

جامعة وهران للعلوم و التكنولوجيا محمد بوضياف

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université des Sciences et de la Technologie d'Oran
« Mohamed BOUDIAF »



Faculté de Chimie
Département de Génie Chimique

POLYCOPIÉ DE COURS
ANALYSE ET CONTROLE DES MEDICAMENTS

Préparé par :

Dr. BOUKRERIS Sadia
Maitre de Conférences B (USTO-MB)

Année Universitaire : 2021-2022

AVANT PROPOS

Le présent polycopié rassemble une variété de cours / TD. Il s'adresse aux étudiants de Master. Ce sont des cours conçus spécialement pour des étudiants en Génie pharmaceutique.

L'objet de ce cours, dispensé aux étudiants de master I en génie pharmaceutique, gravite autour de trois grands chapitres constitués comme suit :

- Un premier chapitre rappelant quelques généralités sur les médicaments, indispensables à l'étudiant en génie pharmaceutique (définition du médicament, composition, dénomination et modes de classification). Viennent ensuite les notions de princeps et de médicament générique, ainsi qu'un léger aperçu sur la contrefaçon des médicaments, telle qu'elle est définie par l'OMS. La stabilité des médicaments est ensuite évoquée ainsi que les différents types de dégradation (dégradations chimique, physique et microbienne). Quelques mesures sont enfin exposées en fin de chapitre ainsi que quelques règles à respecter sur les bonnes pratiques de transport, de distribution et de stockage, afin de garantir la stabilité des médicaments et de préserver leur efficacité et leur innocuité.
- Un second chapitre réservé aux principes de base des principales techniques d'analyse utilisées dans le cadre du contrôle de qualité des molécules actives, tout au long de leurs différentes phases de recherche et de développement (contrôle des matières premières, contrôle *in-process* des produits semi-finis et contrôle du produit fini).
- Un troisième chapitre dans lequel sont exposées les notions de contrôle de qualité des médicaments en général, les principaux référentiels qui définissent les critères assurant un contrôle de qualité optimale des médicaments, la structure d'un laboratoire de contrôle de qualité, ainsi que des rappels détaillés concernant les principales formes galéniques commercialisées (définitions, compositions, avantages et inconvénients, procédés de fabrication et techniques d'analyse utilisées pour le contrôle de leur qualité).

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	1
Chapitre I: Généralités sur les médicaments	
I.1. Définition d'un médicament.....	4
I.2. Composition d'un médicament.....	4
1.2.1. Principe actif.....	4
1.2.2. Excipient.....	5
1.2.3. Conditionnement	5
I.3. Forme galénique	5
I.4. Conservation des médicaments.....	6
I.5. Dénomination d'un médicament.....	7
1.5.1. Nom chimique	7
1.5.2. Dénomination commune internationale (DCI).....	7
1.5.3. Nom commercial	7
I.6. Classification des médicaments	7
I.7. Princeps et génériques	9
I.8. Différentes phases de développement d'un médicament.....	11
1.8.1. Phase de recherche.....	11
1.8.2. Phase de développement.....	11
1.8.3. Phase clinique	11
1.8.4. Phase de mise sur le marché	12
I.9. Contrefaçon des médicaments	12
I.10. Stabilité d'un médicament	13
I.10.1. Introduction	13

I.10.2. Définition	13
I.10.3. Différents types de stabilité.....	13
I.10.4. Différents modes de dégradation des médicaments	14
a) Dégradation chimique	14
b) Dégradation physique.....	15
c) Contamination microbienne	15
I.11. Risques d'instabilité des médicaments	15
I.11.1. Au niveau du site de production.....	16
I.11.2. Au cours de la distribution	16
I.11.3. Pendant le stockage	16
I.11.4. Au moment de l'utilisation ou l'administration	17
I.12. Essais de stabilité	17
I.12.1. Types d'étude de stabilité.....	17
I.12.2. Conditions de conservation	18
I.12.4. Etudes de stabilité en cours d'utilisation.....	20
I.12.5. Etudes de stabilité des produits intermédiaires et vrac	20
I.13. Mesures recommandées	20
I.14. Equipements des études de stabilité.....	20
I.15. Programme de suivi de la stabilité	21

Chapitre II: Techniques d'analyses

II.1. Introduction	24
II.2. Méthodes séparatives.....	24
II.2.1. Chromatographie.....	25
II.2.2. Généralités sur la chromatographie analytique.....	25

II.2.3. Différents modes de chromatographie	26
II.2.4. Chromatogramme	28
II.2.5. Grandeurs thermodynamiques	29
a) Coefficient de partage (K)	29
b) Facteur de capacité (K')	30
c) Notion d'efficacité.....	30
d) Qualité de la séparation	31
II.2.6. Diverses techniques chromatographiques.....	33
a) Chromatographie sur couche mince.....	33
b) Chromatographie liquide (HPLC).....	35
c) Chromatographie en phase gaz (CPG).....	36
EXERCICES DE CHROMATOGRAPHIE	38
II.3. Spectroscopie.....	40
II.3.1. Spectroscopie infrarouge (IR).....	41
II.3.2. Imagerie chimique proche infrarouge	46
EXERCICES SPECTROSCOPIE (IR)	50
II.3.3. Spectroscopie Ultraviolet-Visible.....	52
EXERCICES SPECTROSCOPIE UV-VIS	59
II.3.4. Spectrométrie de masse	61
EXERCICES SPECTRE DE MASSE	72
II.4. Techniques d'analyses volumétriques.....	75
II.4.1. Titrage acide-base	75
II.4.2. Titrage par précipitation.....	79
II.4.3. Titrage par réactions d'oxydo-réduction.....	81

Chapitre III: Contrôle de qualité

III.1. Introduction	85
III.2. Contrôle de qualité	85
III.3. Principaux référentiels	86
III.3.1. Pharmacopées	86
III.3.2. Différents types de pharmacopées	86
III.3.3. Bonnes pratiques de fabrication BPF	87
III.3.4. directives ICH	88
III.4. Usine pharmaceutique	88
III.5. Formes galéniques et leurs contrôle de qualité	91
III.5.1. Comprimés	91
III.5.2. Contrôle de qualité des comprimés	97
III.5.3. Capsules	108
III.5.4. Contrôles des gélules	114
III.5.5. Liquides pour usage oral	116
a) Sirops	116
b) Contrôle des sirops	117
III.5.6. Suppositoires	118
III.5.7. Contrôle des suppositoires	121

Introduction générale

INTRODUCTION GENERALE

Depuis la nuit des temps, l'homme a toujours puisé ses remèdes dans la nature environnante. L'utilisation empirique instinctive de substances d'origines minérale, végétale ou animale, lui a permis, pendant des siècles, de soigner ses plaies, ses blessures et de soulager ses douleurs. Il y a seulement quelques décennies que l'humanité est entrée dans l'ère de la médecine scientifique et de la pharmacologie.

En effet, à partir du XIXe siècle, une nouvelle approche thérapeutique révolutionnaire a vu le jour, et qui marque une véritable rupture dans l'histoire de la thérapeutique et de ses médicaments. Grâce aux progrès de la chimie et de la biologie modernes qui ont conduit à une meilleure compréhension du corps humain, et grâce à l'apparition de procédés de fabrication hautement sophistiqués, les pratiques médicales archaïques et leur pharmacopée traditionnelle ont été supplantées par une médecine scientifique, basée sur l'utilisation de médicaments modernes fabriqués industriellement selon des normes de qualité strictes.

L'innovation thérapeutique est aujourd'hui une longue aventure complexe qui exige la collaboration de nombreuses équipes de recherche, académiques et industrielles. Des scientifiques d'horizons divers (chimistes, pharmaciens, biologistes, médecins et techniciens) se côtoient et interagissent pour l'identification de nouvelles cibles biologiques et la découverte de nouvelles molécules bio-actives. Les progrès scientifiques et technologiques constants accélèrent par ailleurs la mise au point de nouveaux produits et améliorent les procédés de fabrication, tout en augmentant leur efficacité, leur puissance et leur spécificité et en réduisant leurs effets indésirables.

La recherche et le développement constituent les deux activités clés des entreprises du médicament, publiques ou privées, qui investissent massivement pour mettre au point des médicaments innovants, capables de guérir ou de prévenir toutes sortes de maladies.

Le développement d'un nouveau médicament (princeps), de la recherche de la molécule active à la commercialisation, est un long processus qui nécessite plusieurs années de recherche et de gros investissements de la part des industriels de la pharmacie. Le médicament découvert par un laboratoire devient la propriété de celui-ci. Cette propriété est protégée par un brevet qui confère au laboratoire le monopole d'exploitation pendant une vingtaine d'années. Une fois le brevet d'exploitation expiré, tout laboratoire peut produire et commercialiser le médicament générique.

INTRODUCTION GENERALE

La qualité du médicament, princeps ou médicament générique, doit faire l'objet de nombreux contrôles tout au long de la chaîne de production (contrôle des matières premières, contrôle *in-process* des produits semi-finis et contrôle du produit fini). De nombreux protocoles et des techniques d'analyse diverses et complémentaires sont ainsi mis en œuvre pour garantir la conformité réglementaire du produit pharmaceutique et assurer sa qualité, sa sécurité et son efficacité.

Chapitre I :

Généralités sur les médicaments

I.1. Définition d'un médicament

Selon l'article L. 5111-1 du code de la santé publique, le médicament est défini comme suit :

" *Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique* ".

Chaque médicament est caractérisé par son rapport bénéfice / risque et doit être utilisé dans des conditions parfaitement définies dans le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) (*Summaries of product characteristics, SPC**).

I.2. Composition d'un médicament

Un médicament est composé de 3 éléments :

1.2.1. Principe actif

Le principe actif est une substance naturelle ou synthétique possédant une activité pharmacologique responsable de l'action thérapeutique d'un médicament. Les substances naturelles sont d'origine végétale ou animale, alors que les substances de synthèse sont obtenues par des techniques microbiologiques et chimiques (figure I.1)

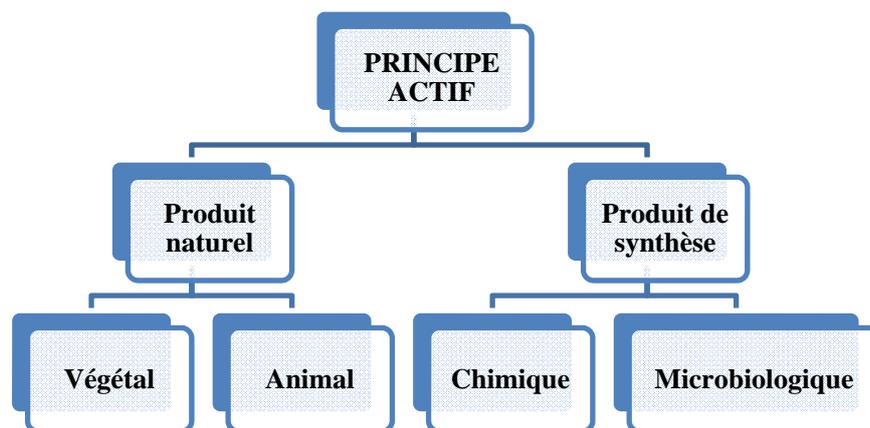


Figure I.1 : Les différentes sources du principe actif

* Le RCP : Document juridique approuvé dans le cadre d'autorisation de mise sur le marché de chaque médicament. Il est la base de l'information des professionnels de santé sur la façon d'utiliser le médicament.

1.2.2. Excipient

L'excipient est une substance auxiliaire, naturelle ou synthétique, inactive par elle-même sur la maladie, pouvant servir à favoriser l'absorption du médicament, à modifier son goût, ou seulement à faciliter sa fabrication.

Exemples d'excipients :

- **Dans les sirops :**
 - *Alcool* (éthanol)
 - *Sucres* (saccharose, lactose, sorbitol,...)

- **Dans les comprimés** (4 sortes d'excipients obligatoires) :
 - *Les délitants* : favorisent la destruction du comprimé dans l'eau ou dans le liquide du tube digestif (amidon ; carboxyméthylcellulose ; mélange effervescent constitué de bicarbonate de sodium et d'acide citrique,...).
 - *Les lubrifiants* : facilitent les étapes de fabrication des comprimés, grâce à leur triple rôle : glissant, anti-adhérent et anti-friction (talc, silice,...).
 - *Les diluants* : excipients de remplissage (lactose, amidon,...).
 - *Les liants* : permettent de lier les particules entre elles jusqu'à utilisation par le malade (gommes, gélatine, amidon, ...).

1.2.3. Le conditionnement

Le conditionnement d'un médicament est l'ensemble des éléments matériels (boîte, étuis, etc.) destinés à protéger ce médicament tout au long de son parcours et qui servent de support d'informations contribuant au bon usage du médicament.

On distingue :

- *Le conditionnement primaire* : directement en contact avec le médicament (tubes pour pommades et gels, flacons pour suspensions, aérosols, ampoules, sachets, ...),
- *Le conditionnement secondaire* : protège et sert de support d'informations obligatoires (boites en carton, étuis, notices, étiquettes et vignettes, ...).

I.3. La forme galénique

La forme galénique (ou forme pharmaceutique) d'un médicament est la présentation physique du médicament (forme sous laquelle sont associés principes actifs et excipients pour constituer un médicament).

Les différentes formes galéniques sont classées par voie d'administration (tableau I.1).

Tableau I.1 : Formes galéniques les plus courantes

Voie d'administration	Formes principales
Orale	Comprimés, gélule, solutions ou suspensions aqueuses
Parentérale	Solutions aqueuses
Rectale	Suppositoires
Ophthalmique	Solutions aqueuses
ORL	Solutions aqueuses pulvérisées ou non
Percutanée	Pommades et solutions

Le choix de la voie d'administration dépend :

- de la biodisponibilité du principe actif.
- de la vitesse d'action désirée, de la durée du traitement et du nombre de prises par jour.
- du type de malade (nourrisson, enfant, adulte).

La voie orale est la voie d'administration la plus normale. C'est celle qui est adoptée pour la plupart des principes actifs ; les trois quarts des prescriptions concernent la voie orale.

I.4. La conservation des médicaments

La température, l'air, l'humidité et la lumière sont des facteurs qui interviennent dans la conservation. Les conditions de stabilité sont différentes suivant les médicaments, qui sont plus ou moins fragiles, et suivant la forme du médicament (comprimé, solution, etc.) ou suivant son mode de fabrication. Il est donc nécessaire de respecter les normes de conservation indiquées sur chaque fiche de ce guide ou sur les notices/étiquettes des fabricants, au cas où elles ne seraient pas concordantes.

Les températures de stockage sont définies par la pharmacopée européenne comme suit:

- Au congélateur : - 15 à 0 °C
- Au réfrigérateur : + 2 à + 8 °C
- Au frais : + 8 à + 15 °C
- Température ambiante : + 15 à + 25 °C

I.5. Dénomination d'un médicament

Chaque médicament possède au moins trois noms :

1.5.1. Nom chimique

Cette désignation est plus complexe que celle des noms commerciaux ou génériques. Le nom chimique correspond à la formule chimique du principe actif. On le retrouve dans la monographie du médicament. Il demeure le même tant pour les originaux que pour les génériques.

1.5.2. Dénomination commune internationale (DCI)

Elle permet à tous les professionnels de santé et aux patients de savoir ce que contient un médicament pour éviter bien des erreurs, des surdosages par exemple. Créée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Chaque DCI est une appellation unique reconnue au niveau mondial et qui relève du domaine public. On parle aussi de nom générique.

1.5.3. Nom commercial

Aussi appelé marque de commerce, nom de marque ou nom de spécialité, le nom commercial est un nom enregistré portant généralement le symbole ® dans la documentation et la publicité. Ces noms sont réservés et ne peuvent être repris par d'autres. Ils peuvent varier d'un pays à l'autre.

Exemple : un biphosphonate intraveineux composé d'acide zolédronique est nommé Aclasta® au Canada et Reclast® aux États-Unis.

Le nom commercial est facile à retenir pour des raisons de marketing.

