol Sulfate. -----	53
Tableau 15. Les résultats du lot suivie S020318.-----	55

List des figures

Figure 01. Structure chimique détaillée du Salbutamol. -----	3
Figure 02. Structure chimique des deux Énantiomère du Salbutamol. -----	4
Figure 03. Structure de Salbutamol Sulfate. -----	9
Figure 04. Structure chimique de saccharose. -----	10
Figure 05. Structure chimique de méthyle parabène. -----	10
Figure 06. Structure chimique de méthyle parabène. -----	11
Figure 07. Structure chimique de l'acide citrique monohydrate. -----	11
Figure 08. Structure chimique de rouge Azorubine. -----	12
Figure 12. Spectromètre infrarouge type Palmer. -----	38
Figure 13. Interprétation « mécanique » de l'interaction d'une onde lumineuse avec une liaison polarisée ^[18] . -----	39
Figure 14. Chromatogrammes De la solution standard. -----	50
Figure 15. Chromatogrammes De Salbutamol sulfate. -----	50
Figure 16. Spectre IR du Salbutamol Sulfate Standard et Sirop. -----	53
Figure 17. Spectre UV-Visible des conservateurs. -----	54

List des schémas

- Schéma 01.** Mécanisme réactionnel de Salbutamol. _____ 4
- Schéma 02.** Représentation du micro-ionisation du Salbutamol. _____ 7
- Schéma 03.** Mécanisme d'action des agonistes adrénergiques β 2-selectifs ^[22]. ____ 15

Liste des abréviations

AMPc :	Adénosine Monophosphate Cyclique.
BPF :	Bonne Pratique De Fabrication.
DCI :	Dénomination commune internationale.
E218 :	Méthyle hydroxy benzoate.
HPLC:	High Performance Liquid Chromatography.
IR:	Infra Rouge.
IUPAC:	International Union of Pure and Applied Chemistry.
PA :	Principe Actif.
pH :	Potentiel d'Hydrogène.
PST :	Phénolsulfotransférase.
T :	Température.
UV/Vis :	Ultraviolet /Visible.

Introduction

Introduction générale

L'industrie pharmaceutique est le secteur économique stratégique qui regroupe les activités de recherche, de fabrication et de commercialisation des médicaments pour la médecine humaine ou vétérinaire. C'est une des industries les plus rentables et importantes économiquement dans le monde. Cette activité est exercée par les laboratoires pharmaceutiques et les sociétés de biotechnologie et reste un secteur clé et un important moteur de croissance de l'économie mondiale.

L'industrie pharmaceutique algérienne est en pole position pour aller à l'exportation, puisqu'il existe actuellement 80 unités de production et 150 projets de nouvelles unités, ce qui est considérable. C'est l'un des secteurs qui se développe le mieux en Algérie, la conformité de la production aux normes internationales de qualité, et notamment les BPF (Bonnes Pratiques de Fabrication) avec un niveau de performance et de savoir-faire reconnu par l'Organisation Mondiale de la Santé, lui permettent d'aller rapidement vers l'exportation, surtout vers le continent africain.

Vu la grande importance qu'occupe le marché pharmaceutique dans le secteur industriel, nous avons choisi d'effectuer notre stage de fin d'étude au sein de la société SAIDAL contribuant à la production de diverses formes médicamenteuses, afin d'obtenir le diplôme de master en Bioindustrie Analyse et Contrôle.

L'objectif du stage était d'acquérir des connaissances pratiques ainsi qu'une connaissance approfondie du secteur d'activité de l'entreprise d'accueil sans oublier bien entendu de développer nos compétences. Durant la période du stage, de nombreuses tâches nous ont été confiées, la plus importante était de faire le contrôle physico-chimiques et microbiologiques du Salbutamol 2mg/5ml sirop pour déterminer sa conformité avec les normes en vigueur et donc sa qualité.

Dans la première partie, divisée en deux chapitres nous présentons dans le premier la bibliographie du médicament analysé et contrôlé (Salbutamol sirop), et le deuxième est consacré aux différentes méthodes d'analyses utilisées dans l'industrie pharmaceutiques.

Ensuite, dans la seconde partie qui est l'étude expérimentale nous présentons la société SAIDAL, le processus de fabrication, la méthodologie et l'instrumentation utilisée pour effectuer les analyses physicochimiques et microbiologiques du Salbutamol contrôlés le long de notre stage

Dans la troisième partie nous aborderons les résultats obtenus avec leur discussion.

Chapitre I

Généralité sur le Salbutamol

Présentation de Salbutamol sirop 2mg/5ml

1. Introduction

Le Salbutamol est un médicament constitué d'un principe actif, qui présente une Activité thérapeutique, et des excipients inactif du point de vue thérapeutique. L'excipient facilite l'absorption du principe actif et permet la mise en forme du médicament. La quantité d'excipient est liée à celle du principe actif et la forme galénique est une préparation prête à l'emploi sous laquelle se présente un médicament : gélule, comprimé, sirop, etc.... La préparation aqueuse (sirop) de sulfate de Salbutamol pour administration orale contient 2 mg de Salbutamol sous forme de sulfate de Salbutamol dans chaque cuillerée à thé (5 ml) [36].

2. Présentation du Salbutamol

Le Salbutamol est une dérivée synthétique de la noradrénaline appartenant à la famille des agonistes adrénergiques β 2-selectifs à courte durée d'action de 4 à 6h [6]. Le nom Salbutamol provient de l'assemblage des différentes fonctions que présente sa structure (**Figure 01**).

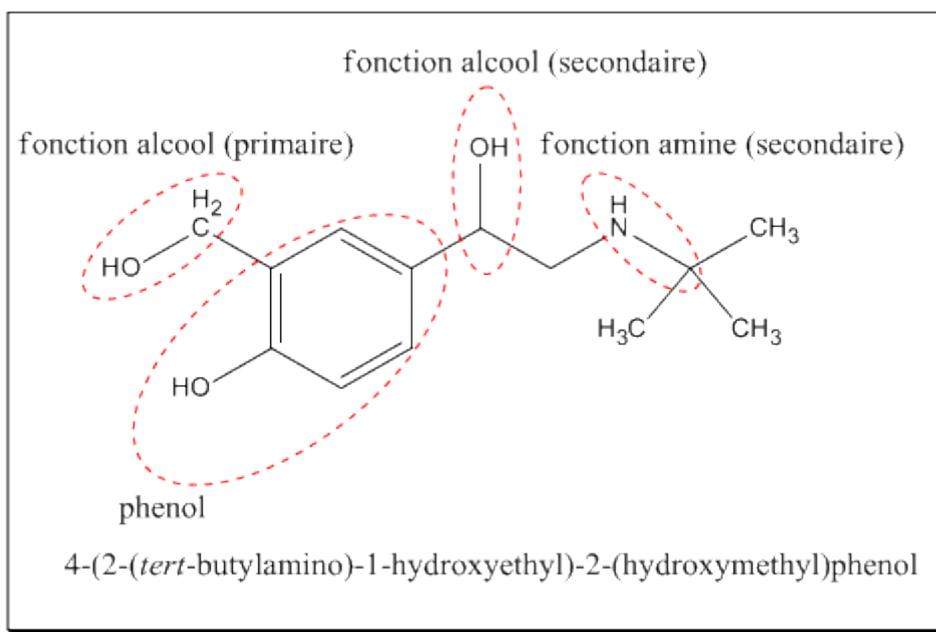


Figure 01. Structure chimique détaillée du Salbutamol.

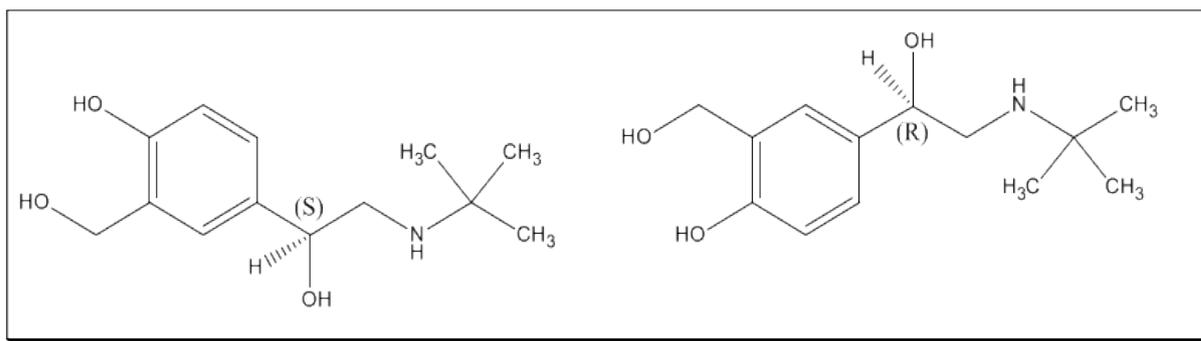


Figure 02. Structure chimique des deux Énantiomère du Salbutamol.

3. Synthèse et mécanisme réactionnel de Salbutamol

Parmi les méthodes de synthèse et mécanismes réactionnels suivis pour obtenir la molécule de Salbutamol, elle peut être synthétisée à partir de l'aspirine (Schéma 01) [22].

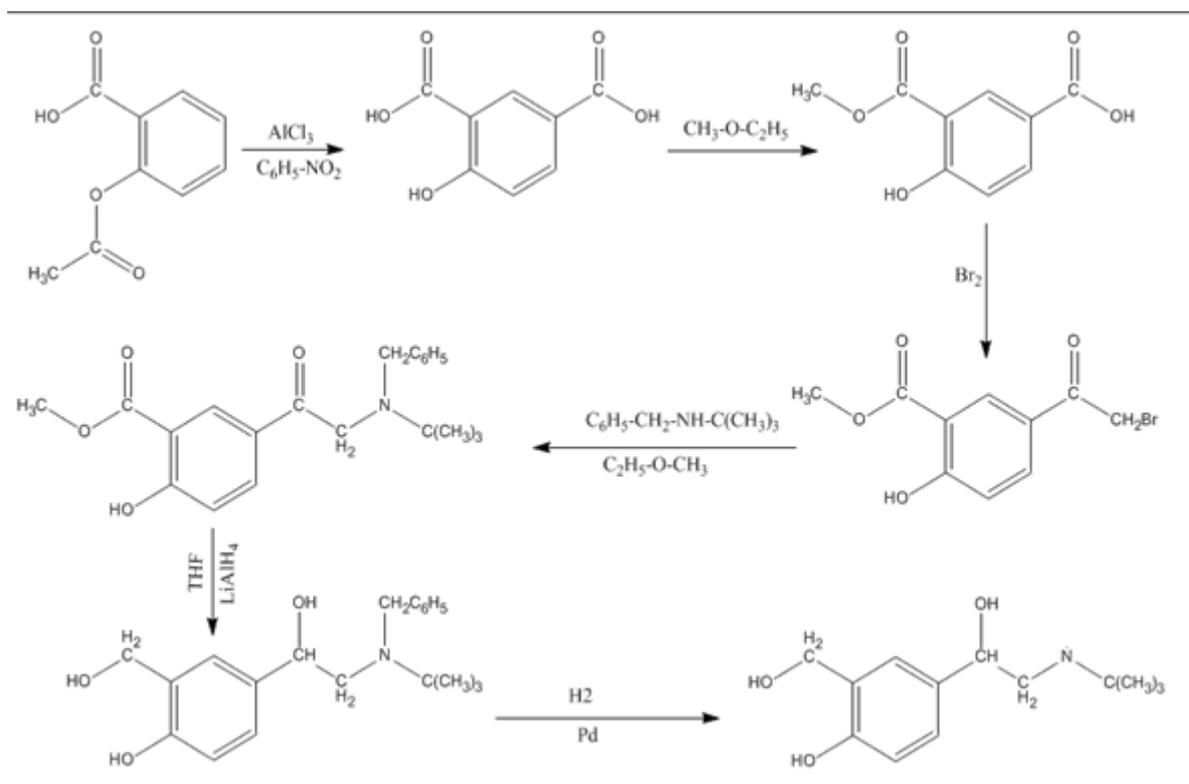


Schéma 01. Mécanisme réactionnel de Salbutamol.

4. Aspect physicochimique du Salbutamol

4.1. Propriétés du Salbutamol

La molécule de Salbutamol est polaire due au fait qu'elle possède divers éléments très électronégatifs (O et N), de plus, ces éléments participent à la formation de ponts hydrogène [8].

4.2. Paramètres physicochimiques

Dans la monographie de la **Pharmacopée Européenne et le Manuel Marck**, les propriétés physicochimiques du Salbutamol sous forme de sulfate sont décrites et résumées dans le **Tableau 01**[46].

Tableau 01. Identité et paramètres du Salbutamol.

Nom IUPAC : (RS)-4-[2-(tert-butylamino) -1- hydroxyethyl] -2-(hydroxy méthyl) phénol		Noms commerciaux : Salbutamol, Albutrol, Ventoline (s'il s'agit du sulfate de Salbutamol)		
Formule brute : C₁₃H₂₁O₃N		Masse molaire : 239,3107 ± 0,013 g/mol		
		C 65,25 %, H 8,84 %, N 5,85 %, O 20,06 %,		
Métabolisme	Demi-vie	Excrétion	Forme de présentation	Condition de conservation
Hépatique	2,5 à 5 h	Urinaire	Sirop (flacon 150ml)	Le flacon doit être conservé dans l'emballage extérieur, à l'abri de la lumière, T > 25°C

Classe thérapeutique	Voie d'administration	Précautions :
Bronchodilatateur	Orale, IV, inhalatoire	Tachycardisant

Tableau 02 : Présente quelques propriétés physico-chimiques de Salbutamol que nous avons prédit en utilisant un logiciel de la chimie computationnelle appelé ChemBioOffice ^[16].

Tableau 02. Les propriétés physicochimiques de Salbutamol prédites par ChemOffice.