I.6. Classification des médicaments

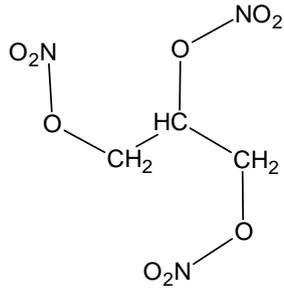
Les médicaments sont classés selon :

- **Leur principe actif naturel ou synthétique**

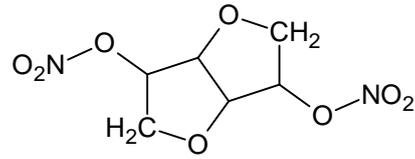
Exemples (principes actifs synthétiques) :

- Principes actifs pour le traitement d'affections cardiovasculaires :

➤ *Les antiangoreux :*

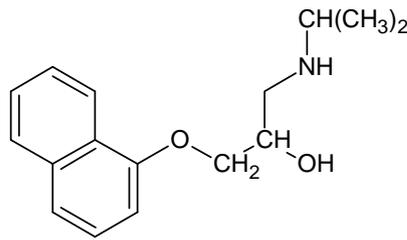


Trinitrate de glycéryle



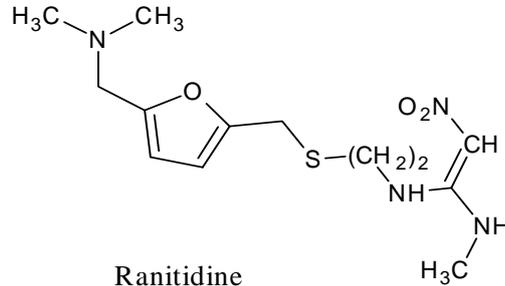
Dinitrate d'isosorbide

➤ *Les antihypertenseurs :*



Propranolol

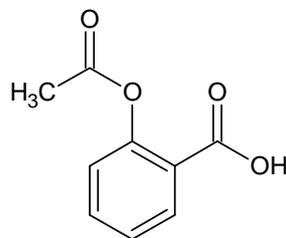
- Principes actifs pour le traitement des pathologies digestives :



Ranitidine

• **Leur nom chimique**

Exemple :



Acide acétylsalicylique (Aspirine)

- **Leur mode d'absorption**

La phase d'absorption est un processus qui consiste au passage d'une molécule dans les liquides circulants (circulation générale) à partir de son site d'administration. De nombreuses voies d'absorption sont possibles :

- Voie immédiate : la substance se retrouve directement dans la circulation générale, comme la voie intraveineuse.

- Voie médiate ou extravasculaires : la molécule doit traverser au moins deux barrières successives, comme les voies digestives, respiratoires, cutanées...).

- **Leur mode thérapeutique**

Exemples :

- Antibiotiques
- Antifongiques
- Antimigraineux
- Gastrologie
- Cardiologie
- Dermatologie
- Rhumatologie
- Antiparasitaires
- Antalgiques
- Anti-inflammatoires
- Pneumologie
- Hématologie
- Ophtalmologie
- Metabolisme

- **Le type de préparation**

- Médicaments officinaux : préparés par un pharmacien à partir d'un « livre de préparation », le codex. Ils sont adaptés à l'individu. Durée de vie courte (ex. dakin).

- Médicaments magistraux : préparés à partir de l'ordonnance du médecin, adaptés à une personne.

I.7. Princeps et génériques

Un *Princeps* est tout médicament découvert ou synthétisé par un laboratoire pharmaceutique et qui est protégée par un brevet qui lui confère le monopole d'exploitation pendant une vingtaine d'année. Le laboratoire donne au médicament un nom de fantaisie (ou nom commercial), et son conditionnement est particulier.

Au moment où le brevet d'exploitation expire, tout laboratoire peut produire ce médicament. Certains laboratoires produisent alors des *médicaments génériques*, désignés par leur *Dénomination Commune Internationale (DCI)*.

Le médicament générique n'est pas la copie conforme du médicament *Princeps*. Des différences peuvent exister telles que la forme d'un comprimé, sa couleur, le goût d'un sirop... Les médicaments génériques ne doivent pas être confondus avec des contrefaçons.

Il existe plusieurs types de médicament générique :

- Les « copie-copie » : médicaments rigoureusement identiques et souvent issues de la même chaîne de fabrication.
- Les Essentiellement similaires : seuls les excipients diffèrent.
- Les médicaments assimilables : la forme chimique du principe actif ou la forme galénique sont différents.

Le médicament générique est moins cher que la spécialité car, d'une manière générale, dans un générique, les coûts du processus *recherche / développement et marketing* sont négligeables et le coût de l'emballage est moindre, d'où un prix de vente beaucoup plus faible (figure I.2).

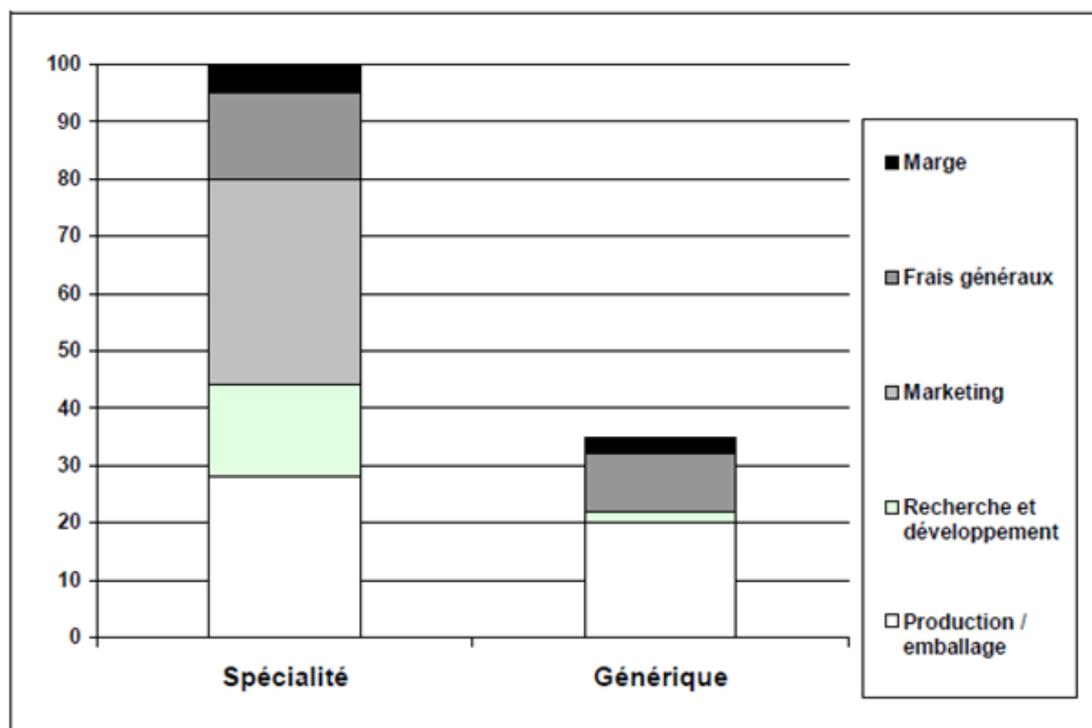


Figure I.2 : Comparaison des prix de revient d'un générique et d'une spécialité

I.8. Différentes phases de développement d'un médicament

Le développement d'un médicament, de la recherche de la molécule active à la commercialisation, nécessite environ quinze ans de recherche et passe par 4 phases principales (figure I.3) :

1.8.1. Phase de recherche

- Identification et caractérisation de la cible thérapeutique (récepteur, canal ionique, enzyme...) potentiellement impliquée dans une pathologie,
- Recherche de nouvelles molécules actives, capables d'agir sur la cible,
- Conversion du mode opératoire de laboratoire produisant quelques grammes en un procédé de fabrication industriel, capable de produire des dizaines de kilos, en respectant les critères de qualité et de pureté.

1.8.2. Phase de développement

- Développement préclinique (criblage pharmacologique ou "*screening*") : chaque molécule préalablement élaborée fera l'objet de tests réalisés au laboratoire, d'abord *in vitro* (sur des cellules en culture), puis *in vivo* (sur des animaux vivants), afin d'évaluer son effet pharmacologique (efficacité et toxicité), avant son administration éventuelle à l'homme. Ceci conduit à la sélection, parmi les milliers de substances élaborées, d'une dizaine de molécules les plus actives, appelées " candidats médicaments ".

- Développement galénique : Recherches visant à associer le principe actif à des excipients, afin de rendre les candidats médicaments administrables sous une forme adaptée (gélule, comprimé, solution pour injection,...).

1.8.3. Phase clinique

Essais cliniques visant à tester chacun des candidats médicaments sur des humains, afin :

- D'évaluer la toxicité de la molécule (sur une centaine de volontaires sains),
- De déterminer la posologie optimale (sur quelques centaines de personnes),
- D'étudier le rapport bénéfice / risque du candidat médicament (sur plusieurs milliers de volontaires atteints de la maladie ciblée). On compare alors le nouveau produit à un *placebo* (produit n'ayant aucune activité thérapeutique) ou à un traitement de référence (produit ayant déjà fait ses preuves), afin de confirmer son effet bénéfique et de prouver son efficacité sur une grande population.

1.8.4. Phase de mise sur le marché

Pour être commercialisé, un médicament fabriqué industriellement doit faire l'objet d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM), délivrée par les autorités compétentes, nationales ou internationales.

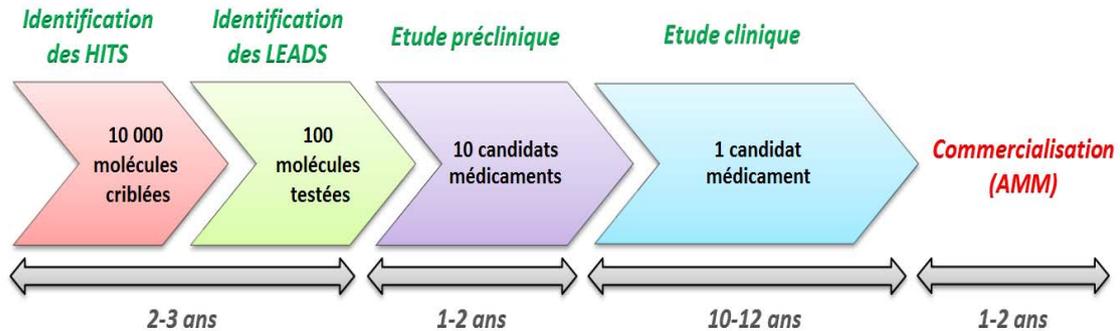


Figure I.3 : Différentes phases de développement d'un médicament

I.9. Contrefaçon des médicaments

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 1992), la contrefaçon d'un médicament est définie comme suit :

« Un médicament contrefait est un médicament qui est délibérément et frauduleusement muni d'une étiquette n'indiquant pas son identité et/ou sa source véritable. Il peut s'agir d'une spécialité ou d'un produit générique et, parmi les produits contrefaits, il en est qui contiennent les bons ingrédients ou de mauvais ingrédients, ou bien encore pas de principe actif, et il en est d'autres où le principe actif est en quantité insuffisante ou dont le conditionnement a été falsifié ».

Les médicaments contrefaits ou médicaments falsifiés ou faux médicaments sont fabriqués avec une intention de tromper (les distributeurs, les autorités, les prescripteurs, les patients, etc.), dans le but de gagner de l'argent. Ils se retrouvent aussi bien dans les circuits formels qu'informels / illicites (figure I.4).

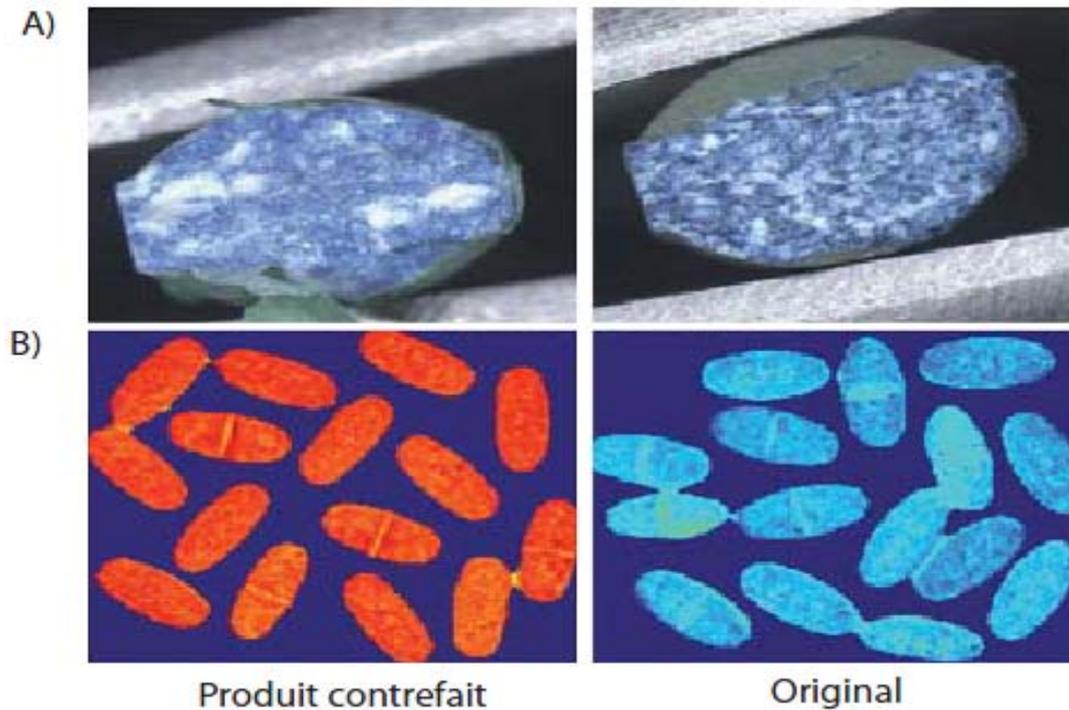


Figure I.4: Exemple d'un comprimé contrefait. A) Photo ; B) Image proche infrarouge

Selon une statistique de l'OMS, la proportion des médicaments contrefaits achetés sur des sites Internet illégaux serait de 50 %. Internet présente toutes les qualités pour assurer aux contrefacteurs une relative impunité, il accélère la pénétration de médicaments contrefaits.

I.10. Stabilité d'un médicament

I.10.1. Introduction

Tous les médicaments sont soumis à des essais de stabilité dans des conditions internationalement reconnues. La durée et les conditions de conservation sont fixées en fonction des résultats de ces essais. Cette stabilité démontrée par les industriels dans le cadre du dossier d'autorisation de mise sur le marché (AMM) doit être assurée pendant toute la durée de validité du médicament.

I.10.2. Définition

Selon l'ICH¹, la stabilité d'un médicament peut être définie comme son aptitude à conserver ses propriétés chimiques, physiques, microbiologiques et biopharmaceutiques dans

¹ **ICH** : Conférence international d'harmonisation pour les exigences techniques pour l'enregistrement des médicaments à usage humain.

les limites spécifiées pendant toute sa durée de validité et pendant son utilisation par le patient.

I.10.3. Différents types de stabilité

Cinq types de stabilité sont définis par la pharmacopée américaine (USP) :

- La stabilité chimique, caractérisée par le fait que chaque substance active conserve son intégrité chimique et son activité dans les limites fixées.
- La stabilité physique, assurée par le maintien des propriétés physiques initiales, y compris l'aspect, la saveur, l'uniformité, ainsi que la dissolution et le pouvoir de remise en suspension.
- La stabilité microbiologique qui réside dans le maintien de la stérilité ou de la résistance au développement microbien dans les limites spécifiées.
- La stabilité thérapeutique qui exclut tout changement de l'effet thérapeutique.
- La stabilité toxicologique qui ne tolère aucune hausse notable de la toxicité du médicament.

I.10.4. Différents modes de dégradation des médicaments

La dégradation d'un médicament au cours du temps correspond à une perte de stabilité du principe actif et/ou des excipients. Elle dépend des caractéristiques physicochimiques des constituants et des conditions de conservation. Elle peut conduire à une diminution de l'efficacité thérapeutique et, parfois, à la formation de produits à l'origine d'effets indésirables ou toxiques.

a) La dégradation chimique

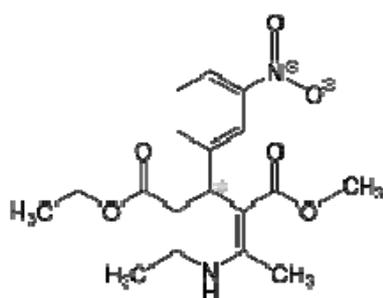
Les principaux processus de dégradation chimique sont :

- *L'hydrolyse* : Il s'agit d'un procédé de solvatation par lequel les médicaments réagissent avec l'eau pour donner des produits de dégradation de composition chimique différente.
- *L'oxydation* : Certains médicaments possèdent des groupes fonctionnels particulièrement sensibles à l'oxydation, tels que les stéroïdes et les stérols, les antibiotiques (amphotéricine B), les phénothiazines et les médicaments contenant un groupement éther (éconazole et miconazole) ; dans la majorité des cas, l'agent oxydant étant l'oxygène moléculaire.

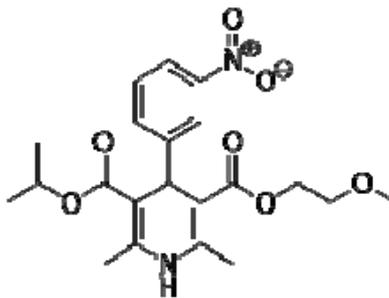
L'oxydation d'une préparation pharmaceutique peut-être accompagnée, entre autres, par un changement de couleur, un changement d'odeur, ou par une précipitation. Des

antioxydants sont généralement ajoutés pour prévenir ou retarder l'oxydation des médicaments.

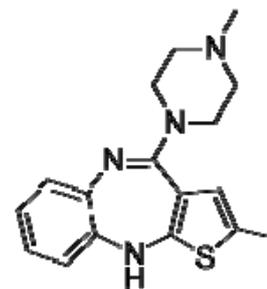
- *La photo dégradation* : Une décomposition du médicament peut survenir lors de son exposition à la lumière. La concentration du principe actif, l'intensité de la lumière et la durée d'exposition sont les principaux facteurs influençant la vitesse de dégradation. La plupart des vitamines sont instables à la lumière. Les principes actifs de nombreux comprimés sont sensibles au rayonnement lumineux :



Nitrendipine



Nimodipine



Olanzapine

b) La dégradation physique

La dégradation physique d'un médicament concerne son aspect, sa consistance, l'uniformité de son contenu, son pH..., ces changements physiques pouvant être dus à des chocs, des vibrations, de l'abrasion ou encore des fluctuations de température.

c) La contamination microbienne

La croissance de germes au sein d'une préparation au cours de sa durée de conservation peut provenir d'une contamination initiale accidentelle non détectée ou d'une contamination lors de la conservation, notamment par perte d'intégrité du conditionnement ou lors de l'utilisation pour les préparations multi-doses.

I.11. Les risques d'instabilité des médicaments

La qualité des médicaments conditionne l'efficacité et l'innocuité des traitements. Pour maintenir cette qualité tout au long de la durée de vie des médicaments, il faut assurer leur bonne fabrication, leur transport ainsi que leur stockage dans des conditions compatibles avec leur bonne conservation. Certains médicaments subissent des dégradations qui peuvent se produire soit pendant la fabrication, soit pendant la distribution et le transport, soit durant la conservation ou au moment de l'administration au malade :

I.11.1. Au niveau du site de production

Le processus industriel peut affecter la stabilité des médicaments. Pendant le broyage ou le séchage par exemple, certains produits peuvent être altérés avec les appareils de broyage. En effet, une grande partie de l'énergie est transformée en chaleur, ce qui engendre une élévation de température pouvant être nuisible aux produits.

Le stockage des produits semi œuvrés en attente d'une autre étape de la fabrication ou des produits en vrac en attente de conditionnement peut présenter un risque d'instabilité de ces produits s'il n'est pas correctement réalisé.

Un autre risque au niveau du site de production, pouvant survenir à toutes les étapes de production du médicament, concerne sa contamination croisée, dont les sources peuvent être liées à des défaillances d'origine technique ou organisationnelle : problèmes de nettoyage, de conception des locaux, de maîtrise des flux ou de vide de ligne.

I.11.2. Au cours de la distribution

Dans le cycle de vie d'un médicament, la distribution constitue un maillon important de la chaîne d'approvisionnement. Ce processus, comprenant l'emballage, le transport et le stockage, doit respecter les exigences qualité des produits de santé et leur intégrité en s'appuyant sur les Bonnes Pratiques de Distribution (BPD).

Pour assurer la stabilité des médicaments au cours de la distribution, il faut mettre en place un transport garantissant le maintien des conditions de température indiquées sur l'emballage extérieur par les fabricants. Tout écart de température ou dommage devra être signalé au distributeur et au destinataire.

I.11.3. Pendant le stockage

Les médicaments doivent être stockés dans les conditions particulières de conservation figurant sur leur conditionnement. Les mesures recommandées sont à respecter afin de maintenir la stabilité des produits.

- Pour les médicaments à conserver entre +2 et 8°C, la conservation s'effectue généralement dans les réfrigérateurs ou les chambres froides.
- Pour les médicaments à conserver à une température inférieure à 25°C, le dépassement ponctuel de quelques jours à quelques semaines de cette température n'a pas de conséquence sur la stabilité ou la qualité de ces médicaments.

- Les médicaments sans mentions particulières sont conservés à température ambiante dans les conditions habituelles de conservation (armoire à pharmacie, entrepôt ventilé).

I.11.4. Au moment de l'utilisation ou l'administration

Certains médicaments peuvent être altérés ou perdre leur stabilité au moment de leur administration. Ceci dit, très peu de médicaments sont à protéger de la lumière lors de l'administration.

I.12. Les essais de stabilité

Les essais de stabilité ont pour but de fournir des données probantes sur la façon dont la qualité d'un principe actif ou d'un produit médicamenteux varie en fonction du temps sous l'effet de divers facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité et la lumière, permettant ainsi de définir les conditions de conservation et de déterminer la durée de validité des produits.

a) Sur le principe actif

- Définir la stabilité intrinsèque de la molécule,
- Identifier ses produits de dégradation,
- Établir une cinétique d'apparition des produits de dégradation,
- Prévenir certaines incompatibilités,
- Déterminer la durée de validité et définir les conditions de stockage.

b) 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,
- Déterminer la durée de validité du produit et de définir, les conditions de conservation pendant le stockage et en cours d'utilisation.

I.12.1. Types d'étude de stabilité

Différents types d'études de la stabilité d'un médicament sont généralement effectués, dont :

- L'étude dans des conditions de stress,
- L'étude dans des conditions accélérées,
- L'étude à long terme.

I.12.2. Conditions de conservation

L'OMS divise le monde en quatre zones climatiques selon leur température moyenne et leur taux d'humidité relative (tableau I.2).

Chaque pays membre est donc classé dans l'une de ces quatre zones en fonction de deux critères : la température annuelle moyenne mesurée à l'air libre et la moyenne annuelle de la pression partielle de vapeur d'eau

Tableau I.2 : Zones climatiques selon l'OMS

Zones climatiques	Conditions d'étude en temps réel	
	Températures (°C)	Hygrométries* (% HR)
Zone I Climat tempéré	21	45
Zone II Climat méditerranéen et subtropical avec possibilité de forte Humidité	25	60 % HR
Zone III Climat chaud et sec	30	35 % HR
Zone IV Climat chaud et humide	30	65 % HR

a) Cas des principes actifs

Tableau I.3 : Stockage dans des conditions générales

Etudes	Conditions de conservation	Durée minimale de l'étude à l'enregistrement
Long terme	30°C ± 2°C 65 % ± 5% HR	12 mois
Accélérées	40°C ± 2°C 75 % ± 5% HR	06 mois

* L'**hygrométrie** est la branche de la météorologie qui concerne la mesure du taux d'humidité de l'air, c'est-à-dire la proportion d'eau à l'état gazeux présente dans l'air. Elle ne prend pas en compte l'eau présente sous forme liquide ou solide.

Tableau I.4 : Stockage au réfrigérateur

Etudes	Conditions de conservation	Durée minimale de l'étude à l'enregistrement
Long terme	5°C ± 3°C	12 mois
Accélérées	30°C ± 2°C 65 % ± 5% HR	6 mois

Tableau I.5 : Stockage au Congélateur

Etudes	Conditions de conservation	Durée minimale de l'étude à l'enregistrement
Long terme	-20°C ± 5°C	12 mois

- **Cas des principes actifs à conserver à moins – 20°C** : Ce type de produit doit être traité cas par cas.

b) Cas du produit fini

Tableau I.6 : Stockage dans des conditions générales

Etudes	Conditions de stockage	Période minimale avant demande d'enregistrement	
		PA connu	PA nouveau
Temps réel	30°C ± 2°C et 65 % ± 5 % HR	6 mois	12 mois
Accélérées	40°C ± 2°C et 75 % ± 5 % HR	6 mois	6 mois

Tableau I.7 : Stockage au réfrigérateur

Etudes	Conditions de stockage	Période minimale avant demande d'enregistrement
Temps réel	5°C ± 3°C	12 mois
Conditions accélérées	30°C ± 2°C	6 mois

Tableau I.8 : Stockage au Congélateur

Etudes	Conditions de conservation	Période minimale avant demande d'enregistrement
Long terme	-20°C ± 5°C	12 mois

Tableau I.9 : Fréquence des épreuves

Etudes en temps réel	La première année	trimestriellement
	La deuxième année	Semestriellement
	Au delà	Annuellement
Etudes accélérées	0, 3 et 6 mois	

I.12.4. Etudes de stabilité en cours d'utilisation

L'objectif des études de stabilité en cours d'utilisation est d'établir une durée de validité et des conditions de stockage d'un produit pharmaceutique multi-dose après ouverture et / ou reconstitution.

I.12.5. Etudes de stabilité des produits intermédiaires et vracs

Ces produits doivent être inclus dans le programme de stabilité, lorsqu'ils sont Stockés ou transportés d'un site à un autre avant de subir le reste des étapes de fabrication afin d'évaluer l'impact de leur conditionnement sur la stabilité du produit.

I.13. Mesures recommandées

Afin de garantir une bonne stabilité des médicaments, il est primordial de respecter les conditions de stockage établies par le fabricant, d'appliquer les règles des bonnes pratiques de distribution et, enfin, d'utiliser ou d'administrer le médicament en tenant compte des précautions spécifiées sur le conditionnement. Les médicaments doivent être transportés, distribués et stockés d'une façon qui assure que ces derniers seront maintenus dans un intervalle de température acceptable, tel qu'il est défini sur le conditionnement.

I.14. Equipements des études de stabilité

Dans le cas des essais en temps réel, les produits sont stockés dans un local spécial appelé " pharmacothèque " ou " échantillothèque " sans équipements particulier, à l'abri des variations d'ambiances excessives. Les essais accélérés quant à eux s'effectuent dans des

étuves ou réfrigérateurs thermostatés, armoires de stabilité, en veillant à laisser une bonne circulation d'air entre les unités (figure I.5).



Figure I.5 : Equipements des études de stabilité

I.15. Programme de suivi de la stabilité

Après la mise sur le marché des médicaments, leur stabilité doit être surveillée selon un programme approprié et continu, permettant la détection de problèmes tels que les changements du taux d'impuretés, du profil de dissolution, ou de tout autre problème relatif à la formulation du produit dans son conditionnement final.

Le principe du suivi de la stabilité est de surveiller le produit pendant toute sa durée de validité et de déterminer s'il demeure toujours conforme aux spécifications définies dans les conditions de stockage indiquées sur l'étiquetage.

Ce programme concerne principalement les médicaments dans leur conditionnement final, comme on peut aussi y inclure les produits vrac. En effet, lorsqu'un produit vrac est stocké pendant une longue période avant d'être conditionné et/ou expédié d'un site de production vers un site de conditionnement, l'impact sur la stabilité du produit conditionné doit être évalué et étudié dans les conditions ambiantes. Le programme doit inclure en outre les produits intermédiaires qui sont stockés et utilisés pendant de longues périodes.

Le programme de suivi de la stabilité doit, par ailleurs, s'appliquer à toute la durée de validité du produit et inclure les paramètres suivants :

- Le nombre de lots par dosage et, le cas échéant, les différentes tailles de lots,
- Les méthodes appropriées de contrôles physico-chimiques, microbiologiques et biologiques,
- Les critères d'acceptation,
- Les références aux méthodes de contrôle,
- La description des conditionnements primaire et extérieur,
- Les intervalles de fréquence des contrôles (échéances d'analyses).
- La description des conditions de stockage (les conditions ICH normalisées pour les essais à long terme, compatibles avec l'étiquetage du produit, doivent être utilisées) ; tout autre paramètre spécifique du médicament.

Le programme de suivi de la stabilité peut enfin être différent de celui des études de stabilité en temps réel décrit dans le dossier AMM.

Chapitre II :

Techniques d'analyses

II.1. Introduction

De nombreuses techniques d'analyses sont généralement utilisées lors du développement d'une nouvelle molécule biologiquement active, aussi bien dans les phases de recherche et de mise au point que pour le contrôle qualité. Ces différentes techniques assurent un procédé de production garantissant la qualité des produits finis et une libération rapide des lots (tableau II.1).

Tableau II.1 : Différentes techniques d'analyses utilisées par l'industrie pharmaceutique

	Recherche et développement	Contrôle qualité matières premières	Validation du nettoyage*	Contrôle qualité produits finis
CCM		X	X	X
HPLC	X	X	X	X
GC		X		X
GC-MS	X	X		
ICP	X	X		
ICP-MS	X			
FTIR	X	X		X
IR	X			X
LC/MS/MS	X			
Analyse thermique	X	X		X
Analyse de particules		X		
Test physico-chimique				X

*** Validation du nettoyage : pour supprimer les risques de contamination d'une étape de production sur la suivante**

II.2. Méthodes séparatives

Les méthodes séparatives permettent de séparer un mélange de composés de natures diverses présents dans un échantillon, selon leur masse, leur charge ou leur densité (figure II.1). Une technique de séparation repose toujours sur l'utilisation d'une différence de propriétés entre le composé d'intérêt à isoler et le reste des substances dans le mélange. La

connaissance profonde des propriétés des différents composants est donc primordiale pour le choix de la méthode la plus adéquate et les paramètres qui garantissent une séparation idéale.

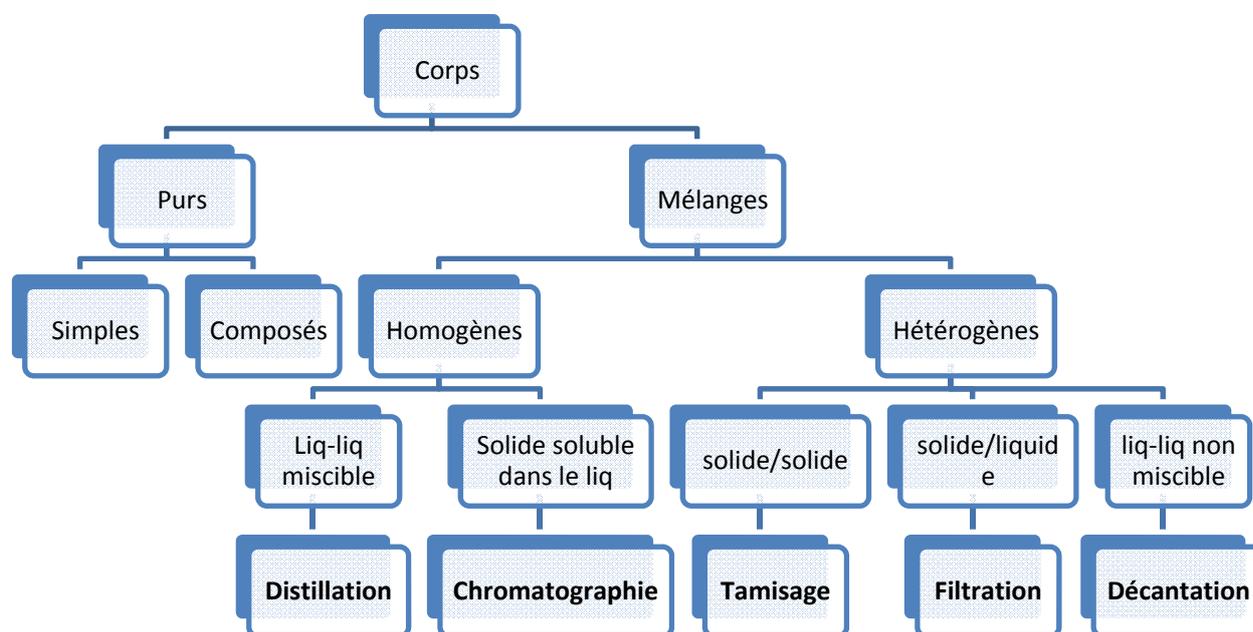


Figure II.1 : Les méthodes séparatives

II.2.1. Chromatographie

La chromatographie est une méthode séparative qui permet l'identification et le dosage des constituants d'un mélange, en se basant sur leurs différences d'affinité entre une phase stationnaire et une phase mobile. Elle sert en analyse pour identifier et quantifier des composés au sein d'échantillons divers. Elle est utilisée aussi bien dans les services de recherche et développement que dans le domaine du contrôle.

II.2.2. Généralités sur la chromatographie analytique

La chromatographie est un procédé physico-chimique de séparation, au même titre que la distillation, la cristallisation ou l'extraction fractionnée, des constituants d'un mélange homogène liquide ou gazeux. Les applications de ce procédé sont donc potentiellement très nombreuses, d'autant plus que beaucoup de mélanges hétérogènes ou sous forme solide peuvent être mis en solution par emploi d'un solvant.

Le principe de base repose sur les équilibres de concentration qui apparaissent lorsqu'un composé est mis en présence de deux phases non miscibles, l'une dite stationnaire, est emprisonnée dans une colonne ou fixée sur un support et l'autre, dite mobile, se déplace au

contact de la première. Si plusieurs composés sont présents, ils se trouvent entraînés à des vitesses différentes, provoquant leur séparation.

L'expérience de base en chromatographie peut être décrite comme suit (figure II.2) :

- On immobilise dans une colonne un solide finement divisé appelé phase stationnaire.
- On place au sommet de cette colonne un petit volume de l'échantillon à séparer.
- On force cet échantillon à traverser la colonne de haut en bas au moyen de la phase mobile afin d'entraîner ses divers constituants. Si les composés présents migrent à des vitesses différentes, ils pourront être recueillis séparément, chacun en solution dans la phase mobile.