<i>Formule chimique</i>	<i>Analyse élémentaire</i>	<i>Température de fusion</i>	<i>Température d'ébullition</i>	<i>Energie de formation</i>
$C_{13}H_{21}NO_3$	C:65,25% H:8,84% N:5,85% O :20,06%	584,15 K	840,18 K	-528,92 KJ/mol

4.2.1. Solubilité et perméabilité du Salbutamol en fonction du pH

Le Salbutamol est une molécule amphotère qui possède deux pK_a : 9,2 et 10,2. Son schéma d'ionisation est montré dans le **Schéma 02**^[12].

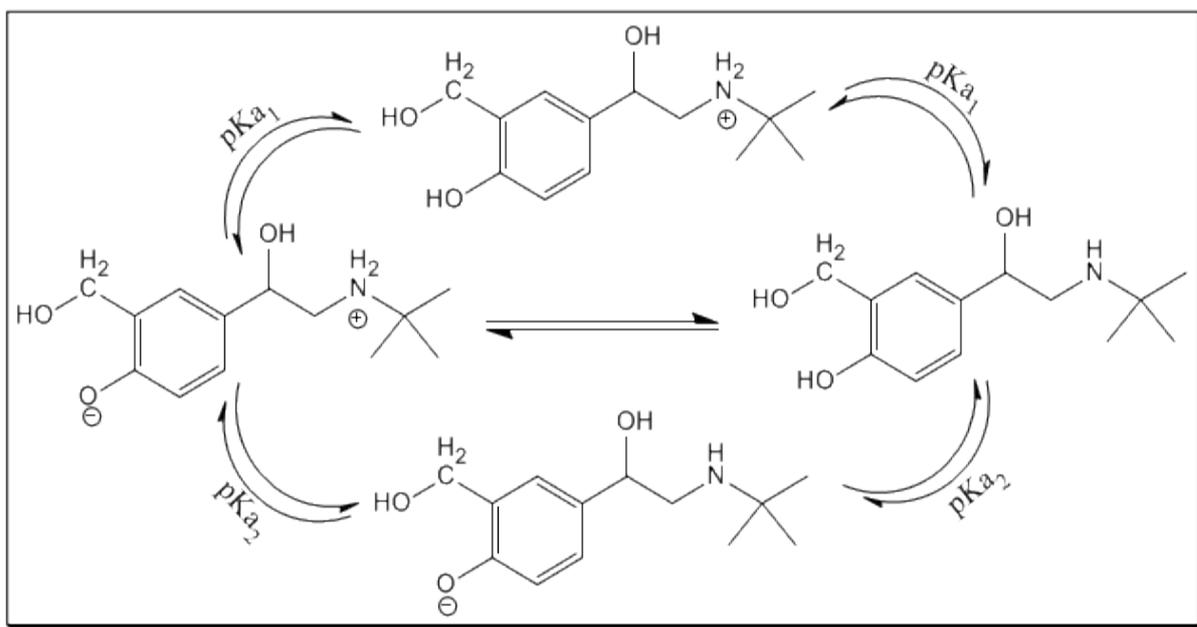


Schéma 02. Représentation de la micro-ionisation du Salbutamol.

La solubilité et la perméabilité du Salbutamol à travers une membrane de polypropylène ont été évaluées [25]. La solubilité du Salbutamol diminue lorsque la valeur du pH augmente. Ainsi, à pH 3, le Salbutamol présente une meilleure solubilité à 263,5 mg/ml. En revanche, l'abaissement du pH favorisant l'ionisation sous forme protonée qui pourrait être associée à une moindre perméabilité du Salbutamol [31].

5. Composition du Salbutamol SAIDAL

Un médicament se compose essentiellement d'un ou plusieurs principes actifs en synergie et d'excipients, l'ensemble étant contenu dans un flacon ou capsules [28].

Tableau 03. Rôles des composants du Salbutamol SAIDAL.

<i>Composant</i>	<i>Rôle</i>	<i>Forme</i>
<i>Salbutamol sulfate</i>	Principe actif	Poudre blanche
<i>Méthyle parabène (nipagine)</i>	Réglé la densité	Poudre blanche
<i>Ethyle parabène</i>	Conservateur	Poudre blanche
<i>Sucre fine (saccharose)</i>	Conservateur	Poudre blanche
<i>Ethanol 96%</i>	Solubilisent	Liquide
<i>Acide citrique monohydrate</i>	Régulateur de ph	Liquide
<i>Essence de cerise</i>	Aromatisant	Liquide
<i>Rouge azorubin</i>	Colorant	Poudre rouge foncé

5.1. Présentation du principe actif

- Caractère

Le sulfate de Salbutamol est une poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche facilement soluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool et dans l'éther et très peu soluble dans le chlorure de méthylène ^[36].

Le Salbutamol (DCI) est un agoniste des récepteurs β_2 -adréergique ; donc bronchodilatateur à courte durée d'action utilisé dans le soulagement des bronchospasmes dans des états tels que l'asthme et les broncho-pneumopathies chronique obstructives ^[11]. Le sulfate de Salbutamol (**Figure 03**) est en général administré sous forme d'inhalation pour obtenir un effet direct sur les muscles lisses des bronches. Pour cela, il peut être administré sous forme de solution à l'aide d'un nébuliseur, ou d'un aérosol-doseur (dispositif Autohaler, etc.) auquel il est possible de connecter également un Aéro chambre, mais aussi sous forme de poudre via différents dispositifs d'inhalation ^[29].

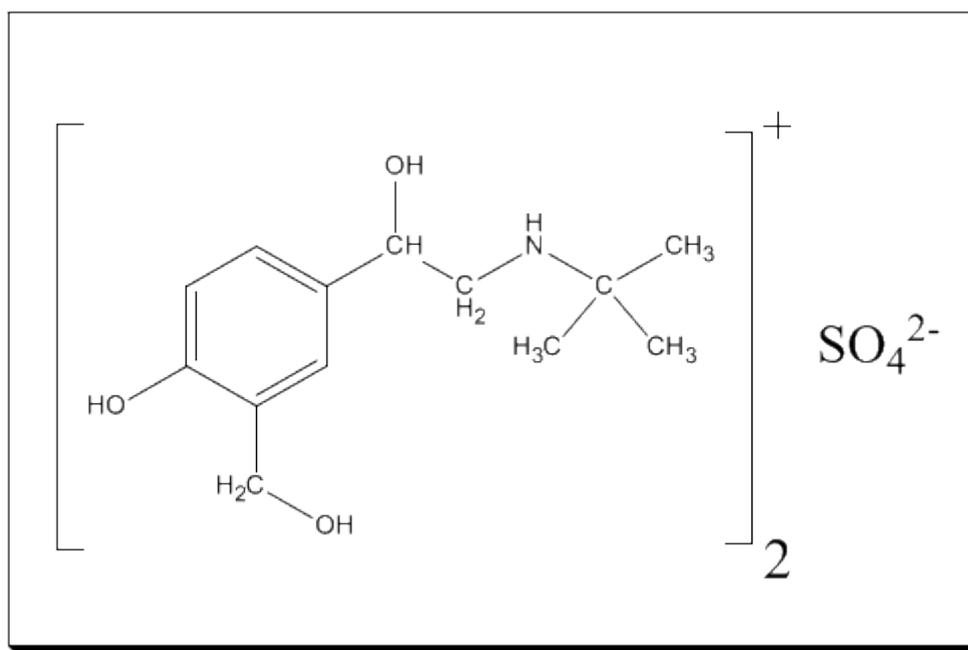


Figure 03.Structure de Salbutamol Sulfate.

5.2. Les excipients

Dans un médicament les excipients sont des espèces chimiques qui n'ont pas d'effets thérapeutiques propres, ils sont donc inertes. Par conséquent, en dehors du ou des principes actifs, toutes les espèces chimiques d'un médicament sont des excipients ^[10]. Le sulfate de Salbutamol est composé de plusieurs excipients :

5.2.1. Saccharose (Sucre fine)

Le saccharose est un glucide composé d'une molécule de glucose associé à une autre molécule de fructose (**Figure 04**), cette molécule est très utilisée comme excipient pour les médicaments et notamment de forme sirop ^[13].

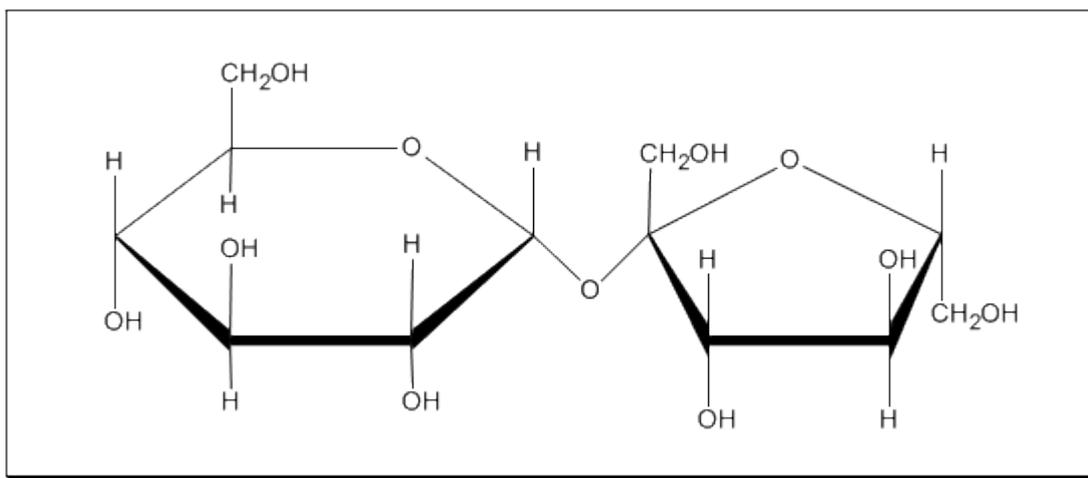


Figure 04. Structure chimique de saccharose.

5.2.2. Le méthyle parabène

Le 4-hydroxybenzoate de méthyle ou méthyl parabène (E218) est un conservateur de la famille des parabènes. Il est utilisé dans les cosmétiques, les médicaments et les aliments, pour ses propriétés antibactériennes et antifongiques (**Figure 05**) [3].

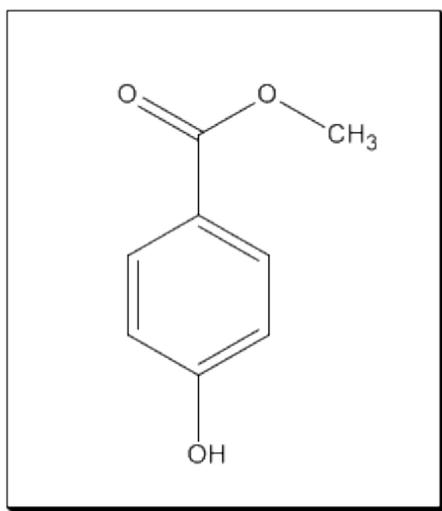


Figure 05. Structure chimique de méthyle parabène.

5.2.3. Éthyle parabène

L'éthyle de parabène appelé aussi 4-hydroxybenzoate d'éthyle appartient à la même famille de méthyle de parabène et aux mêmes usages dans l'industrie (**Figure 06**) ^[19].

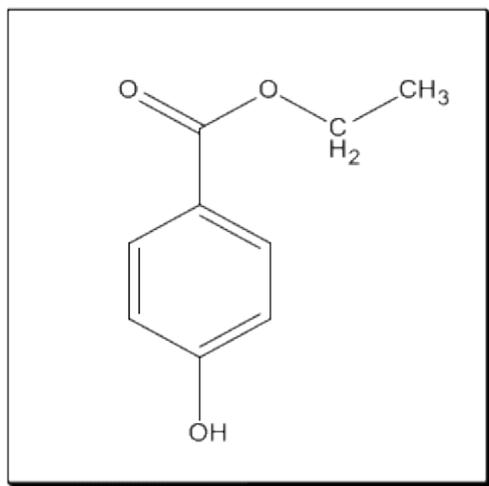


Figure 06. Structure chimique de méthyle parabène.

5.2.4. Acide citrique monohydrate

L'acide citrique (ou citrate) est une molécule biologique dont le nom provient du citron, dans lequel il est très abondant (95% de l'acidité du fruit). Il est très utilisé dans l'industrie agroalimentaire comme additif alimentaire ^[33].

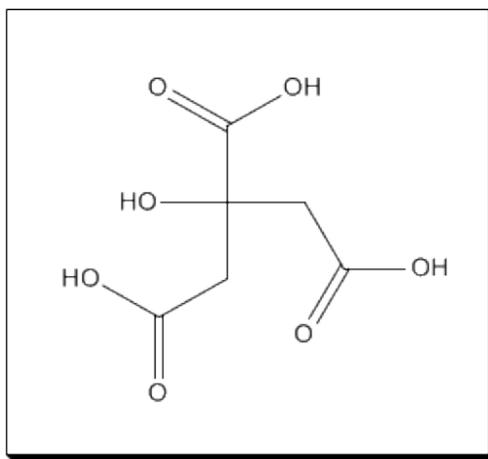


Figure 07. Structure chimique de l'acide citrique monohydrate.

5.2.5. Rouge Azorubine

L'Azorubine ou carmoisine (E122) est un colorant pétrochimique artificiel dit azoïque et dérivé du naphthalène. Sa teinte est nuancée du rouge au châtain. Les colorants azoïques sont d'autant plus répandus qu'ils sont bon marché, faciles à produire et à incorporer dans les textiles, l'alimentation transformée, les pharmaceutiques, et les cosmétiques. Plus rarement, un potentiel allergène, urticaire, asthme, divers troubles gastro-intestinaux [38].

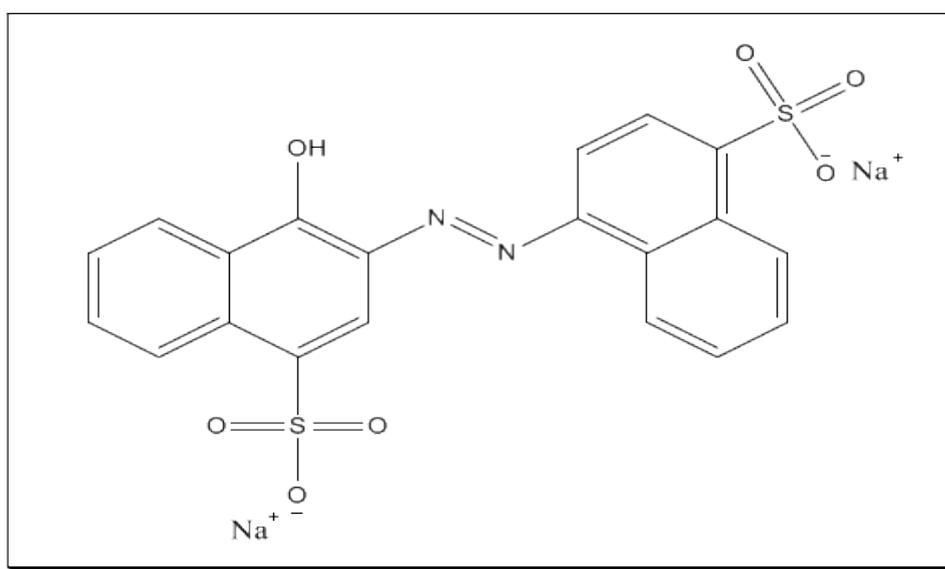


Figure 08. Structure chimique de rouge Azorubine.

5.2.6. L'éthanol 96% (Adjuvant)

L'éthanol, ou alcool éthylique, est un alcool de formule semi-développée $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$. C'est un liquide incolore, volatil, inflammable et miscible à l'eau en toutes proportions. C'est un psychotrope, et l'une des plus anciennes drogues récréatives, sous la forme de boisson alcoolisée. L'éthanol est utilisé par l'industrie agroalimentaire (pour la production de spiritueux notamment), la parfumerie et la pharmacie galénique (comme solvant) ainsi qu'en biocarburant (bioéthanol) [21].

5.2.7. Essence de cerise (Aromes)

Sont des substances destinées à être introduites dans certains médicaments pour masquer ou en améliorer la saveur ou l'odeur.

C'est un arôme artificiel de cerise, à des caractères organoleptiques : liquide limpide ou presque limpide viscosité moyenne et de goût doux ^[36].

6. Pharmacologie du Salbutamol

Le mécanisme d'action de l'agoniste adrénergique β_2 -sélectifs (**Schéma 03**) repose sur le fait que la stimulation des récepteurs β_2 adrénergiques présents dans la musculature lisse des voies respiratoires induit une relaxation de cette dernière. Le relâchement de la musculature lisse des voies respiratoires, ou bronchodilatation, est engendré par l'activation de l'adénylate cyclase via une protéine G activatrice (Gs). L'activation de cette enzyme membranaire va provoquer l'augmentation de la concentration intracellulaire d'AMPc. L'augmentation d'AMPc va inactiver par phosphorylation la myosine kinase, rendant ainsi impossible la phosphorylation de la myosine et par conséquent, la contraction musculaire. En plus de leur effet bronchodilatateur, des molécules tel que le Salbutamol présente un effet broncho-protecteur en diminuant la libération de médiateurs de l'inflammation et en augmentant la clairance mucociliaire. La mise en place de la réponse thérapeutique (bronchodilatation) a lieu environ cinq minutes après l'inhalation de la dose requise ^[23]. Comme pour la majorité des β -sympathomimétiques, l'action thérapeutique est principalement liée à l'énantiomère (-) R. Néanmoins, la forme commerciale la plus répandue du Salbutamol consiste en un mélange racémique (1 :1) des deux énantiomères. L'absence de l'énantiomère (+) S permet de diminuer l'apport de substance exogène dans l'organisme ainsi que les effets indésirables liés au d'isomère. Il a été démontré au cours d'un essai prospectif randomisé, qu'il n'existe pas de différence significative du point de vue efficacité et sécurité entre les deux

traitements. De plus, ils ont montré que la balance coût/bénéfice est largement plus favorable au mélange racémique ^[5].

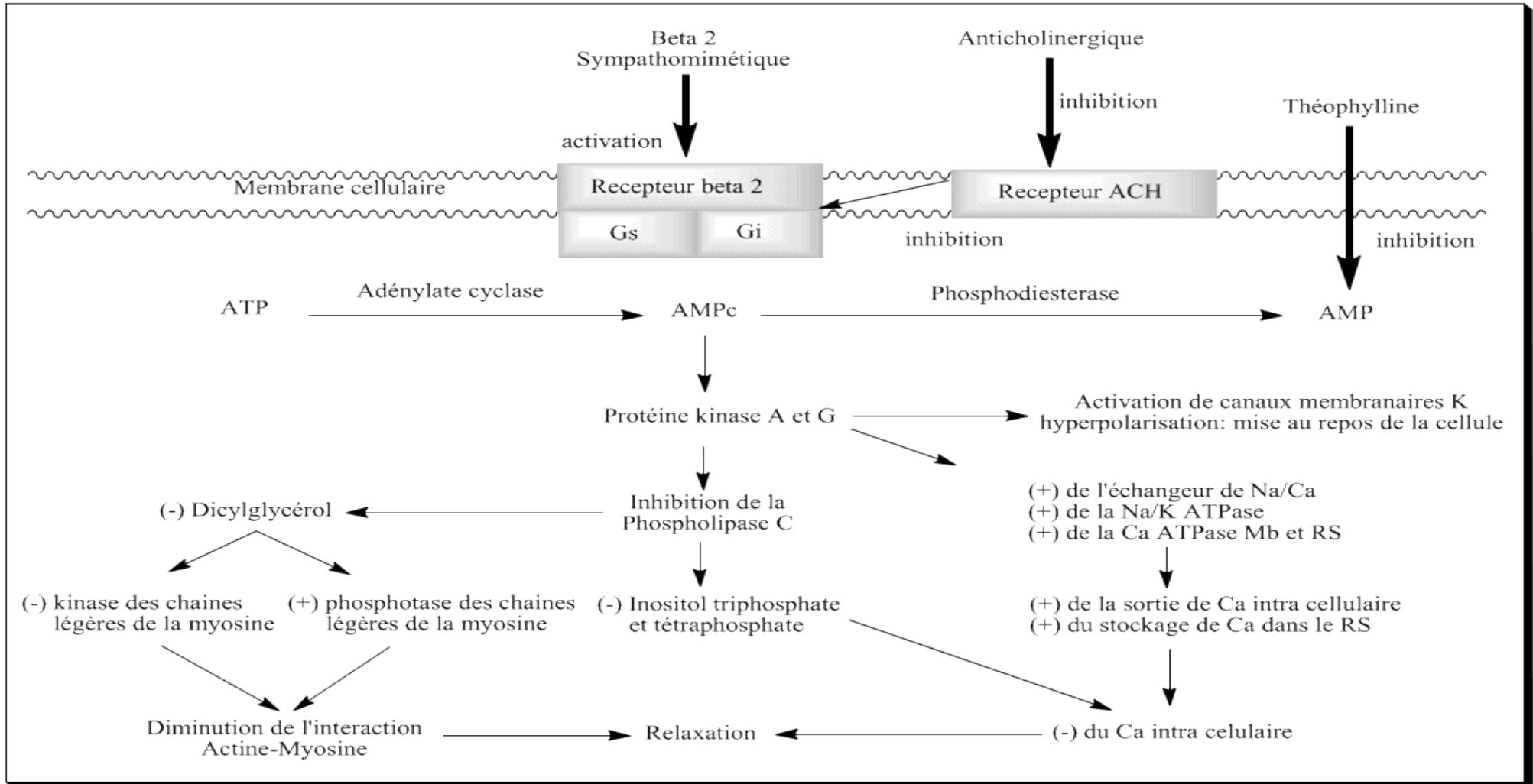


Schéma 04. Mécanisme d'action des agonistes adrénergiques $\beta 2$ -selectifs [23].

Chapitre II. Les technique de contrôle qualité

7. Métabolisme

Le métabolisme du Salbutamol est du type hépatique et son élimination est prise en charge par le rein 69 à 90% (60% en tant que métabolite), 4% par voie Fécal, Hydrolysé par les estérases dans le tissu et le sang pour le composé actif Salbutamol. Le médicament est également métabolisé par conjugaison en Salbutamol 4'-O-sulfate [26].

Métabolisé par sulfoconjugaison en son ester 4'-O-sulfate inactif par le phénol-sulfotransférase (PST). L'énantiomère (R) du Salbutamol est préférentiellement métabolisé (dix fois) par la PST par rapport à l'énantiomère (S) de Salbutamol [30].

8. Les voies d'administration du Salbutamol

Le **Tableau 04** regroupe les différentes indications thérapeutiques du Salbutamol en fonction de la voie d'administration choisie [45].

Tableau 04. Indication du Salbutamol selon la voie d'administration.

<i>Voie d'administration</i>	<i>Indication thérapeutique</i>
<i>Aérosol</i>	<ul style="list-style-type: none">- Traitement et prévention des bronchospasmes dans l'asthme bronchique et la bronchite chronique avec ou sans emphysème pulmonaire- Traitement du bronchospasme aigu et prévention de l'asthme d'effort- Traitement d'entretien de l'asthme chronique et de la bronchite chronique

<i>Orale</i>	- Traitement et prévention des bronchospasmes dans l'asthme bronchique (asthme d'effort inclus) et la bronchite chronique
<i>Intraveineuse</i>	- Traitement des bronchospasmes graves liés à l'asthme ou à la bronchite - Traitement de l'état de mal asthmatique - Traitement des menaces d'accouchement prématuré non compliqué pendant le dernier trimestre de la grossesse (tocolytique)

9. Aspect pharmacocinétique selon les voies d'administration du Salbutamol

9.1. La voie inhalée

Permet d'obtenir un effet clinique rapide (en quelques minutes) se maintenant pendant plusieurs heures après la fin de l'administration. Après inhalation des doses de Salbutamol recommandées, les concentrations plasmatiques du médicament sont très faibles.

La diffusion de Salbutamol au travers de la membrane alvéolo-capillaire est lente et le passage systémique persiste après la fin de la nébulisation. Après nébulisation du Salbutamol pendant 10 à 15 minutes, les taux plasmatiques augmentent régulièrement à partir de la 15ème minute pour atteindre une valeur maximale à la 45ème minute puis un plateau se maintient à un niveau légèrement inférieur pendant près de 2 heures ^[27].

Une proportion d'environ 10% de la dose de Salbutamol inhalée se trouve dans les poumons. Environ 85% du Salbutamol administré par aérosol-doseur ou nébuliseur est déglutit vers le tractus digestif. Cependant, en raison des faibles

posologies administrées (de 100 à 200 µg), les quantités totales avalées restent négligeables pour introduire un quelconque effet ^[46]. La fraction déposée au niveau des voies respiratoires est absorbée dans le tissu pulmonaire et la circulation, mais elle n'est pas métabolisée au niveau des poumons. Une fois arrivée au niveau de la circulation systémique, elle subit un métabolisme hépatique puis est excrétée, principalement dans l'urine.

9.2. Les voies injectables (intraveineuse, sous-cutanée, intramusculaire)

Sont utilisées en cas d'impossibilité ou d'échec de la voie inhalée. L'administration intraveineuse directe du Salbutamol provoque un pic plasmatique immédiat (~ 10 min) suivi d'une baisse progressive ^[27]. La demi-vie plasmatique après administration intraveineuse à des volontaires sains est d'environ 4 heures et la liaison aux protéines sériques (à 50 mg/ml) est de 8% ^[46]. La biodisponibilité après injection intramusculaire et sous-cutanée est identique à celle obtenue lors de l'administration intraveineuse. Approximativement 74% de la dose injectée est excrétée dans les urines de 24 heures, en partie sous forme inchangée (63%), en partie sous forme de métabolite (11%) ^[46].

9.3. Les voies d'absorption par la muqueuse gastro-intestinale et la muqueuse rectale

L'absorption par cette voie est bonne (supérieure ou égale à 90%). Il est considéré comme une molécule de classe 1 dans le système de classification biopharmaceutique ^[2]. Néanmoins, par voie orale, le Salbutamol subit une métabolisation pré-systémique importante notamment par un premier passage digestif ainsi qu'un premier passage hépatique, avec transformation en sulfate phénolique ^[32]. Le pic plasmatique se situe entre la 1re et la 3e heure après l'administration. La demi-vie varie de 3 à 5 heures.

9.4. La voie orale

Le comportement pharmacocinétique du Salbutamol par voie orale (inactivation partielle dans le tractus gastro-intestinal, effet de premier passage hépatique, courte durée d'action ...) a amené certaines équipes à entrevoir la voie trans-buccale comme une alternative envisageable. Celle-ci combine la facilité de l'administration de la voie orale avec certaines caractéristiques anatomiques plus favorables pour optimiser l'absorption du principe actif^[32].

Chapitre II

*Les techniques de contrôle de qualité
Physico-chimique et Microbiologique*

Les techniques de contrôle de qualité Physico-chimique et Microbiologique

Contrôle de qualité physico-chimique et microbiologique est une série des tests quantitatifs et qualitatifs auxquels doivent être soumises avant sa commercialisation tout produit terminé et produits intermédiaires et de matière première, suivant les techniques décrites dans le dossier d'autorisation de mise en marché par la pharmacopée afin de répondre aux normes prévues.

1. Techniques de contrôle de qualité physico-chimique

Le contrôle de qualité physico-chimique consiste à vérifier plusieurs paramètres comme :

- L'aspect de la solution et ses propriétés organoleptiques.
- Les normes d'acceptation du pH.
- L'absorbance par spectrophotométrie UV-Visible.

2. Les essais du contrôle de qualité de produit fini

2.1. Propriété organoleptique

Les caractéristiques d'une substance qui sont perceptibles par les organes des sens : saveur, odeur, aspect et consistance de l'objet. Ces caractéristiques se modifient graduellement au cours du temps dans la plupart des cas, par suite de phénomènes d'oxydation (rancissement des corps gras), par suite de l'évaporation de constituants volatils (perte de l'arôme de divers mets conservés par le froid), ou par suite de phénomènes de condensation ou de dislocation des molécules initiales ^[17].