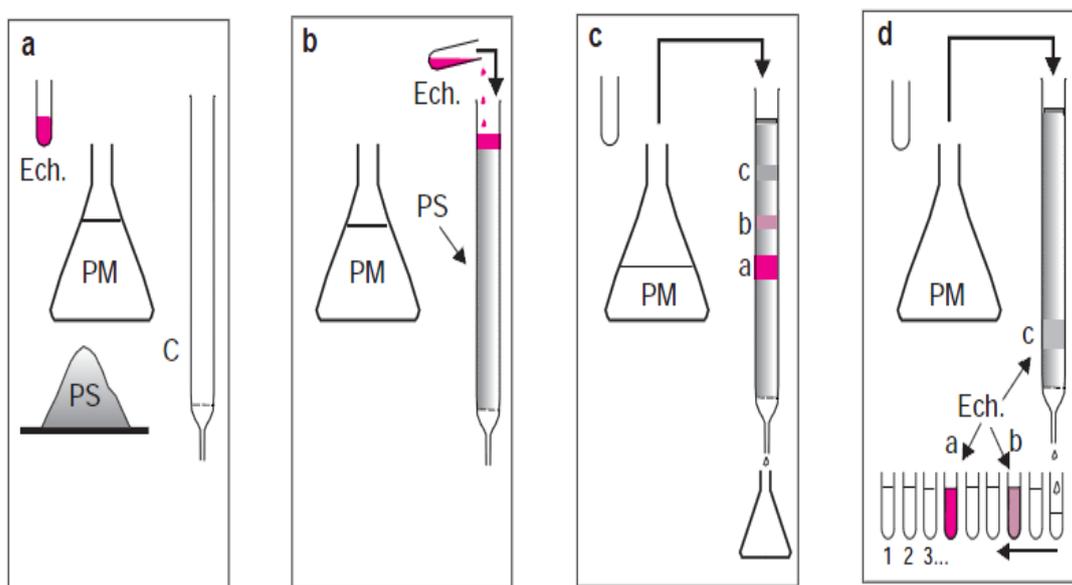


Figure II.2 : L'expérience de base en chromatographie.

a) Les ingrédients nécessaires C, colonne, PS, phase stationnaire, PM, phase mobile et E, échantillon ; b), le dépôt de l'échantillon ; c) le début de l'élution ; d) la récupération des produits après séparation

II.2.3. Les différents modes de chromatographie

Selon la nature de la phase stationnaire et son interaction avec les molécules à séparer, on peut distinguer les modes de chromatographie suivants :

- Chromatographie d'adsorption,
- Chromatographie de partage,
- Chromatographie d'échange d'ions,

- Chromatographie de paires d'ions,
- Chromatographie d'exclusion (séparation selon la taille),
- Chromatographie d'affinité,
- Chromatographie adaptée à la séparation d'énantiomères.

a) La chromatographie d'adsorption

Ce mode de chromatographie met en jeu un mécanisme d'adsorption du soluté sur la phase stationnaire solide et un mécanisme d'éluion (désorption) par la phase mobile liquide ou gazeuse (éluant).

b) La chromatographie de partage

La chromatographie de partage (ou chromatographie liquide-liquide) met en jeu un mécanisme de partition entre solvants que constituent respectivement par la phase stationnaire et la phase mobile. La phase stationnaire peut être constituée par un film liquide (non miscible avec la phase mobile) imprégné sur un support rigide (silice) ou fixé par liaison covalente (phases greffées). Le greffage est réalisé par établissement de ponts siloxane (Si-O-Si).

c) La chromatographie d'échange d'ions

Dans la chromatographie d'échange d'ions, la phase stationnaire comporte des groupements ionisés (+ ou -) fixes ; des ions mobiles de charge opposée assurent l'électroneutralité (figure II.3). Les ions retenus au voisinage des charges fixes sont échangeables avec les ions présents dans la phase mobile.

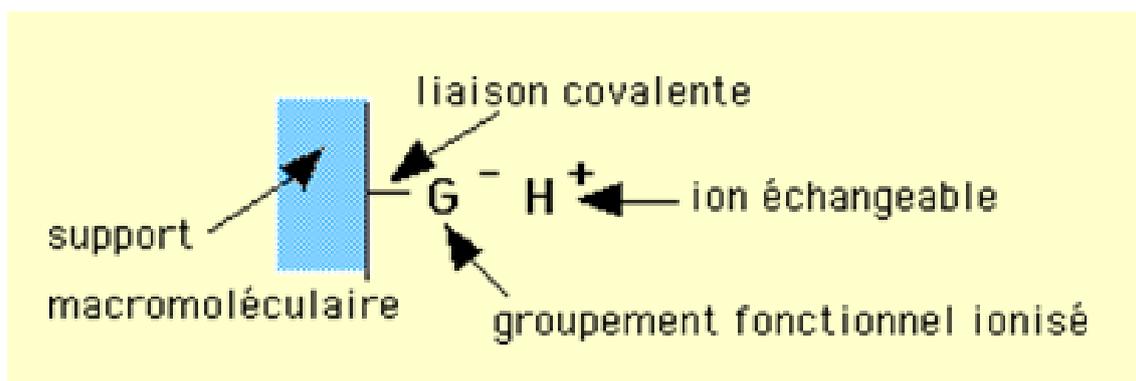


Figure II.3 : Chromatographie d'échange d'ions

d) La chromatographie d'exclusion

La chromatographie d'exclusion est aussi appelée filtration sur gel ou tamisage moléculaire, permet de séparer les molécules suivant leur taille (figure II.4). Elle utilise pour cela des phases stationnaires qui comportent des pores dans lesquels les composés vont

pouvoir diffuser, plus ou moins suivant leur volume. La vitesse de migration d'un composé va donc dépendre, pour une même famille de molécules, de sa masse moléculaire.

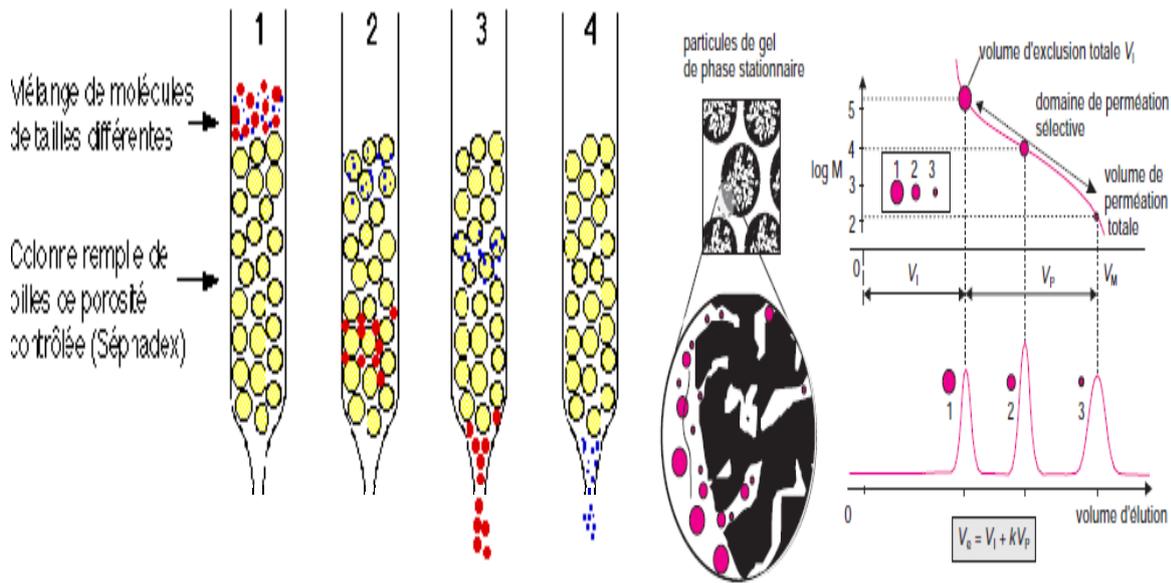


Figure II.4 : Chromatographie d'exclusion

II.2.4. Le chromatogramme

Le chromatogramme est une courbe qui traduit la variation au cours du temps d'un paramètre relié à la concentration instantanée du soluté en sortie de colonne (figure II.5). Le temps (ou très rarement le volume d'élution) est porté en abscisse et l'intensité du signal de détection en ordonnée.

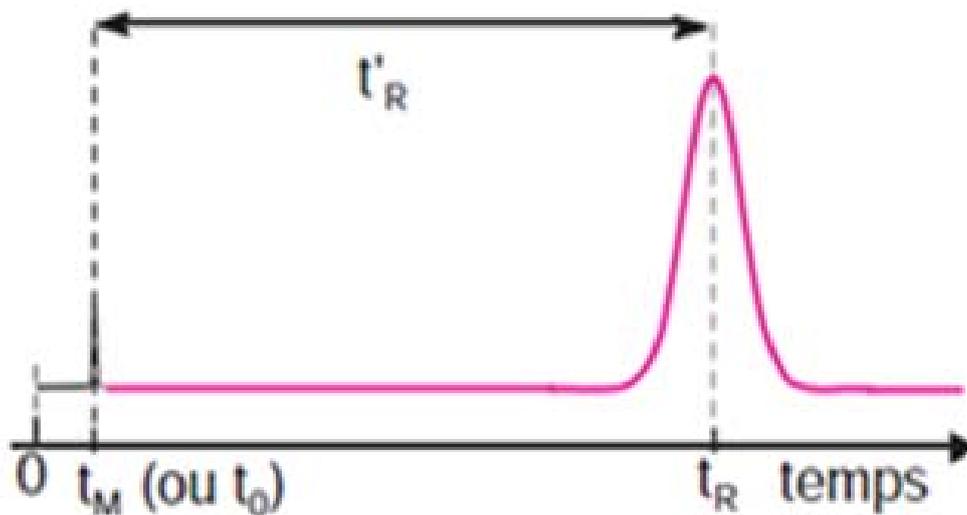


Figure II.5 : Chromatogrammes

a) Temps de rétention

Un constituant est caractérisé par son temps de rétention (t_R), qui représente le temps écoulé entre l'instant de l'injection et celui qui correspond sur le chromatogramme au maximum du pic qui lui est lié. Dans le cas idéal t_R est indépendant de la quantité injectée.

Un constituant non retenu sort de la colonne au temps (t_M), appelé temps mort (désigné également par t_0). La différence entre le temps de rétention et le temps mort est désignée par le temps de rétention réduit du composé (t'_R).

b) Volume d'élution (volume de rétention V_R)

Le volume d'élution (V_R) de chaque soluté représente le volume de phase mobile nécessaire pour le faire migrer d'une extrémité à l'autre de la colonne. Il correspond sur le chromatogramme au volume de la phase mobile qui s'est écoulé entre l'instant de l'injection et celui correspondant au maximum du pic.

$$V_r = t_R \cdot D \quad (1)$$

Le volume de la phase mobile dans la colonne (volume mort V_M) correspond au volume de soluté non retenu par la phase stationnaire. Il peut être calculé d'après le chromatogramme, à condition d'introduire. On peut l'exprimer en fonction de t_M et du débit (D).

$$V_M = D \cdot t_M \quad (2)$$

II.2.5. Grandeurs thermodynamiques

a) Coefficient de partage (K)

Le coefficient de partage (K) est le paramètre physico-chimique de base en chromatographie, qui quantifie le rapport de concentration de chaque composé entre les deux phases en présence.

$$K = \frac{C_S}{C_M} = \frac{\text{concentration du soluté dans la phase stationnaire}}{\text{concentration du soluté dans la phase mobile}} \quad (3)$$

Lorsque le soluté n'a aucune affinité avec la phase stationnaire, C_S est nulle, donc $K = 0$. Le soluté n'est pas retenu dans la colonne.

b) Facteur de capacité (K')

Le facteur de capacité (K') est le rapport de la quantité d'un même soluté, dans la phase stationnaire et dans la phase mobile.

$$K' = \frac{C_S}{C_M} \frac{V_S}{V_M} = K \frac{V_S}{V_M} \quad (4)$$

V_S : volume de phase stationnaire

C_S : concentration du soluté dans la phase stationnaire

V_M : volume de phase mobile ou volume mort

C_M : concentration du soluté dans la phase mobile

K' est aussi le rapport du temps passé par une espèce dans la phase stationnaire sur le temps passé par cette même espèce dans la phase mobile. K' peut être déterminé expérimentalement par l'équation suivante :

$$K' = \frac{t_R - t_m}{t_m} \quad (5)$$

c) Notion d'efficacité

La largeur d'un pic est caractéristique de l'efficacité de la séparation. L'efficacité est mesurée par le nombre de plateaux théoriques (N_{th}) (par analogie avec la distillation) :

d) Plateaux théoriques

En génie chimique, dans une colonne à distiller, on définit un plateau théorique comme étant une portion de colonne d'où les 2 phases sortent en équilibre thermodynamique entre elles. Le nombre de plateaux théoriques (N_{th}) représente l'efficacité de la colonne pour chaque composé.

$$N_{th} = 5.54 \left(\frac{t_R}{w_{1/2}} \right)^2 \quad (6)$$

N_{th} : nombre de plateaux théoriques

t_R : temps de rétention

$w_{1/2}$: largeur du pic à mi-hauteur

e) Plateaux effectifs

Il est plus judicieux d'utiliser le nombre de plateaux effectifs (N_{eff}) puisqu'il dépend vraiment du temps passé dans la phase stationnaire :

$$N_{eff} = 5.54 \left(\frac{t_R - t_m}{w_{1/2}} \right)^2 \quad (7)$$

N_{eff} : nombre de plateaux effectifs

T_R : temps de rétention

t_M : temps mort

$W_{1/2}$: largeur du pic à mi - hauteur

f) Hauteur Equivalente à un Plateau Théorique

Connaissant la longueur L de la colonne et le nombre de plateaux théoriques (N_{th}), on définit une Hauteur Equivalente à un Plateau Théorique (HEPT) :

$$HEPT = L / N_{th} \quad (8)$$

La **HEPT** est fonction de différents paramètres, qui eux-mêmes sont susceptibles de varier avec la vitesse de la phase mobile. En conséquence, l'efficacité calculée par les équations précédentes est fonction de la vitesse de la phase mobile donc du débit.

g) Qualité de la séparation

- *Sélectivité*

On définit la sélectivité comme étant le rapport des temps de rétentions réduits :

$$\alpha = \frac{t'_{Rb}}{t'_{Ra}} \quad \alpha \text{ est toujours } > 1 \text{ car } t'_{Rb} \text{ est } > t'_{Ra} \quad (9)$$

- *Résolution*

Si dans certaines conditions, deux constituants sortent à des temps proches, leurs pics risquent de se chevaucher. En optimisant les conditions analytiques, il est possible d'améliorer l'allure du chromatogramme. Le paramètre de résolution (**R**) quantifie la qualité de cette séparation. Bien qu'on la mesure, en général sur 2 pics contigus, elle peut être calculée sur n'importe quel couple de pics. Pour cela on trace les tangentes aux points d'inflexion et la distance entre les intersections avec la ligne de base correspond à la largeur du pic utilisée pour le calcul.

$$R = \frac{2(t_{Rb} - t_{Ra})}{(W_a + W_b)} \quad (10)$$

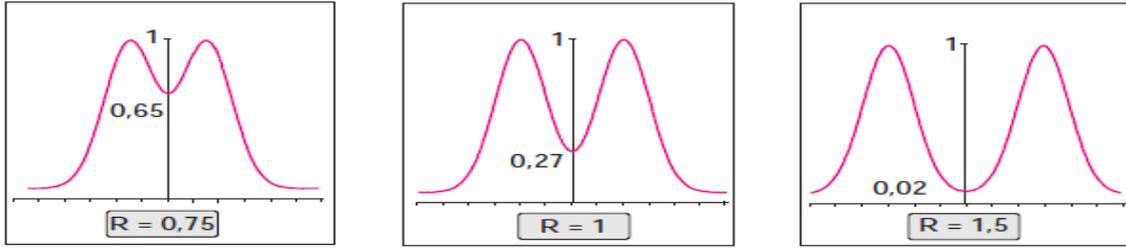


Figure II.5 : Paramètre de résolution (R)

- Si $R < 1$ mauvaise résolution
- Si $1 < R < 1,5$ résolution acceptable
- Si $1,4 < R < 1,6$ résolution optimale
- Si $R > 1,6$ très bonne résolution (car le temps d'analyse est rallongé).

Il est parfois utile d'exprimer la résolution en fonction de la sélectivité et de l'efficacité du dernier des 2 pics intéressants.

$$R = \frac{1}{4} \frac{\alpha-1}{\alpha} \frac{K'_b}{1+K'_b} \sqrt{N_{th}} \quad (11)$$

h) Influence de la température sur la séparation

Le coefficient de partage (K) varie avec la température suivant l'équation classique ci-dessous.

$$\frac{d \ln K}{dT} = \frac{\Delta H}{R T^2} \quad (12)$$

En connaissant la température de l'expérience, on peut déterminer la variation d'énergie libre standard ΔG° de cette transformation :

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K \quad (13)$$

En chromatographie en phase gazeuse, on détermine K à deux températures différentes, il est possible de calculer (en admettant que l'enthalpie et l'entropie n'ont pas changé), les variations d'enthalpie standard ΔH° et d'entropie ΔS° :

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (14)$$

Les écarts de température modifiant les temps de rétention, les appareils actuels permettent de thermostatier la colonne et l'éluant, à la fois pour assurer la répétitivité des

analyses et pour faire intervenir éventuellement la température comme paramètre de séparation.

$$\ln(t'_r) = \frac{A}{T} + B \quad (15)$$

A et B sont des constantes pour un produit donné et une colonne donnée.

II.2.6. Les diverses techniques chromatographiques

Les techniques chromatographiques peuvent être réparties suivant plusieurs critères : en fonction de la nature des deux phases en présence, ou du procédé utilisé, ou du phénomène physico-chimique responsable du coefficient de distribution (**K**).

a) Chromatographie sur couche mince

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une méthode simple et rapide qui permet de suivre l'évolution d'une réaction ou de tester la pureté de composés organiques.

- Principe

La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants (état liquide) et la phase stationnaire est généralement un adsorbant maintenu sur une plaque soit en verre soit en plastique rigide. L'échantillon soit liquide ou solubilisé dans un solvant volatil est déposé ponctuellement sur la phase stationnaire (sur la plaque). Les constituants de l'échantillon sont élués (entraînés) par la phase mobile qui grimpe par capillarité vers le haut de la plaque (figure II.6).

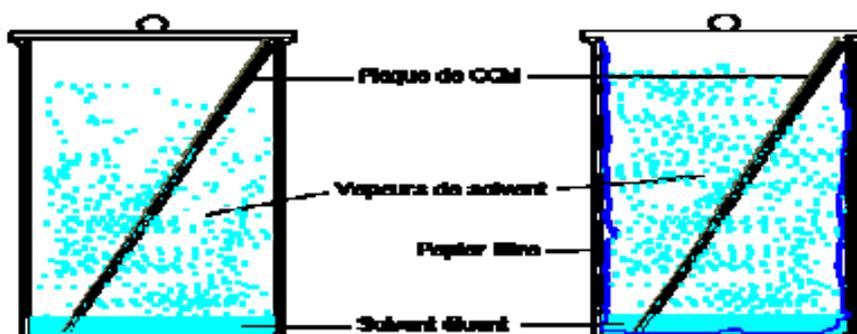


Figure II.6 : Cuves de CCM

Les différents constituants de l'échantillon ne migrant pas à la même vitesse le long de la plaque, on obtient alors dans le cas idéal autant de taches que de constituants sur le trajet de migration du solvant (méthode de séparation).

En dehors du cas particulier où les composés sont visibles à l'œil nu, il existe 2 manières de visualiser les taches.

- Utilisation d'un réactif spécifique de coloration. Comme vous le verrez au cours des manipulations, il est souvent nécessaire de faire réagir après développement, les composés invisibles.
- Utilisation de plaque contenant un matériau fluorescent et visualisation à l'aide d'un éclairage ultraviolet.

Après avoir été révélées, les taches sont marquées au crayon de façon à pouvoir se rappeler de leur position même après qu'elles se soient estompées.

- *Interprétation*

La figure II.7 montre le front de migration par capillarité du solvant à partir de la ligne de dépôt des échantillons. La tache correspond à un produit qui a migré sur une distance (h) alors que le solvant a migré sur une distance (H).

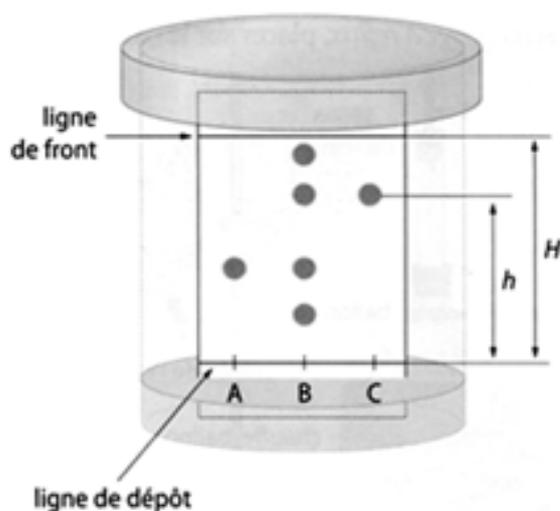


Figure II.7 : Chromatogramme après élution

Le paramètre le plus utilisé pour l'analyse qualitative est le facteur de rétention (R_f). La valeur de R_f est définie par le rapport de la distance parcourue par la substance sur la distance parcourue par le front de solvant soit la relation :

$$R_f = \frac{h}{H} \quad (16)$$

La valeur de R_f est donc comprise entre 0 et 1. Pour obtenir des R_f reproductibles, il est nécessaire d'opérer dans des conditions identiques : composition identique d'éluant, température constante, cuve saturée ...

b) Chromatographie liquide (HPLC)

L'HPLC est l'une des techniques les plus employées dans les laboratoires d'analyse chimiques. Elle permet l'identification, la séparation et le dosage de composés chimiques dans un mélange. Sa grande précision permet la recherche de traces et il est possible de la coupler à un spectromètre de masse. Quatre types sont couramment employés en fonction de la nature de la phase stationnaire.

- Chromatographie d'adsorption
- Chromatographie de partage : c'est la plus utilisée des techniques avec une phase stationnaire apolaire
- Chromatographie d'échange d'ions

A chacune de ces méthodes, il correspond un type de colonne qui est l'élément vital de la chaîne d'HPLC. Elle met en jeu des forces d'adsorption qui vont varier en fonction de la polarité des produits chimiques et selon des isothermes d'adsorption spécifiques. Le choix du solvant d'HPLC va dépendre de la colonne et des composés à éluer et principalement de leur polarité.

- *Appareillage*

L'appareil de la HPLC comprend un système d'introduction du solvant: réservoirs, vanne mélangeuse de solvants, pompe, amortisseur de pulsations, contrôleur de débit et une vanne d'injection dans la colonne qui permet d'introduire la phase mobile en haut de la colonne de manière continue, sans pulsations et avec un débit volumétrique et une pression connues (figure II.8).

Il doit permettre l'utilisation de colonnes de différentes dimensions et fonctionnant dans des conditions variables. Du côté des basses pressions se trouve un détecteur qui doit montrer une grande sensibilité et une réponse rapide. Le fonctionnement optimal de tous les appareils est obtenu à l'aide d'un contrôle informatique.

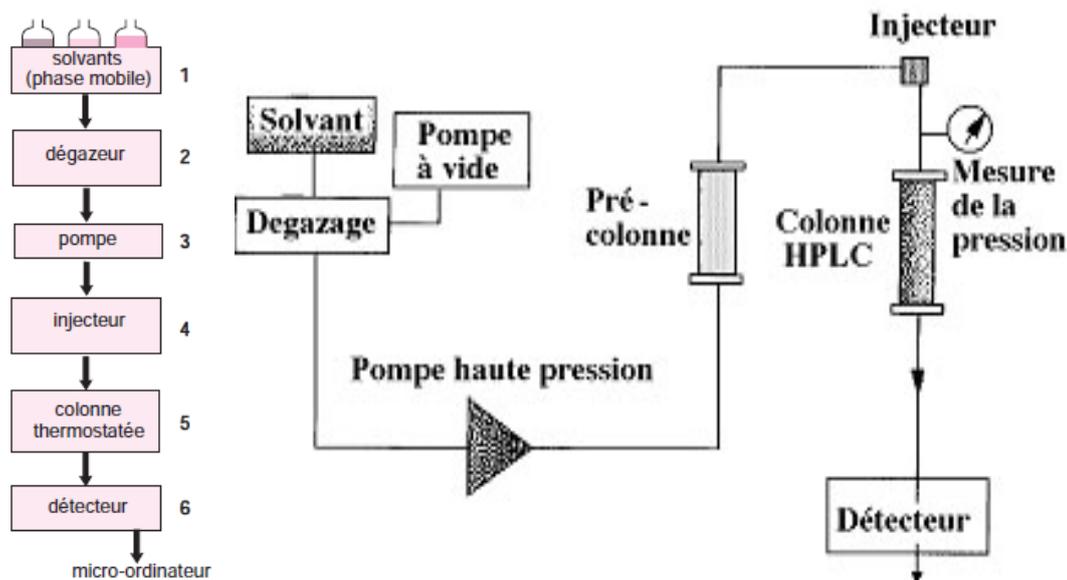


Figure II.8 : Appareil de Chromatographie Liquide à Haute Performance

c) Chromatographie en phase gaz (CPG)

Le concept de Chromatographie en phase gaz a été introduit par *Archer Martin* et *Richard Synge* en 1941 (Nobel Chimie 1952).

Il existe 2 types de CPG :

- Chromatographie gaz-solide : chromatographie d'adsorption, peu utilisée en raison des trainées dans les pics d'éluion provoquées par la non linéarité du processus d'adsorption CGS,
- Chromatographie gaz-liquide, basée sur le partage des constituants à séparer.

- *Principe*

L'échantillon est vaporisé et injecté en tête de colonne. L'éluion est assuré par un flux de gaz inerte qui sert de phase mobile (il doit être chimiquement inerte), sa seule fonction est le transport de l'échantillon dans la colonne. Les gaz utilisés comme phase mobile sont He, N₂, O₂. Son choix dépend du détecteur utilisé.

On obtient un spectre où apparaissent des pics d'intégration proportionnelle à la quantité de produit injecté. Le pic est caractérisé par son temps de rétention, porté en abscisse.

- *Appareillage*

Un appareil de chromatographie en phase gazeuse comporte trois parties : injecteur, colonne et détecteur, à travers lesquels un gaz vecteur entraîne les substances d'un mélange à

séparer (figure II.9). Le gaz vecteur le plus utilisé est l'hélium. Il doit être très pur et surtout ne contenir ni oxygène, ni eau. Le débit du gaz est ajusté par un régulateur.

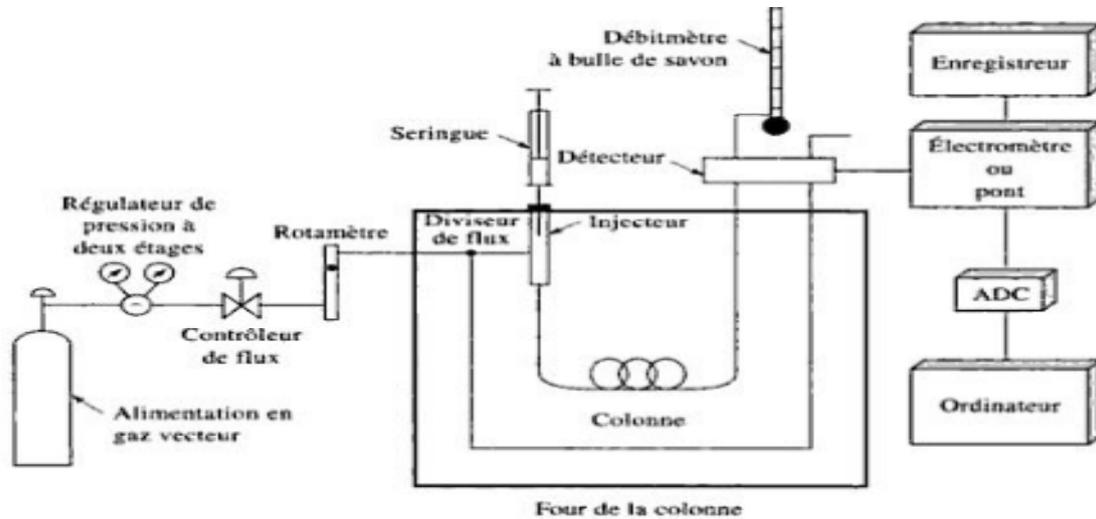


Figure II.9 : Schéma d'un appareil de chromatographie en phase gazeuse

II.2.7. Colonnes pour chromatographie

Il existe deux types de colonnes pour chromatographie, les colonnes remplies (ou colonnes à garnissage) et les colonnes capillaires (figure II.10). Elles n'offrent pas les mêmes performances. Pour les colonnes remplies, la phase stationnaire est immobilisée par imprégnation ou par réaction chimique avec le support poreux. Pour les colonnes capillaires, une faible épaisseur de phase stationnaire est soit déposée, soit greffée sur la surface interne de la colonne.

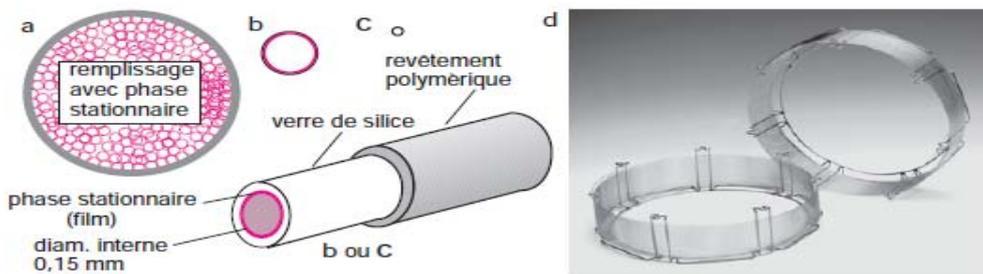


Figure II.10 : Colonnes de CPG

CPG	HPLC
<p>Colonne remplie : diamètre extérieur = 3,18 mm ou 6,35 mm et longueur = 1 à 6 m</p> <p>Colonne capillaire : diamètre intérieur = 0,1 - 0,75 mm et longueur = 25 - 100 m</p>	<p>Le diamètre intérieur des colonnes varie de ~ 4 à 10 mm et la longueur de ~5 à 30 cm</p>

EXERCICES DE CHROMATOGRAPHIE

Exercice 01 :

On a réalisé la chromatographie de deux échantillons (A et B) et d'une référence (M). L'exploitation du chromatogramme a donné les résultats suivants :

- Front du solvant $H = 8,0\text{cm}$
- échantillon A : deux taches situées à 3,0 cm et 4,0 cm de la ligne de base, échantillon B une tache située à 5,0 cm de la ligne de base et la référence M (menthol): $R_f = 0,5$.

- 1) Faire le schéma du chromatogramme.
- 2) La chromatographie a-t-elle mis en évidence des espèces chimiques pures.
- 3) Les échantillons A et B renferme t-il du menthol ?

Exercice 02 :

On mélange dans un erlenmeyer 6 mL de gel de silice et 40 mL d'un solvant contenant en solution 100 mg d'un composé considéré comme non volatil. Après avoir bien agité ce mélange, on laisse décanter et on recueille 10 mL du solvant que l'on évapore. Le résidu pèse 12 mg.

- Calculer le coefficient d'adsorption (K) de ce composé dans cette expérience.

Exercice 03 :

Calculer le facteur de séparation entre 2 composés 1 et 2 dont les volumes de rétention sont respectivement égaux à 6 et 7 mL. Le volume mort de la colonne utilisée est de 1 mL.

Exercice 04 :

Nous étudions une essence sans plomb par chromatographie dans les conditions suivantes : Phase mobile : Hélium et phase stationnaire PDH 150 (150m x 0.25mm) et $\mu = 20\text{cm/sec}$. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Composé	1	2	3	4	5
T_R (min)	48	55.17	63.90	64.59	68.28

- 1) Donner le nom de cette chromatographie.
- 2) Calculer le facteur de rétention.
- 3) Sachant que le pic (4) a une largeur à la base du pic de 40 secondes, évaluer le nombre de plateaux théoriques de cette colonne pour ce composé.
- 4) Calculer la résolution du couple (3/4) sachant que la largeur à la base du pic (3) est de 41 secondes. Conclure.

Exercice 05:

Nous étudions la séparation de trois composés sur une phase stationnaire en silice greffée NH_2 . L'expérience a lieu à $20\text{ }^\circ\text{C}$ avec une pression en tête de colonne de 49.105 Pa . Le débit de la phase mobile est de $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ et la longueur de la colonne est de 15 cm . Le temps mort est de 41 s . La séparation chromatographique a donné les résultats présentés dans le tableau ci-dessous

Nom du soluté	Temps de rétention t_R (min)	Largeur à mi-hauteur $w_{1/2}$ (min)
toluène	1,83	0,08
diéthylphtalate	2,62	0,20
diméthylphtalate	3,23	0,25

- 1) Quel est le mode de séparation chromatographique utilisé ?
- 2) Quel est le type de polarité de la phase utilisé ? Justifiez votre réponse.
- 3) Calculer la vitesse linéaire moyenne de la phase mobile.
- 4) Calculez pour chaque composé : Le facteur de rétention k' et le nombre de plateaux théoriques.
- 5) Les composés sont-ils correctement séparés ? Justifiez votre réponse.