Les propriétés organoleptiques d'un produit peuvent être définies comme l'ensemble de ses caractéristiques perçues et évaluées par les sens du consommateur ou par ceux d'un expert. Les propriétés organoleptiques d'un

produit jouent un rôle primordial dans sa perception avant usage ou consommation et dans son appréciation lorsqu'il est consommé ou utilisé.

Les principaux éléments contribuant à la qualité organoleptique sont :

- L'aspect visuel (forme, couleur, ...)
- La texture
- Le goût
- L'odeur
- Les arômes

Les propriétés organoleptiques peuvent être évaluées lors d'une analyse sensorielle et donner lieu à l'établissement d'un profil sensoriel ^[4].

Plus généralement, les qualités organoleptiques sont définies comme étant l'ensemble des propriétés mesurées par les différents sens de l'individu. Jaugées dans le cadre d'une analyse sensorielle, ces propriétés peuvent permettre de dégager un profil sensoriel ^[39].

2.2. Identification par HPLC

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

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

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

En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme ^[1].

2.3. Identification par spectrophotométrie UV-Visible

La spectrométrie d'absorption moléculaire dans le domaine ultraviolet (UV), de 185 à 380 nm environ, et visible (VIS), de 380 à 800 nm, est une technique courante de contrôle et d'analyse de composés chimiques.

Elle s'applique à des groupements d'atomes (ex : molécules, ions, polymères) qui absorbent le rayonnement électromagnétique dans le domaine UV-VIS, cette technique est basée sur la loi de Beer-Lambert.

- Loi de Lambert

La proportion de lumière incidente absorbée par un milieu transparent est indépendante de l'intensité de la lumière (pourvu qu'il n'y ait pas d'autres changements physiques ou chimiques dans le milieu).

Ainsi, des milieux successifs d'égale épaisseur transmettent une égale proportion de l'énergie incidente.

- Loi de Beer

L'absorption de la lumière est directement proportionnelle à la fois à la concentration du milieu absorbant et à l'épaisseur de la cuve où se trouve le milieu. Une combinaison de ces deux lois (la loi de Beer-Lambert) donne la relation entre l'absorbance (A) et la transmittance (T) :

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon.C.L$$

Avec :

A : absorbance (sans unité)

I_0 et I : intensité lumineuse incidente et transmise

ε : coefficient d'absorption molaire ou d'extinction (L. Mol⁻¹. Cm⁻¹)

C : concentration molaire (mol/L)

L : longueur de la cuve (cm) ou trajet lumineux

Il est important de noter que ϵ est une fonction de la longueur d'onde et donc que la loi de Beer-Lambert est seulement vraie en lumière monochromatique [18].

2.4. Mesure de PH

Le pH est en relation étroite avec la concentration des ions hydrogène (H^+) présent dans les boissons spiritueuses (les caractéristiques de pH des boissons spiritueuses sont fonction de divers paramètres, par exemple qualité de l'eau de réduction, durée de maturation en fûts, nature des matières premières aromatiques, des additifs éventuels). Du fait de la présence d'alcool éthylique dans les boissons spiritueuses, la mesure du pH doit être effectuée suivant des modalités spécifiques [9].

2.5. La densité

La densité d'une substance est égale à la masse volumique de la substance divisée par la masse volumique du corps de référence à la même température. Pour les liquides et les solides, l'eau est utilisée comme référence, pour les gaz, la mesure s'effectue par rapport à l'air. Elle est notée d et n'a pas d'unité (grandeur physique sans dimension).

$$d = \frac{\rho \text{ substance}}{\rho \text{ eau}}$$

La masse volumique de l'eau est mesurée à la température de 4°C, qui correspond à une température où sa masse volumique passe par un maximum. On indique cette température de référence en mettant 4 en indice. La notation devient alors d_4 . Pour des raisons pratiques, la mesure de la masse volumique de la substance s'effectue à la température ambiante et généralement à 20°C. Il est donc usuel de noter la densité d'un solide ou d'un liquide en indiquant les 2 températures :

d_{4}^{20} qui signifie donc « densité de la substance à 20°C par rapport à de l'eau à 4°C »

- Mesure de la densité des liquides

La technique de mesure varie suivant la précision de mesure recherchée. Les mesures de routine s'effectuent le plus souvent avec un densimètre standard en verre lesté au plomb. Le densimètre est plongé dans le liquide préalablement placé dans une éprouvette. L'enfoncement dans le fluide varie en fonction de sa densité dont la valeur est obtenue directement grâce à une échelle graduée. Des étalons de densité permettent de vérifier l'étalonnage du densimètre.

Pour une mesure plus précise, on utilise un pycnomètre. Ce petit récipient dont la forme rappelle celle de la fiole, est caractérisé par un volume très précis. La détermination de la densité s'effectue par pesée. Il est impératif de conserver le même pycnomètre pour mesurer la masse d'eau et la masse de substance. Il est également préférable de dégazer les solutions en plaçant le pycnomètre dans une enceinte sous-vide. Des densimètres automatiques sont également disponibles et permettent d'avoir des mesures de masse volumique précises à +/-0,001g/ml. Le liquide est placé dans un tube oscillant. La période de vibration est proportionnelle à la masse volumique du liquide. Le récipient servant à la mesure de la densité des liquides s'appelle le « pycnomètre »^[40].

3. Techniques de contrôle qualité microbiologique

3.1. Les méthodes de dénombrement de germes recommandées par la Pharmacopée Européenne

La Pharmacopée Européenne décrit plusieurs techniques de référence pour le dénombrement de germes : la filtration sur membrane, le dénombrement sur plaque et la méthode du nombre le plus probable. Le choix de la méthode doit se

faire en fonction de la nature du produit et de la limite microbienne spécifiée. Pour chaque analyse, il faut s'assurer que la méthode choisie est adaptée et que la prise s'essaie sur l'échantillon est suffisante pour permettre l'évaluation de la conformité aux spécifications ^[44].

3.2. Solutions et milieux de culture recommandés

La composition des solutions et des milieux de culture est parfois donnée à titre d'information ou de recommandation. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de montrer que leurs propriétés nutritives et sélectives sont satisfaisantes pour l'essai concerné. Cependant le choix est primordial dans la mesure où l'on peut, dans certains cas, aboutir à des résultats sensiblement différents. C'est pour cette raison que la réglementation de la Pharmacopée Européenne a été harmonisée avec celle des pharmacopées américaine et japonaise afin d'obtenir une cohérence mondiale dans les méthodes de test microbiologiques pour les produits non stériles ^[37].

3.3. Recherche des germes spécifiés

Dans certains cas, il est demandé de rechercher, en parallèle à la flore mésophile, des germes spécifiés, soit témoins d'un niveau de contamination, soit dont la présence est indésirable. Lors de cette recherche, il est nécessaire de revivifier les microorganismes dans la mesure où l'utilisation de milieux sélectifs employés n'autorise pas la mise en évidence de microorganismes ayant subi des lésions sub-létales. La Pharmacopée Européenne exige de vérifier l'absence d'*Escherichia Coli* dans les formes orales.

Les milieux utilisés pour l'étape de revivification ou de culture, tout comme les températures d'incubation préconisées sont primordiales dans cette recherche ^[14].

Deuxième Partie

Étude pratique

Méthode et Matériel

1. Description de SAIDAL

SAIDAL est une Société par actions, au capital de 2 500 000 000 dinars algériens. 80 % du capital du Groupe SAIDAL sont détenus par l'État et les 20 % restants ont été cédés en 1999 par le biais de la Bourse à des investisseurs institutionnels et à des personnes physiques. Organisé en Groupe industriel, SAIDAL a pour mission de développer, de produire et de commercialiser des produits pharmaceutiques à usage humain. Le Groupe SAIDAL a pour objectif stratégique de consolider sa position de leader dans la production de médicaments génériques et de contribuer, ce faisant, à la concrétisation de la politique nationale du médicament mise en œuvre par les pouvoirs publics.

La qualité d'entreprise publique confère à SAIDAL une double vocation :

- Assurer son autonomie financière et sa pérennité en sauvegardant ses équilibres financiers, en veillant à améliorer en permanence la compétitivité de ses produits, à réaliser ses objectifs de croissance et à développer ses ressources humaines.

- Réaliser les objectifs qui lui sont assignés par l'État, en sa qualité d'actionnaire principal.

Au titre de sa mission première, SAIDAL a défini les lignes d'actions devant lui permettre d'assurer sa croissance et de conforter sa position de leader dans la production de médicaments génériques.

Au premier rang de ces lignes d'action, figure un plan global et intégré de développement qui accompagne l'expansion du Groupe avec un programme d'actions centré sur la valorisation des ressources humaines, l'amélioration de l'organisation et du système d'information, la promotion de la culture d'entreprise et la mise en œuvre d'une politique efficace de communication :

- Promouvoir des règles éthiques tendant à la régulation et à l'assainissement du marché du médicament,
- Contribuer à la réduction des importations,
- S'ouvrir sur les marchés extérieurs,
- Accroître le degré de satisfaction des consommateurs ^[42].

2. Processus d'élaboration du SALBUTAMOL

Les étapes qui mènent de la matière première au produit fini sont effectuées dans un ordre strict, défini par un document unique, nommé « ticket de fabrication ». Ce dernier donne non seulement la recette de fabrication mais il est également la source d'information sur qui a effectué quelle opération à quel moment, permettant ainsi une traçabilité approfondie. Produire le médicament consiste à coordonner en amont et en aval plusieurs opérations distinctes qui encadrent au centre, l'étape de la formulation.

2.1. Les étapes de fabrication

2.1.1. La pesée

Une étape critique de la fabrication, elle se fait selon les indications de la pharmacopée avec les matériaux suivants :

- Des balances : max 150kg et min 310g.
- Des imprimantes donnent des étiquettes portant le poids de la matière pesée.

2.1.2. Élément à contrôler

Présence de l'étiquette acceptée après la pesée des matières premières du lot.

Présence du numéro de lot pesée (ticket de balance) est adéquate à la valeur théorique indiquée sur la feuille de pesée.

2.2. Formulation

- Préparer le mélange dans une cuve de 3000 litres

Verser dans la cuve quantité de l'eau déminéralisée jusqu'au niveau de l'agitateur

Mettre la quantité de Salbutamol sulfate

Laisser sous agitation pendant 10min

Mettre la quantité de saccharose (sucre)

- Préparation de la solution de parabène dans un conge

Dissoudre la quantité de méthyle parabène et d'éthyle parabène dans l'éthanol, puis mettre la quantité d'essence de cerise, agiter le mélange pendant 5min et l'Incorporer le mélange dans la cuve.

Rincer 3 fois par l'eau purifiée dans la cuve afin d'utiliser toute la quantité des constitutions.

- Préparation de l'acide citrique dans un conge

Mettre de l'eau déminéralisée pure et ajouter la quantité de l'acide citrique

Laisser sous agitation jusqu'à dissolution total de l'acide citrique

Compléter le volume par l'eau pure

Incorporer le volume dans la cuve

Rincer 3 fois avec l'eau déminéralisée

- Préparation de colorant dans un conge

Mettre l'eau déminéralisée plus une quantité de rouge azorubin

Agiter jusqu'à l'homogénéité de solution

Incorporer le volume dans la cuve

Rincer 3 fois avec l'eau déminéralisée

- Préparation de mélange final dans la cuve

Arrêter l'agitation.

Compléter le volume par l'eau pure jusqu'au volume précis dans la pharmacopée

Laisser sous agitation pendant 10min.

Faire un prélèvement pour réaliser les contrôles de qualité physicochimique en cours de production des paramètres suivants aspect, densité et PH.

2.2.1. Contrôle en cours de production du Salbutamol

- Aspect

Prélever de la cuve de préparation une quantité de sirop Salbutamol et la placer dans un bécher puis vérifier son aspect avec oeil nu sous la lumière directe.

- Le PH

Après étalonnage du PH mètre la mesure du PH est effectuée sur notre échantillon de sirop à 20°C

- Densité

C'est la masse volumique de la substance sur la masse volumique du corps de référence à 20°C.

Mode opératoire :

Sur une balance de précision, peser :

- Le pycnomètre vide et sec, tarer son poids.
- Le pycnomètre rempli d'eau, jusqu'au trait de jauge, puis mentionner son poids.
- Le pycnomètre rempli de sirop, jusqu'au trait de jauge, puis mentionner son poids.
- Pendant toutes les opérations qui vont suivre, il ne faut pas tenir le pycnomètre à pleine main.

Expression des résultats :

L'expression de la densité du liquide est :
$$d = \frac{p \text{ sirop} - p \text{ vide}}{p \text{ eau} - p \text{ vide}}$$

2.3. Filtration

Lorsque les résultats du contrôle qualité sont conformes le mélange final est transféré de la cuve de préparation vers la cuve de stockage en le filtrant sur une chambre filtrante de porosité déterminée. Dans le cas où un test est inférieur ou supérieur, une rectification est opérée et les tests sont évalués de nouveau.

2.4. Conditionnement

Le conditionnement primaire n'est effectué que lorsque les tests, cités précédemment sont corrects.

2.4.1. Conditionnement primaire

On utilise des flacons en verre, de couleur ombrée de capacité 150ml, avec des bouchons en polyéthylène haute densité de couleur marron.

Ce conditionnement est effectué de manière automatique, de la cuve de stockage vers une remplisseuse-boucheuse puis l'étiqueteuse.

2.4.2. Conditionnement secondaire

Consiste à mettre chaque flacon dans un étui individuel accompagné d'une notice. 30 étuis sont conditionnés dans un carton portant le nom du produit, les mentions (n° de lot, date de fabrication et la date de péremption) ainsi que le nom de la société.