Exercice 06 :

Plusieurs injections du même mélange de composés sont effectuées en isotherme, à des températures différentes sur la même colonne.

A 120°C le composé X qui nous intéresse sort à $15,2\text{ min}$, le t_M est de $0,2\text{ min}$ et à 150°C , ce même composé sort à $10,1\text{ min}$, le t_M est de $0,17\text{ min}$.

Suite à l'interprétation de plusieurs chromatogrammes, il semble que la température de travail la plus adaptée pour séparer les composés qui nous intéressent soit de 132°C .

- A quel temps de rétention t_r devrait sortir le composé X , si $t_M = 0,19\text{ min}$?

II.3. La spectroscopie

La spectroscopie est une méthode qui sert à étudier les interactions entre la lumière (rayonnement électromagnétique) et la matière. Lorsqu'une substance interagit avec une onde électromagnétique, elle provoque des transitions énergétiques (absorption, émission, diffusion), qui sont spécifiques à la nature de cette substance. Elle est utilisée dans de nombreux domaines, tels que la chimie, la physique et la biologie, pour analyser les propriétés de substances, identifier des éléments, ou étudier des phénomènes physiques.

Le rayonnement électromagnétique est une forme d'énergie constituée d'ondes, c'est-à-dire de phénomènes vibratoires caractérisés par : une vitesse de propagation c , une fréquence ν (nombre de vibrations par seconde) et une longueur d'onde λ (distance parcourue pendant une vibration). Ces 3 longueurs sont liées par la relation

$$\lambda = c / \nu$$

Bien qu'il y ait une continuité totale dans les valeurs possibles de longueur d'onde (ou de fréquence), on distingue (arbitrairement) sur cette base des domaines particuliers du rayonnement électromagnétique, comme indiqué sur la figure (II.11).

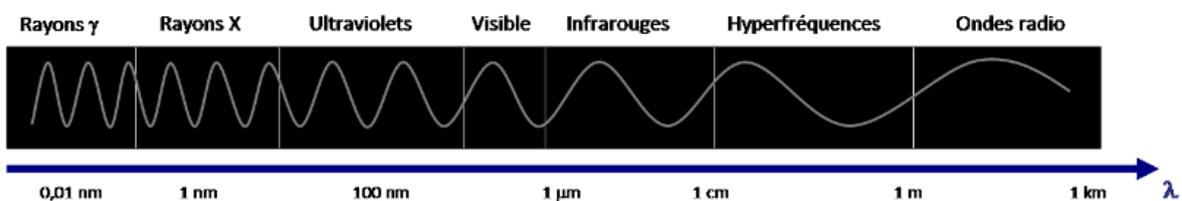


Figure II.11 : Domaines du rayonnement électromagnétique

Un spectre électromagnétique est la décomposition du rayonnement électromagnétique selon ses différentes composantes en terme de fréquence (ν) (ou longueur d'onde λ) ou d'énergie des photons (E), les deux grandeurs étant liées par la constante de Planck (h) :

$$E = h.\nu \quad (17)$$

Un rayonnement peut comporter toutes les fréquences (ou toutes les longueurs d'ondes) dans un intervalle donné. On dit alors qu'il présente un spectre continu.

II.3.1. la spectroscopie infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge (IR) est une méthode analytique utilisée pour identifier les groupes fonctionnels présents dans une molécule et étudier les vibrations de liaisons chimiques. Elle repose sur l'absorption de rayonnement infrarouge par la matière, ce qui provoque des transitions vibratoires au niveau des molécules.

L'infrarouge 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-IR** 1-2,5 μm 13300-4000 cm^{-1}
- **IR moyen** 2,5-25 μm 4000-400 cm^{-1}
- **IR-lointain** 25-50 μm 400-10 cm^{-1}

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.

a) *Principe de la spectroscopie infrarouge*

La spectroscopie IR est basée sur l'interaction de la lumière IR avec le nuage électronique des liaisons chimiques. Généralement dans la majorité des spectroscopies optiques comme la spectroscopie de fluorescence, l'absorption d'énergie permet à un électron d'une liaison chimique de passer d'un état fondamental à un état excité. Dans le cas de la spectroscopie d'absorption IR, le rayonnement émis par la source polychromatique n'est généralement pas assez énergétique pour provoquer des transitions électroniques, mais il induit des transitions entre les niveaux d'énergie vibrationnelle.

L'énergie mécanique d'une molécule isolée résulte de la réunion de trois termes quantifiés indépendants correspondant à son énergie de rotation E_{Rot} , de vibration E_{Vib} et électronique moléculaire E_{Elec} .

$$E_{\text{total}} = E_{\text{vib}} + E_{\text{rot}} + E_{\text{elec}} \quad (18)$$

Les valeurs de ces énergies sont très différentes entre elles. Selon l'hypothèse de Born-Oppenheimer, elles peuvent varier indépendamment les unes des autres.

• **Molécule diatomique**

Les molécules diatomiques (H-H, H-Cl, C=O,...), ne vibrent que d'une seule façon, ils se déplacent, comme s'ils étaient attachés par un ressort, en se rapprochant et s'éloignant l'un de l'autre : c'est la vibration de valence.

On peut donc représenter une molécule diatomique comme étant constituée de deux masses (m_A et m_B) reliées par un ressort de constante de force (k) et de longueur (r), qui se tend et se détend à une certaine fréquence (ν) (figure II.12).

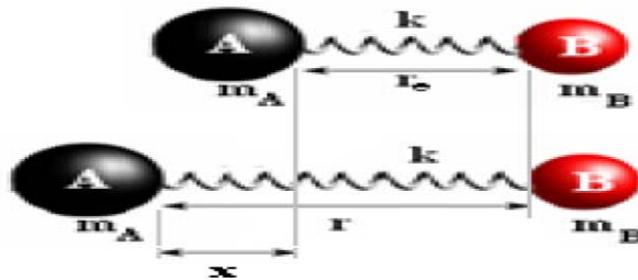


Figure II.12 : Vibration harmonique d'une molécule diatomique

Le modèle mathématique employé est alors celui du vibreur harmonique. Il se compose de deux masses en équilibre à une certaine distance (r_e), toute variation de cette distance x ($x = r - r_e$) génère une force (F) de rappel proportionnelle à (x). (Boule accrochée à un ressort).

La fréquence approchée est donnée par la loi de **HOOKE** (équation 19) dans laquelle μ (kg) représente la masse réduite du système.

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K}{\mu}} \quad (19)$$

La fréquence de vibration ne dépend que des propriétés du système par la constante de force (k) et la masse réduite (μ). Il n'y a qu'une fréquence caractéristique d'un système. Avec deux masses m_1 et m_2 reliées entre elles par un ressort, le calcul équivalent, fait apparaître la masse réduite :

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{m_A} \nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K}{\mu}} + \frac{1}{m_B} = \frac{m_A + m_B}{m_A * m_B} \quad (20)$$

Le nombre d'onde est donné par la relation : $\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c}$ d'où la loi de **HOOKE** :

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{K}{\mu}} \quad (21)$$

Avec la quantification, l'énergie du vibreur se trouve quantifiée selon :

$$E_{vib} = h\nu \left(\nu + \frac{1}{2} \right) \quad (22)$$

(ν) est le nombre quantique de vibration et ν est la fréquence du vibreur qui reste inchangée.

D'où :

$$\nu_{vib} = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{K}{\mu}} \left(\nu + \frac{1}{2} \right) \quad (23)$$

• **Molécules polyatomiques**

Dans le cas de molécules polyatomiques, le nombre de liaisons augmente et la géométrie des liaisons se complexifie. D'après la théorie vibrationnelle, une molécule contenant N atomes a 3N-6 degrés de liberté de vibration et 3N-5 pour les molécules linéaires.

Tableau II.2 : Nombre de modes de vibrations

N atomes	Degrés de liberté	Translation	Rotation	Vibration
Molécule linéaire	3N	3	2	3N-5
Molécule non-linéaire	3N	3	3	3N-6

« Le degré de liberté est le nombre de coordonnées indépendantes nécessaire pour décrire le mouvement d'un objet ».

Exemple : - Molécule diatomique $(3 \times 2) - 5 = 1$ mode normal.

- Molécule triatomique linéaire $(3 \times 3) - 5 = 4$ modes normaux.

- Molécule à 5 atomes non linéaire $(3 \times 5) - 6 = 9$ modes normaux.

Cependant, toutes les liaisons inter-atomiques ne sont pas capables d'absorber de l'énergie lumineuse infrarouge, même dans le cas où la fréquence de la lumière est la même que la fréquence propre de la liaison. Seules les liaisons qui présentent un moment électrique dipolaire oscillant sont actives dans l'infrarouge.

b) Modes de vibrations moléculaires

L'absorption du rayonnement IR par les composés organiques correspond à deux types principaux de vibrations :

- Vibration de valence ou d'élongation (symétrique et asymétrique),
- Vibration de déformation angulaire.

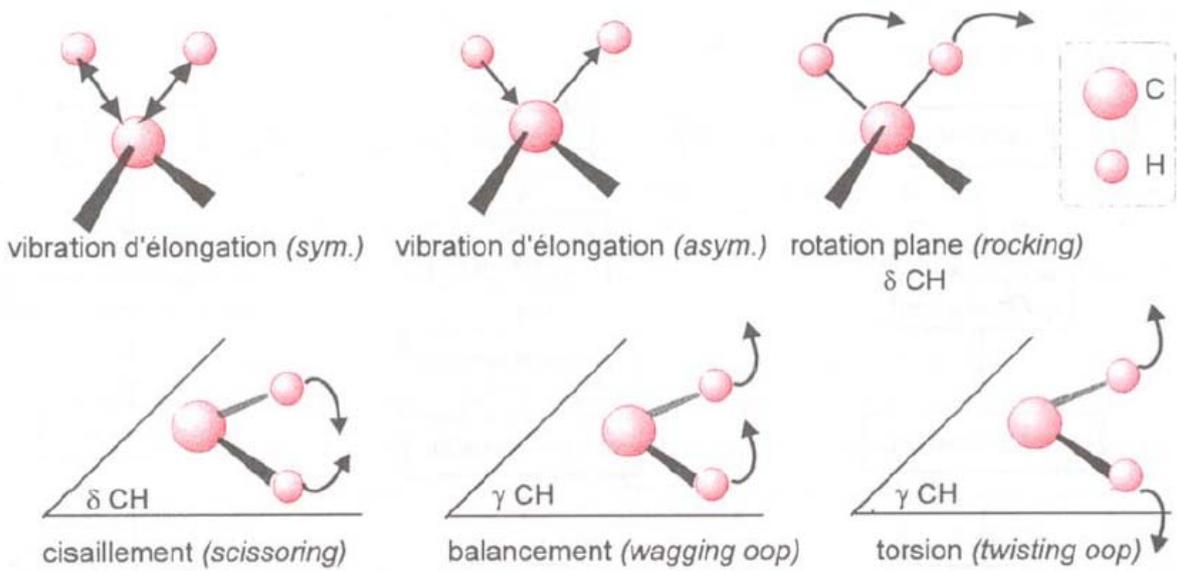


Figure II.13 : Différents modes de vibration par la liaison (C-H)

c) Spectromètres et analyseurs infrarouges

Les instruments se répartissent en deux catégories : les spectromètres à transformée de Fourier qui réalisent une analyse simultanée de toute la bande spectrale à partir de mesures interférométriques et les nombreux analyseurs spécialisés. Dans le proche infrarouge on trouve également encore quelques spectromètres de type dispersif.

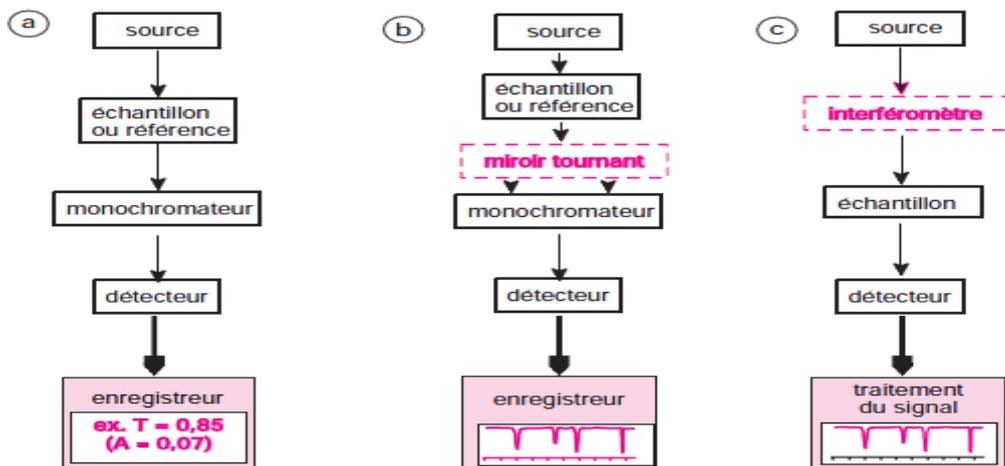


Figure II.14 : Diagramme des spectromètres et analyseurs dans l'infrarouge
 a) Analyseur simple faisceau; b) spectromètre double faisceau de type dispersif;
 c) modèle simple faisceau à transformée de Fourier

- *Spectromètres à transformée de Fourier (IRTF)*

Les spectromètres infrarouges à transformée de Fourier correspondent à un montage optique à simple faisceau qui comporte comme pièce essentielle un interféromètre souvent de type Michelson placé entre la source et l'échantillon.

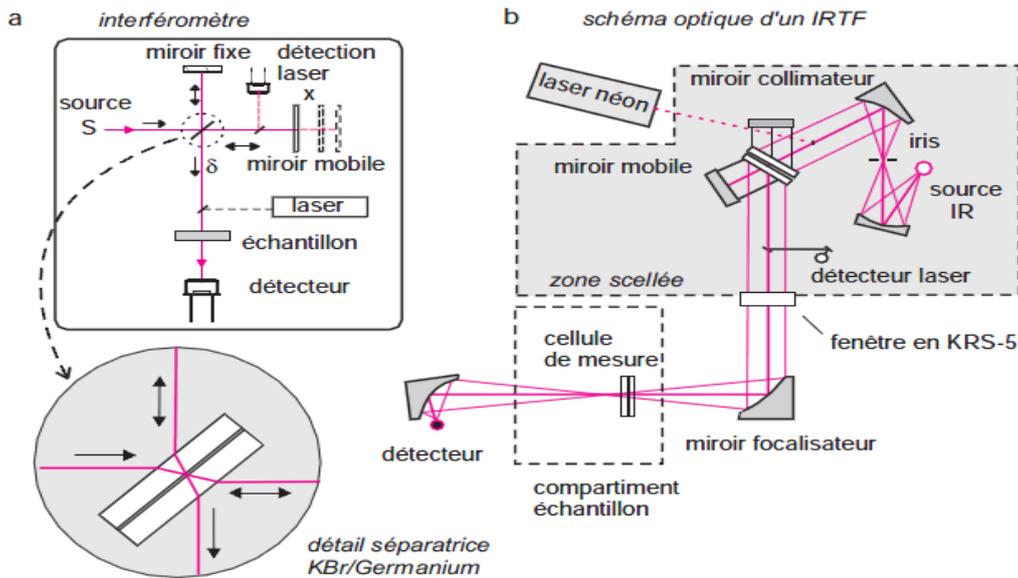


Figure II.15 : Montage optique d'un appareil à transformée de Fourier

IRTF est une technique de mesure pour l'acquisition de spectres infrarouges. Au lieu d'enregistrer la quantité d'énergie absorbée lorsque la fréquence de lumière infrarouge varie (monochromateur), la lumière infrarouge passe au travers d'un interféromètre. Après avoir traversé l'échantillon, le signal mesuré est un interférogramme. Après que le signal a subi une transformée de Fourier, on obtient un spectre identique à celui obtenu par une spectroscopie infrarouge conventionnelle (dispersive).

Les spectromètres IRTF sont moins chers que les spectromètres conventionnels, la construction d'interféromètres étant plus facile que celle de monochromateurs. De plus, la mesure d'un spectre est plus rapide en IRTF car l'information à toutes les fréquences est collectée simultanément (une mesure au moyen d'un appareil dispersif dure par exemple une demi-heure ; elle dure deux minutes avec un appareil IRTF). Cela permet à de nombreux échantillons d'être analysés et moyennés ensemble, ce qui améliore la sensibilité. En raison de ces nombreux avantages, la très grande majorité des spectromètres infrarouges modernes sont des instruments IRTF.

- *Spectre IR*

On distingue 2 zones :

La zone 4000 -1400 cm^{-1} : les bandes de vibrations d'élongation des liaisons couramment rencontrées dans les molécules. C'est la partie à étudier en priorité.

La zone 1400 - 400 cm^{-1} : les bandes de vibrations de déformation angulaire. Cette partie du spectre est très difficile à analyser, elle est appelée « empreinte digitale ».

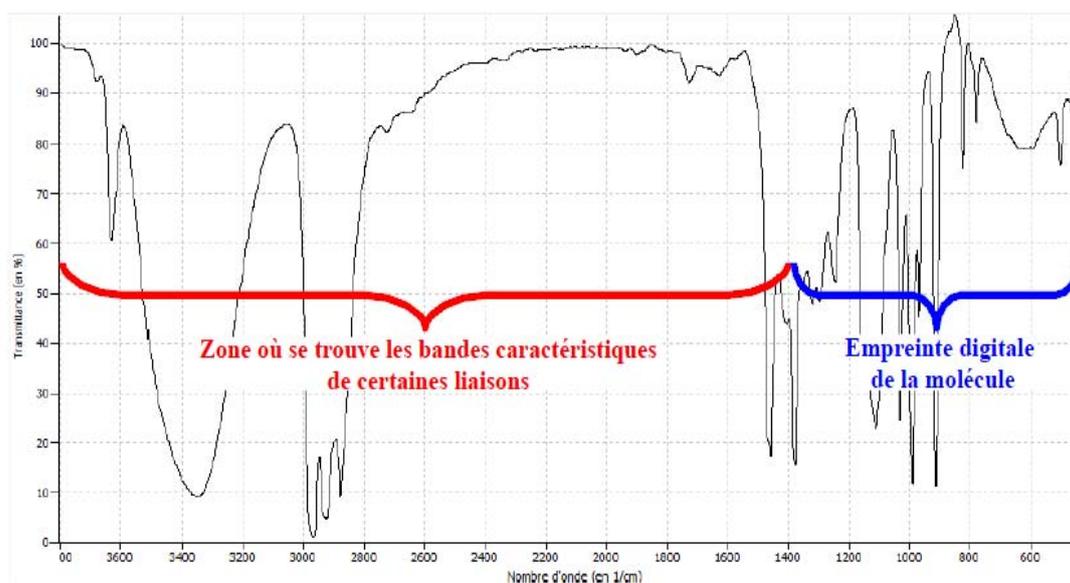


Figure II.16 : Spectre IR

II.3.2. L'imagerie chimique proche infrarouge

La spectroscopie proche infrarouge (SPIR) a prouvé son efficacité pour l'analyse quantitative dans des domaines variés tels que l'agriculture, les industries alimentaires, pharmaceutiques, chimiques et pétrolières. La SPIR est généralement choisie pour sa rapidité, son coût peu élevé et pour son caractère non destructeur de l'échantillon analysé. Enfin, la robustesse de l'instrumentation dédiée à cette technique facilite la réalisation d'analyses sur les lignes de production.

L'imagerie proche infrarouge (PIR) permet l'acquisition de spectres localisés spatialement. Les données acquises ne sont donc pas bidimensionnelles (c'est-à-dire les absorbances en fonction des longueurs d'onde) comme en spectroscopie classique mais tridimensionnelles comme schématisées sur la Figure (II.17). Ainsi, une dimension spectrale λ

et deux dimensions spatiales X Y présentant la distribution des absorbances forment ce qui est appelé un cube de données.

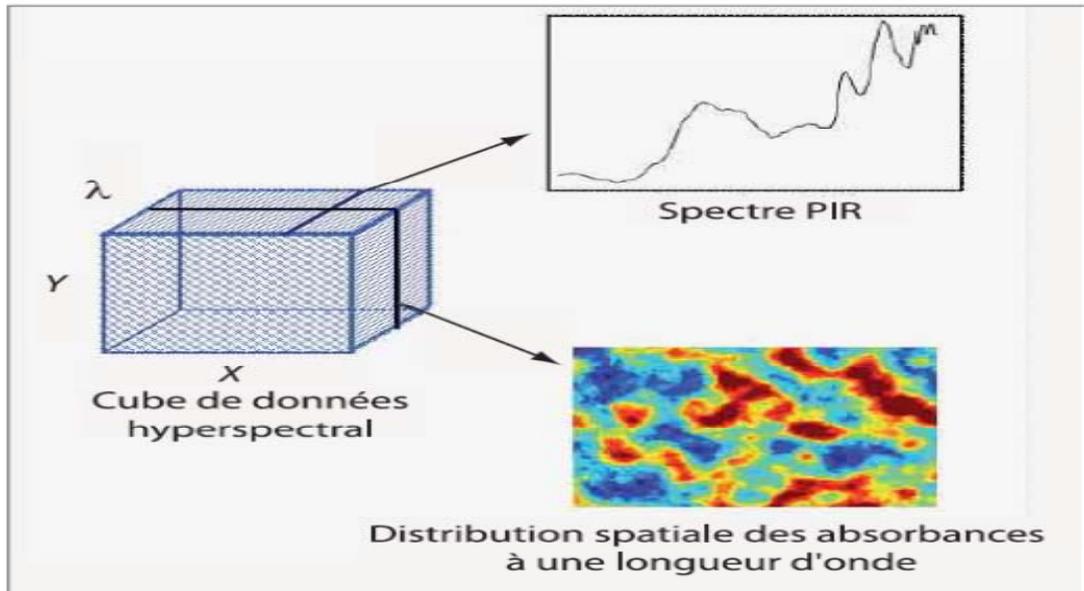


Figure II.17: Schématisation du cube de données acquis par imagerie proche infrarouge.

L'imagerie est une méthode de choix lorsque la distribution spatiale doit être déterminée. Ainsi, cette méthode peut être utilisée par exemple pour vérifier l'homogénéité de mélanges de poudres, identifier des composés présents dans des comprimés pharmaceutiques ou évaluer la taille des particules.

De plus, l'imagerie proche infrarouge permet l'acquisition d'images macroscopiques (grâce à un champ de vision pouvant atteindre plusieurs centimètres) alors que généralement les autres méthodes d'imagerie se limitent à l'échelle microscopique.

- *Principe*

Deux principales techniques d'acquisitions sont utilisées pour obtenir des images hyper-spectrales et générer les cubes de données. La plus ancienne et encore couramment utilisée est la technique dite du « mapping = cartographie ». Chaque spectre est acquis individuellement, les positions spatiales pour les points de mesures étant préalablement définies. L'échantillon est fixé sur une table se déplaçant suivant les directions X et Y.

Le principal inconvénient de cette technique est la durée d'acquisition qui peut atteindre plusieurs heures suivant la surface à analyser et la résolution spatiale choisie (figure II.18).

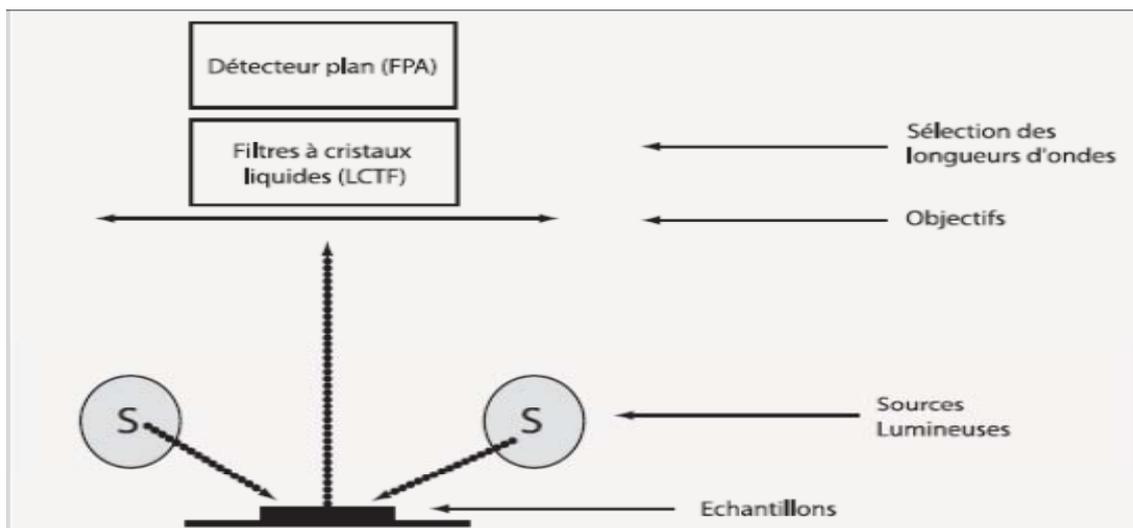


Figure II.18 : Instrumentation. Exemple d'un système d'imagerie proche infrarouge

a) Les applications pharmaceutiques

Les principales applications pharmaceutiques sont l'évaluation de l'homogénéité des mélanges soit visuellement soit par histogrammes. L'imagerie proche infrarouge a aussi été utilisée pour comprendre les différences induites dans les produits quand un paramètre du procédé change. Récemment, la quantification des composés dans des mélanges a aussi été étudiée.

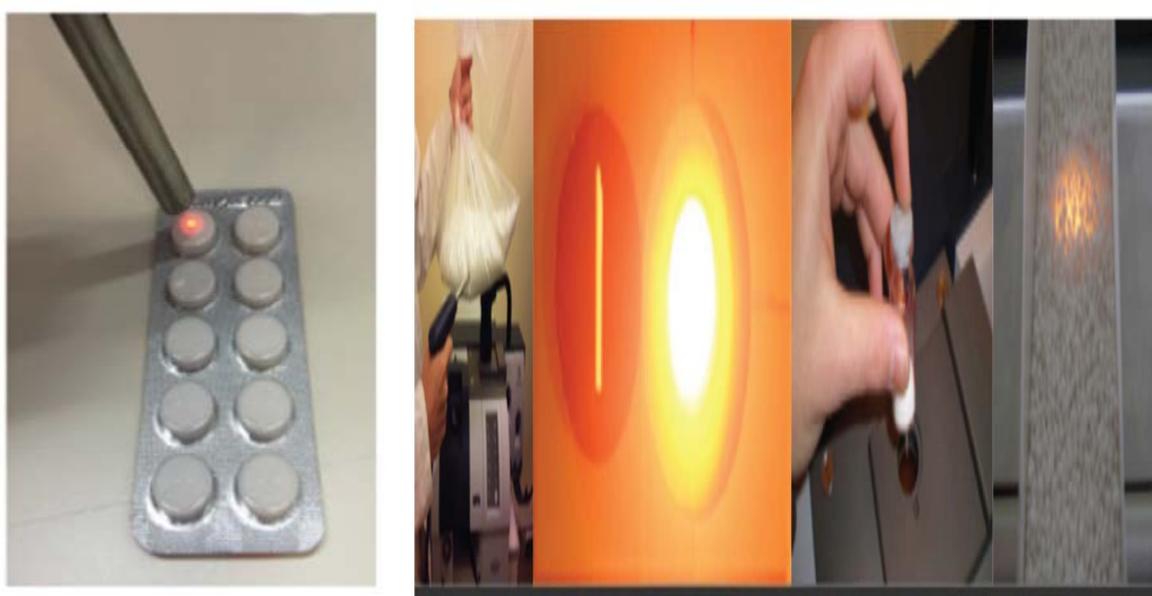
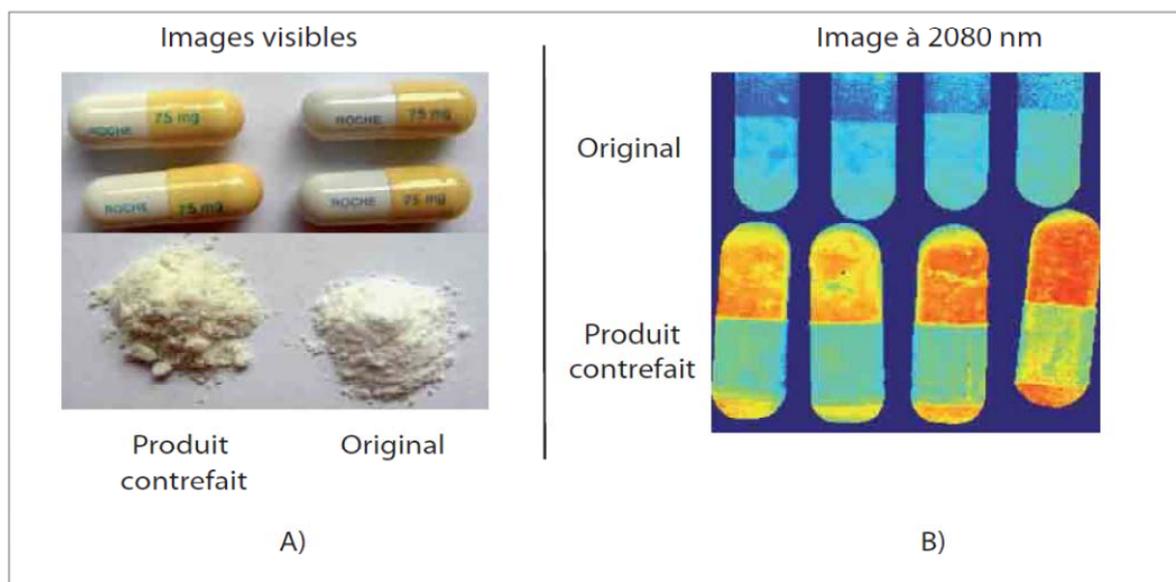


Figure II.19 : Analyse de différentes formes pharmaceutiques

Un autre domaine d'application est la détection de contrefaçons. La Figure (II.20) présente un exemple d'une image à une longueur d'onde du principe actif pharmaceutique ou

CHAPITRE II : TECHNIQUES D'ANALYSES

le niveau des absorbances a été codé en couleurs. On constate que les produits originaux apparaissent en bleu alors que les contrefaçons sont rouges. Cette constatation met en évidence le fait que la contrefaçon ne contenait pas le principe actif pharmaceutique original. Ainsi une analyse simple du cube de données spectrales permet de mettre en évidence des différences de composition chimique.



*Figure II.20 : Exemple de capsules contrefaites
A) Photo ; B) Image proche infrarouge du principe actif*

EXERCICES SPECTROSCOPIE (IR)

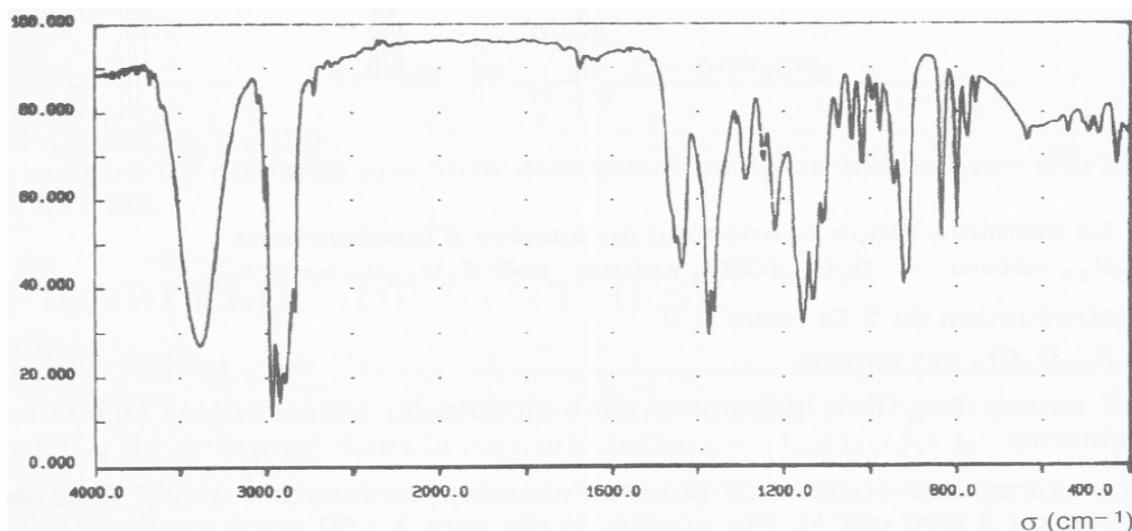
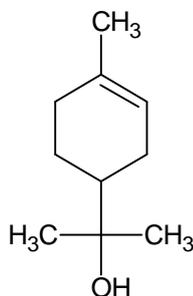
Exercice 01 :

a) Compléter les caractéristiques du rayonnement infrarouge suivant :

Longueur d'onde	Energie (eV)	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Fréquence (HZ)
5μm			
		1650	

Données : $h = 6.63 \cdot 10^{-34} \text{ J.S}$; $c = 3 \cdot 10^8 \text{ ms}^{-1}$.

- b) Le nombre d'onde de vibration entre deux atomes de carbone dans la fonction alcène est $\sigma_0 = 1650 \text{ cm}^{-1}$. Déterminer la constante de force correspondante $k_{C=C}$. Comment évolue cette constante de force entre les deux atomes de carbone dans la fonction alcane et dans la fonction alcyne ?
- c) En considérant qu'une liaison chimique entre deux atomes peut être assimilée à un oscillateur harmonique, calculer le nombre d'onde (en cm^{-1}) de la vibration de valence de la liaison C-N. La constante de force : $k_{C-N} = 480 \text{ N.m}^{-1}$.
- d) Montrer que le spectre IR du terpinéol, présenté ci-dessous, est compatible avec sa formule chimique.