Contrôle de qualité Salbutamol SAIDAL

Dans ce chapitre sont présentés les méthodes et matériaux utilisés pour réaliser le contrôle qualité du produit fini Salbutamol SAIDAL. Le médicament suit un processus extrêmement réglementé où le contrôle qualité et le respect des bonnes pratiques de fabrication sont essentiels. Il doit répondre à des normes de qualité nationales et internationales très strictes, et garantir le respect de l'environnement et de sécurité.

1. Contrôle du produit fini

1.1. Contrôle de qualité physicochimique du Salbutamol SAIDAL

1. But :

Il permet le contrôle du principe actif et des agents conservateurs dans le Salbutamol sirop.

2. Appareillages :

Les appareils utilisés dans le contrôle du médicament sont :

- HPLC Waters 2695
- Spectrophotomètre UV visible **Perkin Elmer lambda 20**
- PH mètre
- Densité-mètre
- Pycnomètre
- Fiole a jaugé
- Becher
- Erlenmeyer
- Pipette graduait
- Poule à décompté

3. Réactifs :

- Acide chlorhydrique (HCL, 0.1N)
- Chloroforme (CHCl₃)
- Carbonate disodique à 1% (NaCO₃)
- Propanol-2-ol (CH₃CHOHCH₃)
- Solution d 'acétate d'ammonium O, 1M (CH₃COO⁻, NH₄⁺)
- Acide acétique glacial (CH₃COOH)

1.1.1.1. Caractère organoleptique

Le contrôle du caractère organoleptique est nécessaire pour chaque lot de production. Il est utilisé pour qualifier une substance qui favorise l'excitation d'un récepteur sensoriel. Ainsi le goût, la texture, l'odeur ou encore l'aspect visuel.

1.1.2. Les essais :

1.1.2.1 Mesure pH :

Les mesures du pH (plus précisément les ajustements) des différentes solutions ont été mesurées à l'aide d'un pH-mètre du laboratoire de type *Hanna 211*.

Mode opératoire :

Étalonner le pH-mètre à l'aide des solutions tampons commerciales de pH 4, 7 et 10, après avoir vérifié son fonctionnement. Prélever un petit volume de l'échantillon suffisamment important ; pour permettre l'immersion d'électrode dans un bêcher.

- Expression des résultats :

Pour déterminer le PH de la prise d'essai, la valeur du PH est lue directement sur l'échelle de l'appareil.

1.1.2.2 Densité :

C'est la masse volumique de la substance sur la masse volumique du corps de référence (par l'eau) à 20°C.

1.1.2.3 Volume moyen

La détermination du volume moyen était faite sur 9 flacons prélevés par hasard du même lot. Mesurer chaque flacon à l'aide d'une éprouvette et calculer la moyenne des 9 flacons.

1.1.2.4 Degré alcoolique

Le degré alcoolique est déterminé par un pycnomètre. Dans un ballon à distiller, introduire 25 ml de Salbutamol, la préparation est mesurée à $20 \pm 0.1^\circ\text{C}$; diluer avec 100 ml d'eau distillée. Distiller et recueillir au moins 90 ml du distillat dans un ballon jaugé. Amener la température du distillat à $20 \pm 0.1^\circ\text{C}$ et compléter à 100 ml avec l'eau distillée à $20 \pm 0.1^\circ\text{C}$.

1.1.3. Dosage

1.1.3.1. Dosage des conservateurs par UV-Vis

- **Préparation des solutions**

- La solution carbonate disodique (Na_2CO_3) 1% (1g/100ml) a été préparée par dissolution de 10g de carbonate disodique dans 1000 ml d'eau.
- Acide chlorhydrique (HCL) 0.1N a été préparé par dilution de 8.33ml d'acide chlorhydrique commercial 37% dans de l'eau jusqu'à 1000 ml.
- Solution échantillon :
La solution non diluée de Salbutamol sirop
- Solution témoin :

Dans une fiole jaugée de 10 ml, dissoudre 0,8 mg de méthyl parabène et 0,2 mg d'éthyle parabène dans de l'eau distillée, agiter jusqu'à dissolution complète et porter le volume à 10 ml avec le même solvant.

- **Préparation de la solution échantillon**

Pour déterminer la quantité de conservateur présente dans chaque flacon de Salbutamol, choisir aléatoirement un flacon au niveau du lot, effectuer l'analyse sur la solution non diluée de Salbutamol sirop.

- **Préparation de la solution témoin**

Dans une fiole jaugée de 10 ml, dissoudre 0,8 mg de méthyle parabène et 0,2 mg d'éthyle parabène dans de l'eau distillée, agiter jusqu'à dissolution complète puis porter le volume à 10 ml avec le même solvant.

- **Mode opératoire**

Les solutions échantillon et témoin seront traitées séparément selon la méthode suivante :

- **Extraction liquide-liquide**

-Dans deux ampoules à décanter introduire 50 ml de HCl (0.1N).

-Ajouter 3ml de solution d'essai dans l'une et ajouter 3ml de solution témoin dans l'autre.

-Ajouter 90ml de chloroforme.

-Récupérer la phase chloroformique (la phase en bas).

- Ajouter 50ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) 1%.

-Recueillir les phases aqueuses et compléter à 100 ml avec la solution de carbonate disodique à 1%.

- **Dilution**

Diluer 10 ml de la solution avec le carbonate disodique à 1% et compléter à 50 ml avec le même solvant.

- **Lecture**

Mesurer les extinctions des solutions échantillon et témoin finales à 296 nm vis-à-vis du carbonate disodique à 1%.

1.1.3.2. Dosage de principe actif par HPLC

- **Réactifs**

- Salbutamol sulfate
- Le solvant d'analyse utilisé est le propan-2-ol pour HPLC
- Acide acétique glacial

- **Préparation des solutions**

La solution d'acétate d'ammonium 0.1M est préparée en dissolvant une quantité de 7.708 g ($\times 5$) d'acétate d'ammonium dans l'eau purifiée, et compléter jusqu'à 1000ml avec le même solvant.

Le dosage du principe actif se fait par HPLC de type Waters 2695 alliance séparation en travaillant dans les conditions suivantes :

- **Préparation de l'équipement HPLC**

- Détecteur : 2487 UV.
- Longueur d'onde : 276 nm.
- Régulateur de température.
- Colonne : Yperpher BDSC 8(5 μ m \times 250mm \times 4.6mm).
- Température de la colonne : 30°C.
- Débit : 1 ml / minute.
- Volume injecté : 20 μ l.
- Durée de l'analyse : 45 min.

- **Mode gradient**

Tableau 05. Le mode gradient des conditions d'utilisation de HPLC.

Temps (min)	Phase A% V/V	Phase mobile B% V/V
0 – 20	100	0
20 – 30	86	14
30 – 45	100	0

- **Préparation des phases mobiles**

• **Phase mobile A**

Mélanger 98.5 volumes d'une solution d'acétate d'ammonium 0.1M déjà ajustée au pH 4.5 avec l'acide acétique glacial avec 1.5 volumes de propan-2-ol (10%).

• **Phase mobile B**

Propan-2-ol (10%).

• **Préparation du standard**

Dans une fiole de 100 ml mettre 4.8 mg de salbutamol sulfate et jauger avec la phase mobile A.

• **Préparation de la solution échantillon**

Introduire 5ml de sirop dans une fiole de 50ml et jauger avec la phase mobile A

Filtrer la solution à l'aide d'un micro-filtre de 0.45µm de diamètre dans des Vials pour HPLC.

- **Protocole d'analyse**

Pour déterminer la quantité de PA présente dans le sirop chaque analyse commence et se termine par un standard. Le nombre maximum d'essai entre injection initiale et finale est de trois essais.

Tableau 06. Séquence d'échantillonnage.

Échantillon	Nombre d'injection	Durée d'analyse
Équilibration	1	45 min
Standard	3	45 min
Équilibration	1	10 min
Echantillon	3	45 min
Équilibration	1	10 min
Standard	1	45 min

1.1.4. Analyse par spectrophotomètre infrarouge

Le Salbutamol a été identifié par spectrométrie d'absorption dans l'IR qui permet de confirmer l'identité de la substance. Le spectre IR de la poudre peut être obtenu directement à l'aide d'une pastille de KBr afin de le comparer à celui de la substance Salbutamol de référence.

Méthode

On mélange à peu près 1mg de l'échantillon homogénéisé à 200mg de bromure de potassium (grade IR) soigneusement séché et broyé, ce mélange est ensuite pressé afin d'obtenir une fine pastille transparente. Les substances transformées en pastilles sont analysées et les spectres sont comparés avec celle du standard. Le spectre IR est réalisé grâce au spectrophotomètre infrarouge Palmer.



Figure 9. Spectromètre infrarouge type Palmer

L'infrarouge analytique met à profit la plage des radiations électromagnétiques comprise entre 1 et 50 μm pour identifier ou doser des composés par des procédés basés sur l'absorption ou la réflexion de la lumière par l'échantillon. Cette bande spectrale est divisée en proche infrarouge (de 1 à 2,5 μm) et en moyen infrarouge (2,5–50 μm). Bien que le domaine du proche infrarouge soit pauvre en absorptions spécifiques, il a pris une grande importance dans les laboratoires de contrôle comme moyen d'analyse quantitative. Le domaine du moyen infrarouge est, par contre, plus riche en informations sur les structures des composés examinés. De ce fait, il est très utilisé comme procédé non destructif pour identifier les composés moléculaires organiques dont il permet de garder une sorte d'empreinte. Pour effectuer ces analyses, on dispose d'une panoplie d'appareils allant des spectromètres à transformée de Fourier aux divers analyseurs portables de type dispersif ou non, spécialisés dans le dosage de composés prédéfinis (analyse des gaz et des vapeurs) ou qui permettent de faire des mesures en continu avec des sondes à immersion sur les unités de production. La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier, qui complète la méthode dispersive initiale, offre de nombreuses possibilités de traitement des spectres et permet des applications dans l'analyse de microéchantillons structurés (microanalyse infrarouge) ^[18].

1.1.4.1. Origine de l'absorption lumineuse dans l'infrarouge

Dans le proche et le moyen infrarouge, l'absorption de la lumière par la matière a pour origine l'interaction entre les radiations de la source lumineuse et les liaisons chimiques. Plus précisément, on sait que les atomes situés aux deux extrémités d'une liaison sont animés d'un mouvement de vibration l'un par rapport à l'autre et que s'ils sont différents, ils forment un dipôle électrique oscillant à cette même fréquence. Si on irradie une telle liaison non symétrique par une source lumineuse monochromatique dont la fréquence est la même que la fréquence de vibration, il va naître une interaction avec le dipôle électrique de la liaison. Autrement dit la composante électrique de l'onde pourra transmettre son énergie à la liaison à condition qu'il y ait accord entre sa fréquence mécanique de vibration et la fréquence électromagnétique de la radiation **figure 13** ^[18].

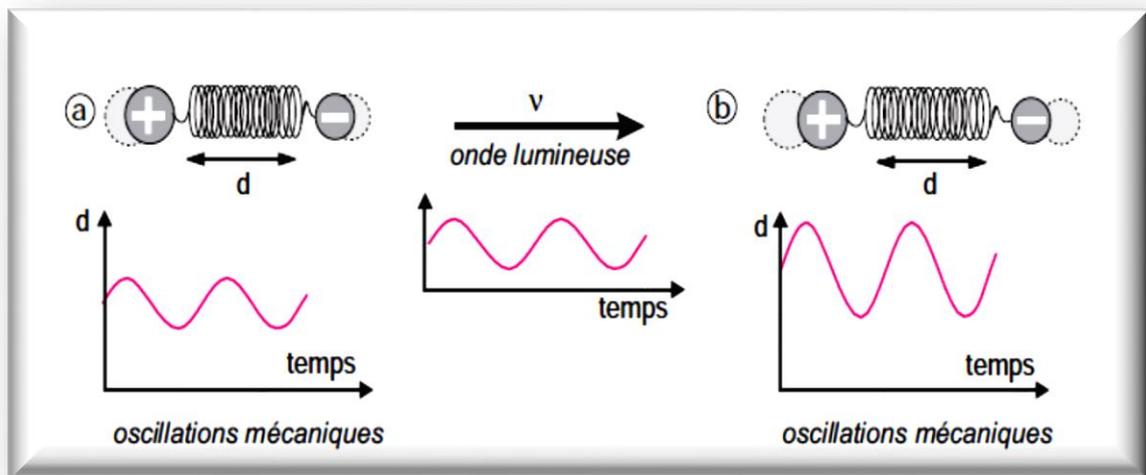


Figure 10. Interprétation « mécanique » de l'interaction d'une onde lumineuse avec une liaison polarisée ^[18].

1.2. Contrôle de qualité microbiologique du Salbutamol SAIDAL

1. But :

Contrôler le niveau de contamination microbienne et fongique d'un produit non obligatoirement stérile Salbutamol sirop. Par la méthode de dénombrement sur plaque gélosique.

2. Equipment

- Hotte à flux lumineuse / bec benzène
- Etuve 30-30°C.
- Etuve 20-25°C.
- Etuve 42-44°C.
- Compteur de colonies
- Bain marie

3. Equipment consommables

- Pipette Pasteur stérile
- Pipette graduée de 1ml et 10ml stérile
- Boîte de pétri préalablement gélosée
- Flacons stériles ou erlenmeyer stérile de 100ml
- Gant ; bavette ; calot
- Désinfectant.

1.2.1. Solution et milieu de culture

- Solution tampon peptone au chlorure de sodium PH7
- Milieu liquide aux peptones de caséine et de soja
- Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja
- Milieu Sabouraud dextrose gélosée
- Milieu liquide de MACCONKEY
- Milieu gélosé de MACCONKEY

1.2.2. Préparation de l'échantillon

- Préparer le poste de travail.
- Mettre les gants, bavette, calot.
- Désinfecter les mains gantées.
- Désinfecter la surface extérieure des 5 flacons du produit fini
- Effectuer un mélange moyen à partir des 5 flacons du produit fini environ de 5ml de chaque flacon dans un erlenmeyer, stérile.
- Introduire 10ml dans un erlenmeyer ou un flacon de 100 ml
- Ajout 90ml de la solution tampon peptone de chlorure de sodium PH7 pour obtenir un rapport de dilution de 1/10.
- Homogénéiser cette solution est la solution terminale

1.2.3. Examen de l'échantillon

- Introduire aseptiquement dans la boîte de pétri 1ml de la solution diluée 1/10 pour le dénombrement des germes aérobies totaux, et introduire 1ml de la même solution pour le dénombrement des levures et moisissures totales.
- Ajouter 15 à 20ml de milieu gélosé liquéfié (Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja) pour le dénombrement des germes aérobies totaux à une température qui ne dépassant pas 45°C.
- Ajouter 15 à 20ml de milieu gélosé liquéfié (Milieu Sabouraud dextrose gélosée) pour le dénombrement des levures et moisissures totale à une température qui ne dépassant pas 45°C.
- Homogénéiser avec des mouvements de va-et-vient et circulaires.
- Laisser les boîtes pétries sur les paillasse jusqu' à solidification.
- Inscrire sur le dos de la boîte pétri : le numéro de lot du produit et la date d'analyse.

- Incuber les boîtes destinées au dénombrement des germes aérobie totaux à 30-35°C pendant 3-5 jours.
- Incuber les boîtes destinées au dénombrement des levures et moisissures totale à 20-25°C pendant 5-7 jours.

1.2.3.1. Interprétation

Placer les boîtes de pétris sur le compteur de colonie l'une après l'autre et dénombrer toutes les colonies qui se sont développées. Prendre en considération la moyenne arithmétique des dénombrements des différentes dilutions et calculer le nombre d'unités forme colonie par millilitre de produit. Le produit satisfait l'essai si le nombre trouvé ne dépasse pas le nombre exigé par le dossier technique.

1.2.4. Recherche d'*Escherichia Coli*

- Prélever de 10ml de l'échantillon préparé ou 1ml du produit à examiner et ensemer dans 100ml de milieu liquide aux peptones de caséine et de soja.
- Incuber à 30-35°C pendant 18-24h.
- Agiter le flacon après cette incubation.
- Transférer 1ml de contenu dans 100ml de milieu liquide de MacConky.
- Incuber à 42-44°C pendant 24-48h.
- Effectuer des subcultures sur deux boites de milieu gélosé de MacConky.
- Incuber à 30-35°C pendant 18-72h.

1.2.4.1. Interprétation

La croissance de colonie indique la présence possible d'*Esherishia.Coli*, à confirmer par des essais d'indentification.

Le produit satisfait à l'essai s'il n'y a pas la présence de colonie et si les tests biochimiques sont négatifs.

1.2.5. Spécification

La qualité microbiologique de Salbutamol SAIDAL sirop doit répondre aux normes suivantes :

- Germes aérobies totaux : $\leq 5.10^3$ UFC/ml.
- Levures et moisissures totales : $\leq 5.10^2$ UFC/ml.
- Absence d'E. coli : 00 UFC/ml (absence).

Troisième Partie

Résultat & discussion

Contrôle de qualité du Salbutamol SAIDAL

Dans ce chapitre, on présente les protocoles et les procédés employés pour contrôler la qualité de Salbutamol sirop (2mg /5ml) du lot testé (S020318). Les résultats obtenus sont aussi présentés afin de déterminer leurs conformités par rapport aux normes de la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

1. Contrôle en cours de production

Les résultats des analyses physicochimiques pratiquées en cour de production sont résumés dans le **tableau 07**.

Tableau 07. Résultats des analyses physicochimiques pratiquées en cour de production.

Analyses	PH	Densité	Aspect (couleur)
Spécification	[2.7 à 3.7]	[1,19-1,23]	Rouge rubis
Résultats	3.22	1,2244	Rouge rubis

Selon les spécifications décrites dans la pharmacopée européenne 8^{ème} édition, les résultats d'analyses physicochimiques obtenus en cours de production sont conformes aux normes, par conséquent le procédé de filtration peut être lancé.

2. Contrôle du produit fini de Salbutamol sirop (2mg /5ml)

2.1. Contrôle les caractères organoleptiques

Lors du contrôle organoleptique du Salbutamol SAIDAL qui se fait manuellement, les quatre caractères à contrôler sont présentés dans le **tableau 08**.

Tableau 08. Caractères organoleptiques du sirop (Salbutamol sirop).

Liquide	Couleur	Odeur	Goût	Conformité
Limpide	Rouge rubis	Cerise	Doux	Conforme

L'évaluation sensorielle du Salbutamol SAIDAL représente un aspect organoleptique satisfaisant, répondant aux spécifications décrites dans la pharmacopée européenne 8ème édition.

2.2. Les essais de contrôle

2.2.1. Mesure de pH

D'après la pharmacopée européenne, le pH de la solution salbutamol à analyser doit être compris entre [2,3 - 3,7].

En utilisant un pH mètre, mesurer le pH de solution de Salbutamol SAIDAL. Le pH obtenu est égal à 3,12. On conclut que le pH mesuré répond aux normes.

2.2.2. Densité

D'après la pharmacopée européenne, la densité de la solution Salbutamol à analyser doit être comprise dans l'intervalle : [1.19 – 1.23].

À l'aide d'un densimètre déterminer la densité de solution de Salbutamol SAIDAL. Le résultat est : 1.2259 g/cm³. La densité mesurée répond à l'intervalle de spécification.

2.2.3. Volume moyen

On choisit aléatoirement 9 flacons du lot puis déterminer le volume des 9 flacons à l'aide d'une éprouvette.

D'après la pharmacopée européenne, le volume moyen des flacons doit avoir une valeur comprise entre [145-155ml].

Les volumes sont mesurés et cités dans le **Tableau 09**.

Tableau 09. Les volumes mesurés pour chaque flacon.

| Flacon |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 150,3 | 149,5 | 148,2 | 150,0 | 151,4 | 149,7 | 150,5 | 148,6 | 151,8 |

$$V_{moyen} = \frac{\sum V_n}{n}$$

$$V_{moyen} = \frac{150,3+149,5+148,2+150,0+151,4+149,7+150,5+148,6+151,8}{9} = 150,0ml$$

Ce résultat signifie que le volume moyen calculé répond aux spécifications.

2.2.4. Degré alcoolique

La relation entre la masse volumétrique à $20\pm 0.1^\circ\text{C}$, la densité relative D (ramenée au vide) et le titre alcoométrique d'un mélange d'eau et d'alcool est donnée dans les tables alcoométriques de l'organisation internationale de métrologie (légal 1972) (**tableau 11**)

L'intervalle de la norme exigée par la pharmacopée européenne en ce qui concerne le degré alcoolique est : [1.19 – 1.23]

- Détermination de la densité par pycnomètre.
- Les résultats de la pesée et de calcul sont présentés dans le **tableau 10**.

Tableau 10. Représentation des résultats qui nous a permis de calculer la densité.

Formule	Calcul	Résultat
$P_{\text{sirop}} = 27.3009\text{g}$		
$P_{\text{eau}} = 27.3043\text{ g}$	$D = \frac{p_{\text{sirop}} - p_{\text{vide}}}{p_{\text{eau}} - p_{\text{vide}}}$	$D = \frac{27.3009 - 16.844}{27.3043 - 16.844} \quad D=0.9996$
$P_{\text{vide}} = 16.8440\text{ g}$		

Tableau 11. Partie de la table alcoométrique de l'organisation internationale de métrologie selon les résultats.

Teneur	Densité	Teneur en alcool% V/V à 20°C
997.5	0.9993	0.46
998.0	0.9988	0.13

Les valeurs indiquées du tableau à la colonne 3 doivent être multipliées, par 4 pour obtenir le pourcentage V/V d'éthanol contenu dans la préparation.

$$x_1: 997.5 \rightarrow 0.9993 \rightarrow y_1: 0.46$$

$$x_i: ? \rightarrow 0.9996 \rightarrow y_i: ?$$

$$x_2: 998.0 \rightarrow 0.9988 \rightarrow y_2: 0.13$$

$$\left(\begin{array}{l} 997.5 \rightarrow 0.9993 \\ x_i \rightarrow 0.9996 \end{array} \right) \rightarrow x_i = \frac{997.5 \times 0.9996}{0.9993} = 997.799$$

$$\frac{x_2 - x_1}{x_2 - x_i} = \frac{y_2 - y_1}{y_2 - y_i} \rightarrow y_i = y_1 + (y_2 - y_1) \times \frac{x_i - x_1}{x_2 - x_1}$$

$$\begin{aligned} \frac{998.0 - 997.5}{998.0 - 997.799} &= \frac{0.13 - 0.46}{0.13 - y_i} \rightarrow y_i \\ &= 0.46 + (0.13 - 0.46) \times \frac{997.799 - 997.5}{998.0 - 997.5} = 0.26266 \end{aligned}$$

Donc : $0.26266 \times 4 = 1.05064 \approx 1.051$

Les résultats obtenus sont conformes aux normes d'acceptation.

2.2.5. Dosage

2.2.5.1. Dosage des conservateurs

Les absorbances mesurées à une longueur d'onde max 296 nm sont récapitulées dans le **tableau 12**.

Tableau 12. Dosage des conservateurs par UV/Vis.

Répétabilité	Témoin	Moyen
Standard	0.8190	0.8190
	0.8190	
	0.8190	
échantillon	1.2487	1.24873
	1.2488	
	1.2487	

Analyse quantitative

D'après la pharmacopée européenne, la teneur en agents conservateurs doit être comprise entre [147.5-152.5 mg/100ml] de solution sirop.

Calcul :

La formule permettant de calculer la teneur de conservateur et la suivante :

$$dosage = \frac{Abs}{Abs_0} \times TR$$

Abo échantillon : absorption de l'essai

Abs std : absorption de standard

TR : Teneur de référence avec : $(TR) = (P_{MP} * TR_{MP}) + (P_{EP} * TR_{EP})$

P_{MP} = pois de méthyl parabène

TR_{MP} = Teneur de référence de méthyl parabène

P_{EP} = pois d'éthyle parabène

TR_{EP} = Teneur de référence d'éthyle parabène

$TR = (85 \text{ mg} \times 0.993) + (15 \text{ mg} \times 1.0138) = 99.612 \text{ mg.}$

$$dosage = \frac{1,24873}{0,819} \times 99,612 = 151,8789 \text{ mg /100ml}$$

Les résultats obtenus par les relations récentes montrent que la quantité des conservateurs mesurée dans le flacon est conforme aux normes de la monographie interne de la société SAIDAL.

2.2.5.2. Dosage du principe actif

Ce contrôle consiste à doser le principe actif présent dans chaque flacon de Salbutamol, les **figures 12** et **13** présentent les chromatogrammes obtenus après injection de la solution standard et sirop.

L'analyse des chromatogrammes montre un même temps de rétention d'environ 11.93 minutes pour la solution standard et la solution sirop. En outre, le chromatogramme de sirop ne montre aucun autre pic, d'où la pureté est 100% du PA dans le sirop produit fini.

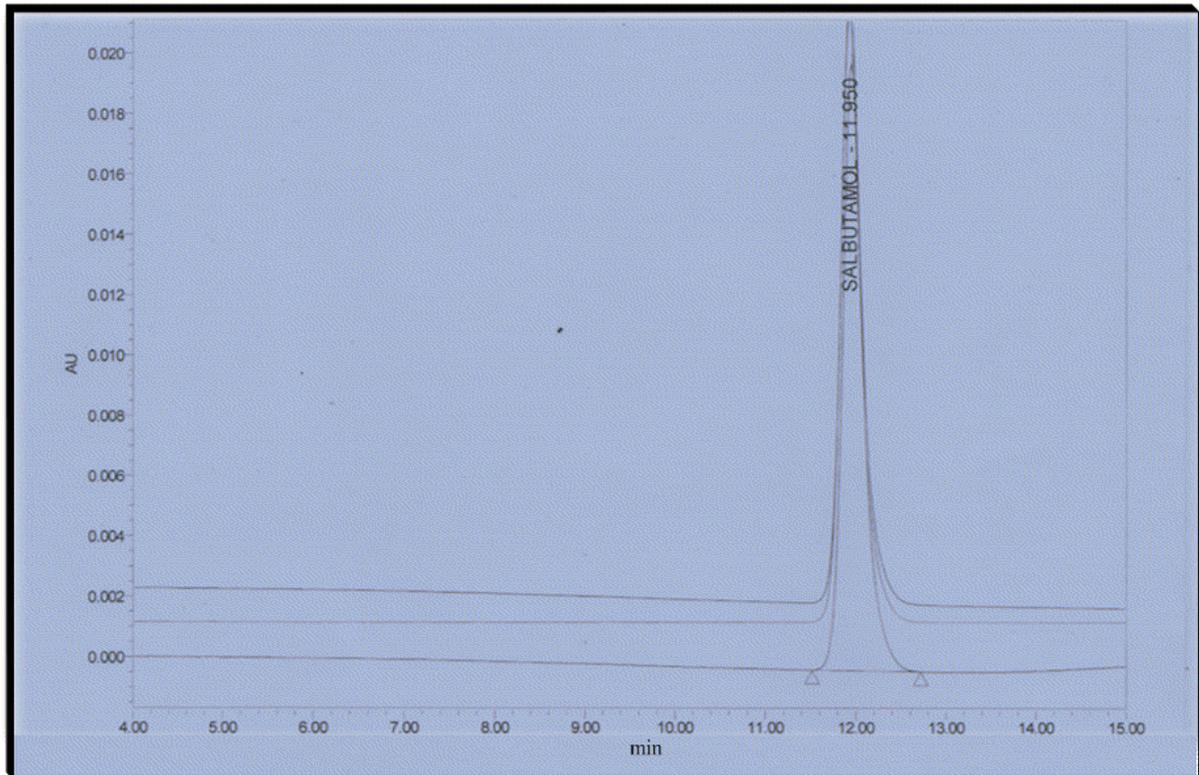


Figure 11. Chromatogrammes De la solution standard.

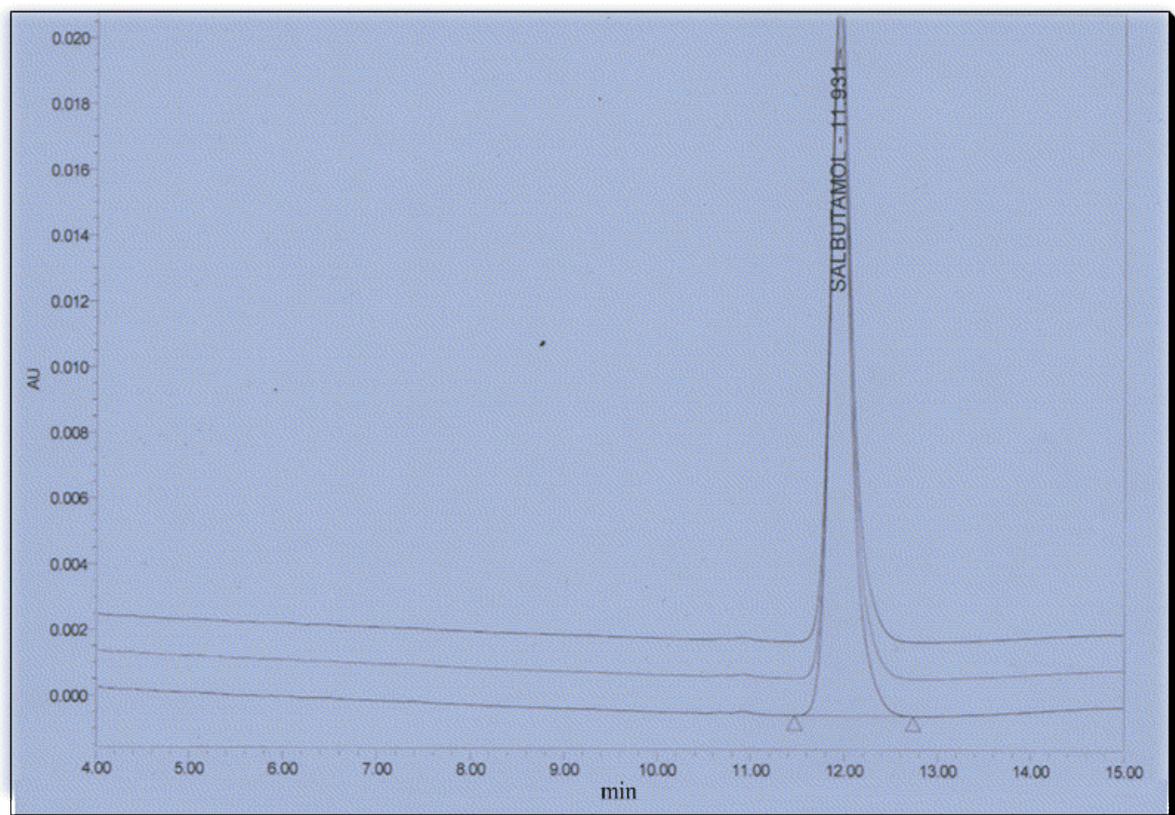


Figure 12. Chromatogrammes De Salbutamol sulfate.

Analyse quantitative

Les résultats obtenus (surface des pics et temps de rétention) lors du dosage de PA par HPLC sont rassemblés dans le **tableau 13**.

Tableau 13. Détermination des TR moyen et des surfaces moyennes pour l'essai et le standard.

Répétabilité	Hauteur	Temps de rétention (min)	Temps de rétention moyen	Surface	Surface moyenne
Standard : inj1	20125	11.950		326586	
Standard : inj2	20171	11.932	11.937	327201	326926.8
Standard : inj3	20132	11.928		326994	
Essai02 : inj1	20345	11.931		330599	
Essai02 : inj1	20348	11.935	11.933	330743	330563
Essai02 : inj1	20342	11.933		330347	

Spécification :

La teneur en principe actif doit être comprise entre [0.036g/100ml et 0.044g/100ml] soit théoriquement 0.04g/100ml ±10%

Interprétation

La teneur en principe actif du Salbutamol sirop exprimée en g/100ml est donnée par la formule suivante :

$$T = \frac{A_{essai}}{A_0} \times \frac{PE_{std}}{PE_{etd}} \times 0,04 \times titre_{std}$$

A essai : aire du pic correspondant au principe actif dans la solution à examiner

A std : aire du pic correspondant au principe actif dans la solution standard

PE essai : prise d'essai théorique du standard

PE std : prise d'essai réel du standard

A essai = 330563

A std = 326926.8

PE essai = 4.8

PE std = 4.8

Titre std = 1.00036

$$T = \frac{330563}{32692,8} \times \frac{4,8}{4,8} \times 0,04 \times 1,0404 = 0,0404 \text{ g / } 100\text{ml}$$

Selon les spécifications décrites dans la pharmacopée européenne 8ème édition, La teneur du PA obtenue de l'échantillon est bien conforme aux normes.

2.2.6. Identification

2.2.6.1. Identification du principe actif par spectroscopie IR

Le spectre IR du Salbutamol a été enregistré sur un spectromètre, comme on peut voir dans le spectre de sulfate de Salbutamol, on observe un ensemble de bandes caractéristiques d'un ensemble de fonctions présentes dans notre molécule. Le résultat de l'interprétation du spectre est représenté dans le **tableau 14**.

Les maximums d'absorption du spectre obtenu avec la substance à examiner correspondent en position et en intensité relative à ceux du spectre obtenu avec le principe actif ce qui prouve que le principe actif Salbutamol sulfate est pur et conforme aux normes monographie interne de SAIDAL.

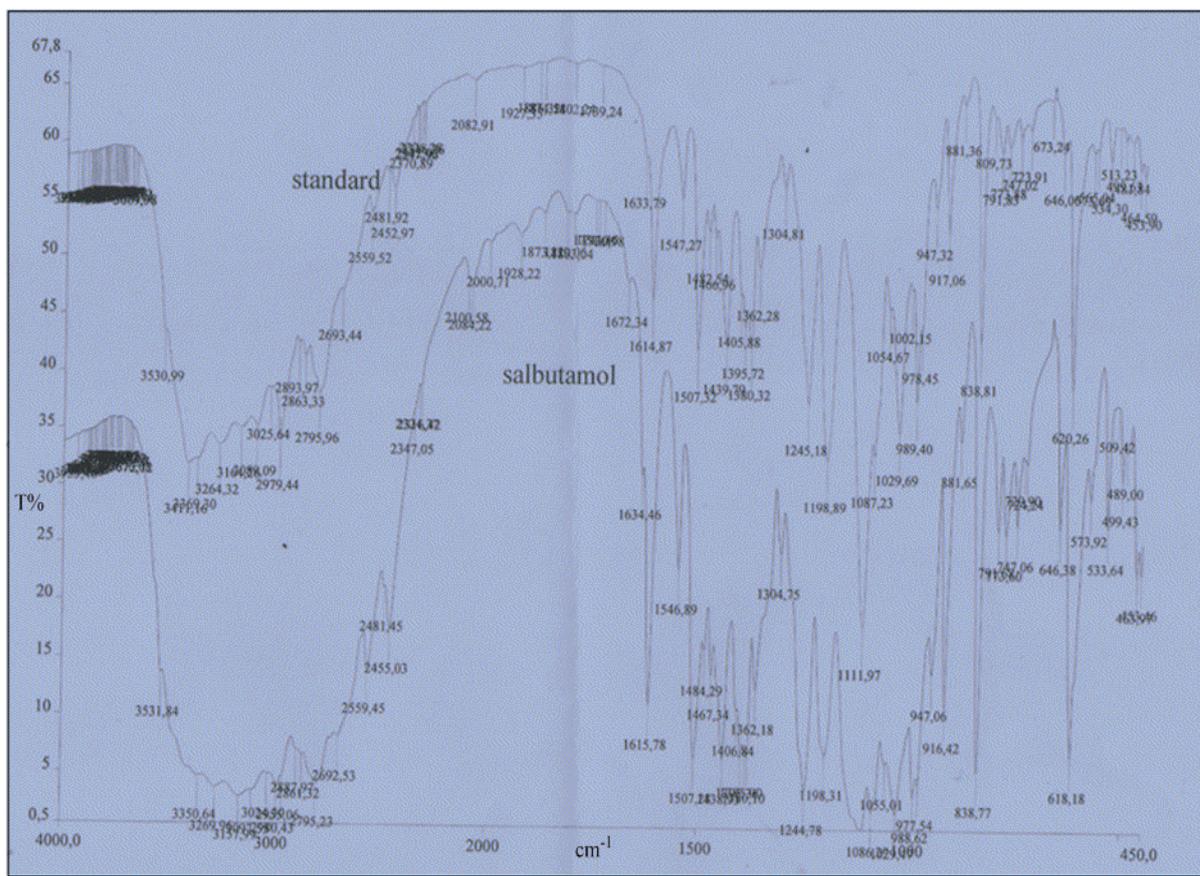


Figure 13. Spectre IR du Salbutamol Sulfate Standard et Sirop.

Tableau 14. Interprétation du spectre IR du Salbutamol Sulfate.

Liaison et environnement	Nombre d'onde (cm-1)	Intensité
C tetranol -H	2810-3000	F
C tetranol -H	3000-3100	M
O-H Alcool Primaire	1040-1060	F
O-H Alcool Secondaire	1100	F
N-H Amine secondaire	3100-3500	f-m
C-N	1020-1220	M
OH phénol	1200	
C-X	500-600	F

C=C	1625- 1680	F
C=C Aromatique	Vers 1600	m
C=C	Vers 1500	m

Avec ; F : fort, f : faible, m : moyenne.

2.2.6.2. Identification des conservateurs par UV

L'identification d'une substance par son spectre ultraviolet ou visible, dépend à la fois du nombre de bandes présentes dans le spectre, mais aussi de la largeur de ces bandes. Les conservateurs possèdent un seul maximum à 296 nm assez facile à déterminer est représenté dans la **figure 15**.

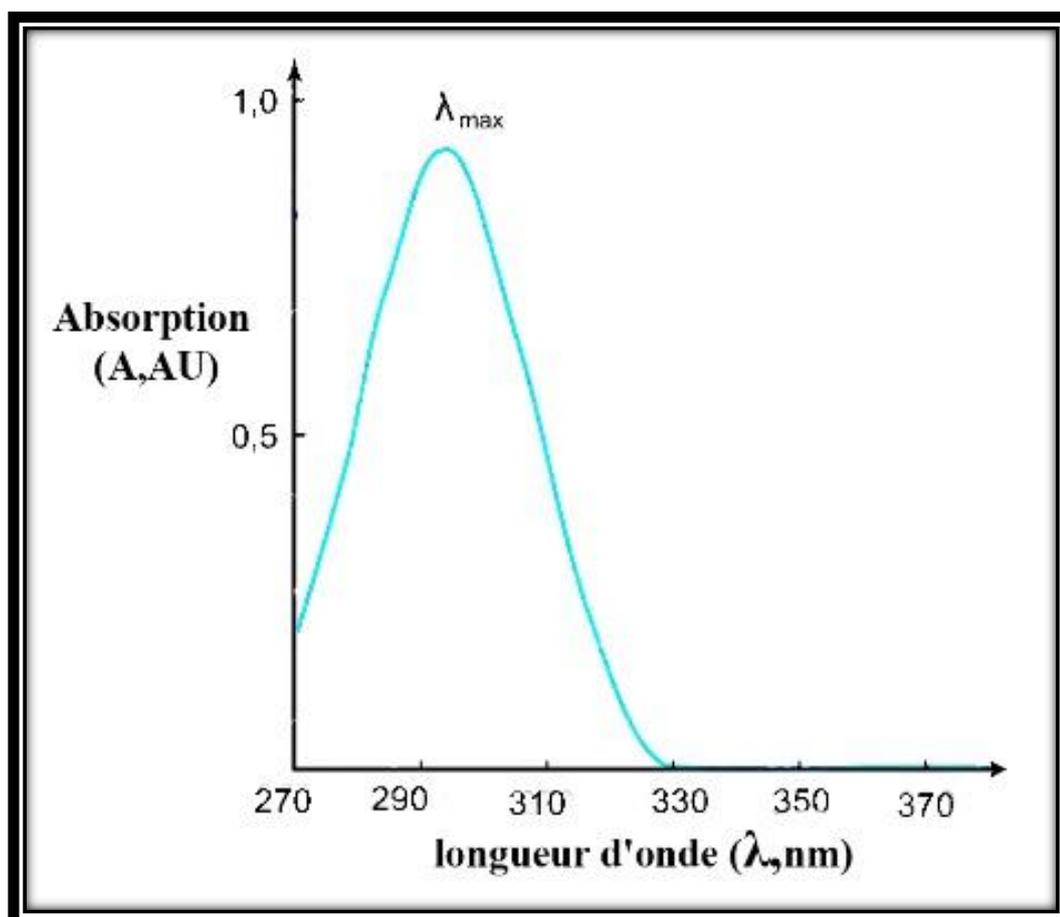


Figure 14. Spectre UV-Visible des conservateurs.

D'après le spectre UV-Visible la solution échantillon présente un maximum d'absorption à 296 nm, ce qui confirme l'identification des conservateurs.

3. Contrôle de qualité microbiologique du Salbutamol SAIDAL

Après la période d'incubation, la lecture des résultats de dénombrement des germes aérobies totaux, des levures et des moisissures a été effectuée par un comptage des colonies, alors que la lecture des résultats de la recherche des germes spécifiques a été effectuée par l'observation à l'œil nu puis confirmée par des tests d'identification.

Les résultats du contrôle microbiologique de produit fini Salbutamol 2mg/5ml sont récapitulés dans le **tableau 15**.

Tableau 15. Les résultats du lot suivie S020318.

Test	Spécification	Résultat
Germe aérobie totaux	$\leq 5.10^3$ UFC/ML	00 UFC
Levure et moisissure total	$\leq 5.10^2$ UFC/ML	00 UFC
<i>Escherichia coli</i>	Absence	Absence

Selon la pharmacopée européenne, le produit fini Salbutamol 2mg/5ml satisfait à l'essai, car il y a une absence totale de germes aérobies totaux, des levures et moisissures, Ainsi que pour les germes spécifiques d'*Escherichia coli*, et ce qui indique que le produit fini est conforme.

Conclusion

Conclusion

Le niveau d'exigence de la qualité requise pour les produits de santé continue de croître au fur et à mesure de l'évolution des connaissances scientifiques, et cherche à garantir l'absence de risque lié au produit.

Le principe de précaution s'applique aussi au médicament, et seul un système d'assurance de la qualité intégrant l'analyse et le contrôle qualité des produits, peut aujourd'hui autoriser la libération d'un produit sur le marché.

Dans ce travail, nous avons effectué différentes analyses physicochimiques et microbiologiques réalisées au sein du laboratoire SAIDAL pour contrôler la qualité de Salbutamol 2mg/5ml.

Tous les résultats des contrôles effectués en cours de la production « in process control » et sur le produit fini Salbutamol SAIDAL (sirop) ont montré une conformité aux normes exigées par la pharmacoeuropéenne. Ce qui résume essentiellement que le produit était conforme aux normes tout au long de son processus de fabrication, à partir des matières premières et articles de conditionnement jusqu'au produit fini, défini comme étant prêt à la consommation pour le plus grand bien des patients.

Résumé

Noms et Prénoms : BENZAHY MOHAMMED KLAAY ZAKARIA MEHYEDDIN	Date de soutenance : 27/06/2018	
Thème : Analyse physicochimique et microbiologique de Salbutamol		
<p>Résumé :</p> <p>Afin d'obtenir une action thérapeutique toujours identique avec un même produit pharmaceutique, ce dernier doit présenter des caractéristiques constantes et parfaitement définies.</p> <p>L'objectif de cette étude consiste en le contrôle physico-chimique et microbiologique de Salbutamol sirop produit par l'unité de production de médicament du laboratoire SAIDAL Constantine, et ce dans le but d'établir la conformité du produit fini Salbutamol sirop 2mg/5ml avec la norme de la pharmacopée européenne.</p> <p>Différentes analyses de contrôle physicochimique ont été réalisées au niveau du laboratoire. Les résultats obtenus, de ces tests, permettent de conclure que le produit fini est conforme. Par ailleurs, l'analyse microbiologique a été faite sur le produit fini, Les résultats obtenus montrent l'absence de bactéries totales, levures et moisissures ainsi que le germe d'<i>Escherichia Coli</i>, donc conforme aux normes prescrites par la pharmacopée. Le médicament Salbutamol 2mg/5ml est considéré de bonne qualité pharmaceutique et propre à la consommation.</p>		
<p>Mot clés : Salbutamol 2mg/5ml, pharmacopée, contrôles physicochimiques, contrôle microbiologique.</p>		
<p>Laboratoires : laboratoire de control physicochimique et microbiologique de société (SAIDAL) zone industriel BOUSSOF Constantin</p>		
President de jury:	Mr. HAMIDCHI Mohamed Abed El Hafid	Prof. UFM. Constantine 1.
Rapporteur :	Mr. DINAR Karim	Dr. UFM. Constantine 1.
Examineur :	Mr. AZZOUZ Sarah	Dr. UFM. Constantine 1.
Maître de stage :	Mme. MENDI Amal	Responsable de laboratoire Physicochimique SAIDAL

Abstract

In order to obtain an always identical therapeutic action with the same pharmaceutical product, the latter must have constant and perfectly defined characteristics.

The objective of this study consists in the physical-chemistry and microbiological control of Salbutamol syrup produced by the drug production unit of the SAIDAL Constantine laboratory, with the aim of establishing the conformity of the finished product Salbutamol 2mg / 5ml with the European pharmacopoeia standard.

Various physicochemical control analyzes were carried out at the laboratory level.

The results obtained from these tests make it possible to conclude that the finished product is compliant.

In addition, the microbiological analysis was done on the finished product,

The results obtained show the absence of total bacteria, yeasts and molds as well as the *Escherichia coli* germ thus complying with the standards prescribed by the pharmacopoeia.

The drug of Salbutamol 2mg / 5ml is considered of good pharmaceutical quality and fit for consumption.

الملخص

من أجل الحصول على عمل علاجي متطابق دائماً مع نفس المنتج الصيدلاني، يجب أن يكون لهذا الأخير خصائص ثابتة ومحددة تماماً.

الهدف من هذه الدراسة هو المراقبة الفيزيائية والمكروبيولوجية لدواء سالبوتامول الذي تنتجه وحدة إنتاج الدواء في مختبر صيدال قسنطينة، بهدف تحديد مطابقة المنتج النهائي سالبوتامول 2 ملغ / 5 مل مع معيار دستور الدواء الأوروبي.

وأجريت تحاليل مختلفة للتحكم الفيزيائي الكيمياء في مختبر صيدال، بالنظر إلى النتائج التي تم الحصول عليها من هذه الاختبارات، مما أمكن من الاستنتاج بأن المنتج النهائي مطابق. بالإضافة إلى ذلك، تم إجراء التحليل الميكروبيولوجي على المنتج النهائي.

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن عدد البكتيريا والخمائر والقوالب القابلة للحياة الكلي هي أقل من المعايير المنصوص عليها من قبل الدستور الأوروبي للدواء.

يعتبر دواء سالبوتامول سلفات 2 ملغ / 5 مل من اجود الأدوية الجيدة.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

- [1]. Académie de Rouen. (2010, janvier 20). *HPLC Principe et appareillage*. Récupéré sur biotech rouen: <http://biotech.spip.ac-rouen.fr/spip.php?article9>
- [2]. Ahmad, M., Akhtar, N., & Murtaza, G. (2009). Biowaiver study of oral tableted ethylcellulose microcapsules of a BCS class I drug. *Bull. Chem. Soc., Ethiop.*
- [3]. André, M. L. (2015). *Les additifs alimentaires*. Jouvence Maxi-pratiques.
- [4]. Bathelot, B. (2016, novembre 7). *Propriétés organoleptiques*. Récupéré sur définitions marketing: <https://www.definitions-marketing.com/definition/proprietes-organoleptiques/>
- [5]. Baumgartner, R. A., Claus, R., Emerman, C., Hanania, N. A., Hanrahan, J. P., Nowak, R., . . . Schaefer, K. (2006). A comparison of levalbuterol with racemic albuterol in the treatment of acute severe asthma exacerbations in adults. *American Journal of Emergency Medicine*, 24-259.
- [6]. Bertram, G., & Katzung. (2006). *Pharmacologie fondamentale et clinique*. Piccin, Padova: 9e ed.
- [7]. Boukabache, A. (2016). *étudier la satabilité du Salbutamol sirop*. constantine.
- [8]. Britigan, B. E., Macha, S. F., Reszka, K. J., & Sallans, L. (2010). Physico-chemical aspect of Salbutamol. *Pharmacology and Experimental Therapeutics*.
- [9]. Brochard-Wyart, F., Dezarnaud Dandine, C., Griveau, S., Portier, R., & Volatron, F. (2016). *Chimie générale - Tout le cours en fiches*. Paris (France): Dunod.
- [10]. Brossard, D., Chaumeil, J. C., & Le Hir, A. (2011). *Pharmacie galénique : Bonne pratique de fabrication des médicaments*. Paris (France): Elsevier Masson.
- [11]. Brunton, L. L., Chabner, B. A., Knollman, C. B., Westfall, D. P., & Westfall, T. C. (2011). Agonistes et antagonistes adrénergiques Goodman & Gilman est la base pharmacologique de la thérapeutique. *New York: McGraw-Hill*, 277-333.
- [12]. Bultsma, T., Ijzerman, A. P., Timmerman, H., & Zaagsma, J. (1984, 11 15). The ionization of beta-adrenoceptor agonists a method for unravelling ionization schemes. *J. Pharm. Pharmacol*, p. 36.
- [13]. Carlin, A., Debrauwer, L., Desprairies, M., Gros, V., Josèphe, M., Patrick, E., & Pierre, F. (2010). *La chimie et l'alimentation*. Paris: EDP Sciences et L'Actualité Chimique.

- [14]. Casetta , C. N. (1992). drawbacks of the method of membrane filtration. In *Microbiological control of pharmaceutical products containing preservatives* (p. 274). Boll Chim Farm.
- [15]. Centre national d'information sur la biotechnologie. (2018). *Citrique Acide Monohydraté*. Retrieved from pubchem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/22230#section=Top>
- [16]. ChemBioOffice. (2010). *PerkinElmer*. Informatics: <http://cambridgesoft.com>.
- [17]. Costanzo, G. D. (2008). *ORGANOLEPTIQUES PROPRIÉTÉS*. Récupéré sur Encyclopédie Universalise: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/proprietes-organoleptiques/>
- [18]. Cruché, F. R. (2004). *ANALYSE CHIMIQUE Méthodes et techniques instrumentales modernes .6e édition*. Paris : Dunod.
- [19]. Denil, M., & Lannoye, P. (2001). Dans F. Roche, *Guide des additifs alimentaires*. Paris: AGEP.
- [20]. Deshpande, S. B., Jain, A., Muthu, M. S., Rawat, M. K., Singh, S., & Soni, R. (2010). In vitro and in vivo evaluation of buccal bioadhesive films containing salbutamol sulphate. In *Chem Pharm* (pp. 307–311). Tokyo: Bull.
- [21]. Eckroth, D., Grayson, M., Kirk-Othmer, & Mark, H. F. (1978). *encyclopedia of chemical technology*. New York: Wiley.
- [22]. Fischer, J., Kilschautzky, J., Rumpf, S., & Titz, A. (s.d.). Salbutamol synthese. *DaMocles-Projekt*. Technische Universitat Darmstadt, Deutschland.
- [23]. Girard, F., & Marchand-Adam, S. (2002). *Pneumologie*. Bruxelles: ESTEM.
- [24]. Hazan, S., & Malaguzzi, S. (2006). *Saccharose*. Récupéré sur societe chimique de france: <http://www.societechimiquedefrance.fr/saccharose.html>
- [25]. Imanidis, G., & Imboden, R. (1999). aspects of stability testing in Europe.
- [26]. Inoue, N., Kawazi, t., & Ono, M. (1984, 02). Plaster containing salbutamol and method of production. *américain Patent No. US5068103*.
- [27]. Janson, C. (1991). Plasma levels and effects of salbutamol after inhaled or vois administration in stable asthma. *Eur Respir*, 544–550.
- [28]. Labayle, D., Talbert, M., & Willoquet, G. (2001). *Guide Pharmaco*. France: Edition Lamare.
- [29]. Mcevoy, G. K. (2007). Albuterol. In *AHFS drug information* (pp. 1306-18). Bethesda: American Society of Health-System Pharmacists.

- [30]. Micromedex, T. (2004). Drug Information for the Health Care Professional. In *the United States Pharmacopeial Convention* (pp. 617-620). Greenwood Village.
- [31]. Montvale, N. J., & Thomson, P. D. (2003). Référence du bureau des médecins. 57e éd. 3063.
- [32]. Morgan, D. J., Paull, J. D., Richmond, B. H., Wilson-Evered, E., & Ziccone, S. P. (1986). Pharmacokinetics of Intravenous and Oral Salbutamol and Its Sulphate Conjugate. In B. J. Clin, *Pharmacol* (pp. 587–593).
- [33]. Multon, J. L., & Reynal, B. (2009). *Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires*. Paris: Lavoisier.
- [34]. National Center for Biotechnology Information. (2018). *ethylparaben*. Retrieved from pubchem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8434>
- [35]. National Center for Biotechnology Information. (2018, may 21). *Methylparaben*. Récupéré sur pubchem: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methyl_4-hydroxybenzoate#section=Top
- [36]. Pharmacopée. (2010). *pharmacopée européenne*. 8eme édition.
- [37]. Pharmacopée. (2011). Pharmacopée Européenne 7.0. *Qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques et des substances pour usage pharmaceutique non stérile*. chapitre 5.1.5, Europe.
- [38]. Pillou, J. F. (2015). *Azorubine - Définition*. Récupéré sur Santé Médecine - Le journal des femmes: <https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/50236-azorubine-definition>
- [39]. Pillou, J. F. (2016, 17). *Organoleptique Définition*. Récupéré sur le journal des femmes: <https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/21752-organoleptique-definition>
- [40]. Riom, J. M. (2017, 11). *Densité des liquides, solides et gaz*. Récupéré sur lachimie.fr: www.lachimie.fr/definitions/densite.php
- [41]. Rouessac, F., Rouessac, A., & Cruché, c. d. (2004). *ANALYSE CHIMIQUE Méthodes et techniques instrumentales modernes 6e édition*. Paris: Dunod.
- [42]. SAIDAL groupe . (2018). *Notre groupe*. Récupéré sur saidal groupe.dz: <https://www.saidalgroup.dz/fr/notre-groupe/qui-sommes-nous>
- [43]. Sophie, M. (2016, 7 2). *ALIMENTS RICHES EN FRUCTOSE*. Récupéré sur overbloge: <http://intolerance-fructose.over-blog.com/2016/07/aliments-riches-en-fructose.html>

- [44]. Tordjman-VALENCY, I. (2016, sep 28). Défi du dénombrement microbien dans l'industrie pharmaceutique : les nouvelles méthodes alternatives sont-elles appliquées. *thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état*. Grenoble, faculté de pharmacie de Grenoble, France: HAL.
- [45]Ugo, D. (2008). *Evaluation dans un modèle in vitro de quatre nébuliseurs employés chez des enfants sous ventilation mécanique*. (P. A. Pannatier, Interprète) Faculté des sciences , Genève, Pharmacie hospitalière, Suisse.
- [46]. Zeng, M. N. (2015, 04 21). Formulation et caractérisation d'une forme buccale mucoadhésive thermo gélifiante pour administration de sulfate de salbutamol. Paris, Ecole Doctorale - Médicament, Toxicologie, Chimie, Imageries MTCL, France .