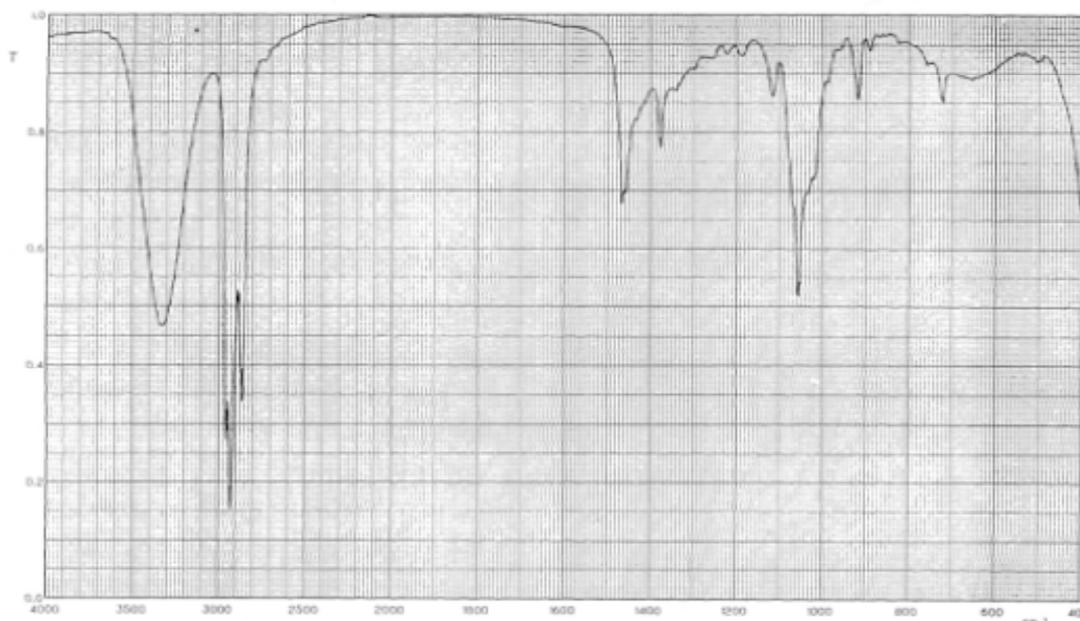


Exercice 02 :

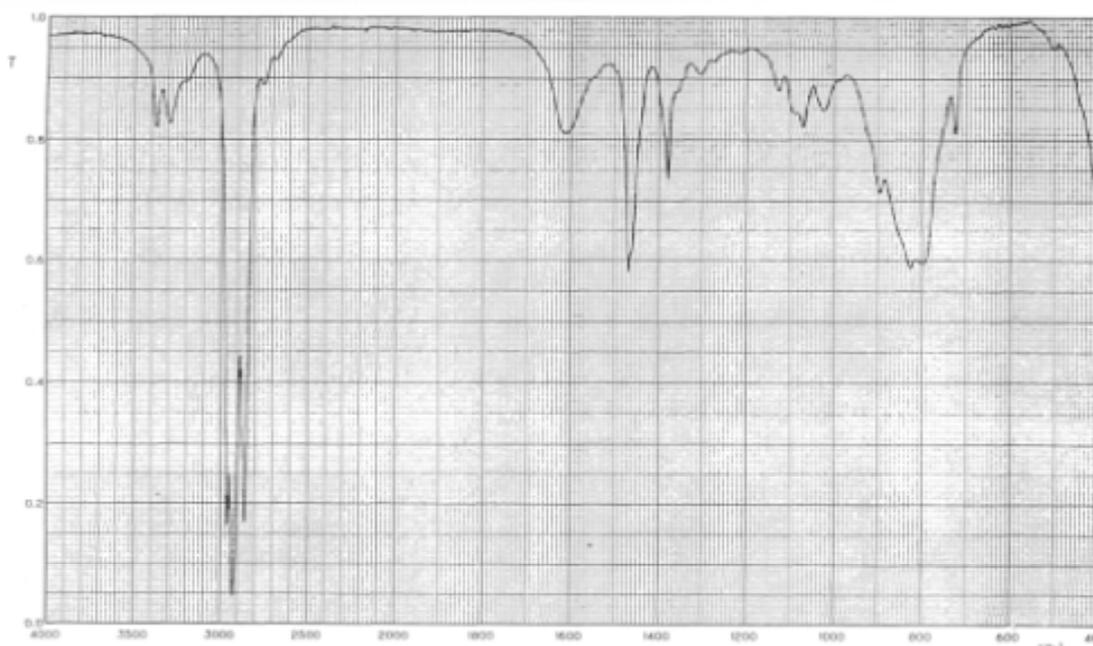
Un composé A de formule $C_nH_{2n+1}O$ et de masse molaire $M_A = 102 \text{ g.mol}^{-1}$ est représenté par le spectre N° 1. Ce composé réagit avec de l'ammoniac pour donner de l'eau et un composé B de masse molaire $M_B = 101 \text{ g.mol}^{-1}$ représenté par le spectre N° 2.

- 1) Interpréter les bandes d'absorption de valence des spectres 1 et 2.
- 2) Identifier les composés A et B.

Spectre 1



Spectre 2



II.3.3. Spectroscopie Ultraviolet-Visible

Le rayonnement électromagnétique rencontré en spectroscopie Uv-Visible possède une *énergie élevée*. Ce domaine spectral est divisé en trois plages de longueurs d'onde :

- Lointain UV : 10-180 nm (10nm = ~1,24 eV).
- Proche UV : 180-400nm.
- Visible : 400-780 nm.

La fenêtre du visible qui s'étend entre 0,4µm et 0,7µm est la seule fenêtre du spectre électromagnétique qui est perceptible par l'œil humain. C'est la portion du spectre qui permet de visualiser les couleurs.

En effet, la lumière blanche émise par le soleil, lorsqu'elle passe à travers un prisme, est décomposée en une multitude de couleurs constituantes, qui vont du violet au rouge en passant par le bleu, le vert, le jaune et l'orange.

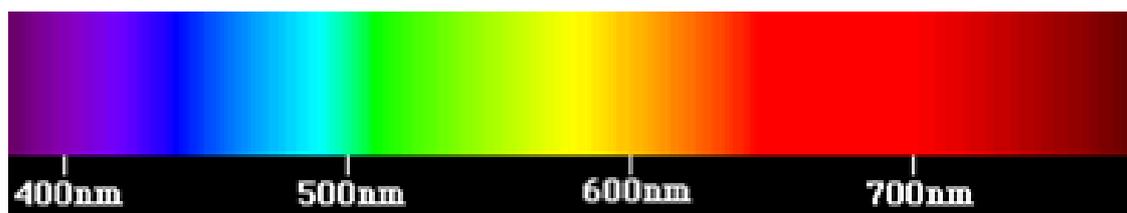


Figure II.21 : Spectre de la lumière visible

Les spectromètres UV/Visible permettent d'obtenir le spectre des composés examinés sous la forme d'un tracé de la transmittance, ou de l'absorbance, en fonction des longueurs d'onde repérées en abscisses.

En optique, la transmittance T est une mesure de l'atténuation d'un faisceau lumineux monochromatique basée sur la comparaison entre l'intensité lumineuse transmise (I) et l'intensité incidente (I_0) selon que l'échantillon est placé ou non sur le trajet optique entre la source et le détecteur. T est exprimée par un nombre fractionnaire ou sous forme de pourcentage :

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (24)$$

a) **Transitions électroniques :**

Ce sont les transitions des électrons des orbitales moléculaires liantes et non liantes remplies vers des orbitales moléculaires anti-liantes non remplies (figure II.21).

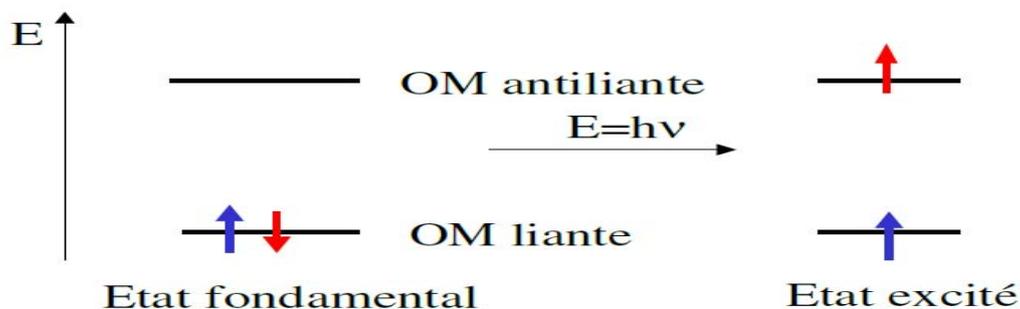


Figure II.22 : Transitions électroniques

- *Transition $\sigma \rightarrow \sigma^*$*

Elle apparaît dans le lointain UV car le saut d'un électron d'une OM liante σ dans une OM anti-liante σ^* demande beaucoup d'énergie. C'est pourquoi les hydrocarbures saturés qui ne présentent que des liaisons de ce type, sont transparents dans le proche UV.

Exemple : *hexane (à l'état gazeux)* : $\lambda_{\max} = 135 \text{ nm}$ ($\epsilon = 10\,000$).

- *Transition $n \rightarrow \sigma^*$*

Le saut d'un électron d'un doublet n des atomes O, N, S, Cl. dans une OM σ^* conduit à une transition d'intensité moyenne qui se situe vers 180 nm pour les alcools, vers 190 nm pour les éthers ou les dérivés halogénés et vers 220 nm pour les amines.

Exemples : *méthanol* : $\lambda_{\max} 183 \text{ nm}$ ($\epsilon = 50$).

- *Transition $n \rightarrow \pi^*$*

Cette transition peu intense résulte du passage d'un électron d'une OM non liante de type n à une OM anti-liante π^* . On la rencontre pour les molécules comportant un hétéroatome porteur de doublets électroniques libres et appartenant à un système insaturé. La plus connue est celle qui correspond à la bande carbonyle, facilement observable, située entre 270 et 295 nm. Le coefficient d'absorption molaire est faible.

- *Transition $\pi \rightarrow \pi^*$*

Les composés qui possèdent une double liaison éthylénique isolée conduisent à une forte bande d'absorption vers 170 nm, dont la position dépend de la présence des substituants hétéroatomiques.

Exemple : *éthylène* : $\lambda_{\max} = 165 \text{ nm}$ ($\epsilon = 16\,000$).

- *Transition $d \rightarrow d$*

De nombreux sels inorganiques, comportant des électrons engagés dans des orbitales moléculaires **d**, conduisent à des transitions de faible absorptivité situées dans le domaine visible, responsables de colorations.

- *Chromophore*: groupement insaturé covalent responsable de l'absorption ($C=C$, $C=O$, NO_2 ,).
- *Auxochromes*: groupements saturés lié à un chromophore et qui modifie la longueur d'onde et l'intensité de l'absorption maximale (OH , NH_2 , $Cl...$).
- *Effet de solvant* :

Chaque solvant a une polarité qui lui est propre. Toute transition électronique modifie la répartition de la charge dans le composé en solution, il est évident que la position et l'intensité des bandes d'absorption vont varier quelque peu avec la nature du solvant employé. Les interactions solvant/soluté sont suffisamment nettes pour reconnaître à quel type de transition électronique on est en présence. On distingue deux effets opposés (figure II.23):

Interaction soluté-solvant \Rightarrow modification du ΔE

- Effet hypsochrome (déplacement du maximum d'absorption vers les courtes longueurs d'onde).
- Effet bathochrome (déplacement vers les grandes longueurs d'onde).

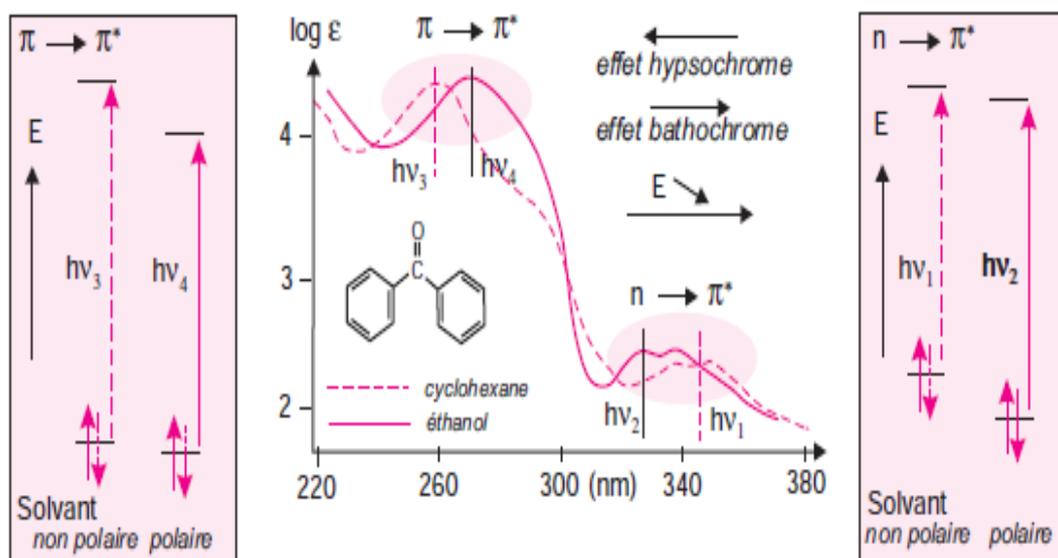
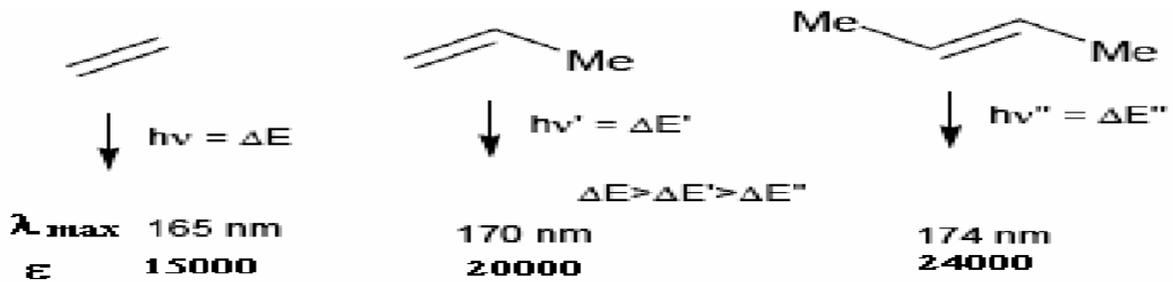


Figure II.23 : Spectres de la benzophénone dans le cyclohexane et dans l'éthanol

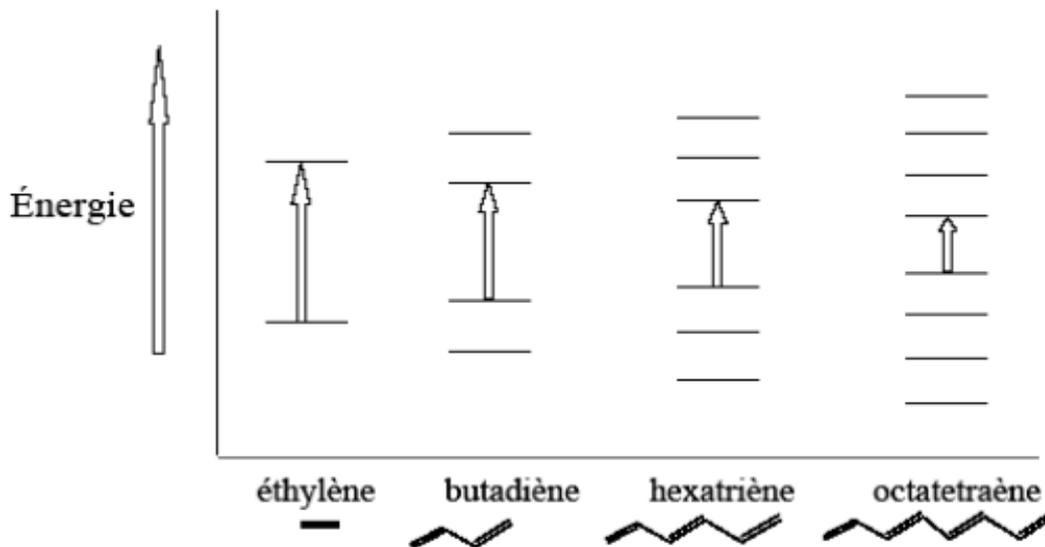
- *Effet de la substitution*

La position de la bande d'absorption dépend de la présence ou non de substituant sur le groupement chromophore. Par exemple, plus le groupe éthylénique est substitué, plus la bande d'absorption due à la transition $\pi-\pi^*$ est déplacée vers le visible : *effet bathochrome*.



- *Effet de la conjugaison*

L'enchaînement d'insaturations entraîne la délocalisation des électrons π . quand les chromophores interagissent l'un sur l'autre, le spectre d'absorption est déplacé vers les grandes longueurs d'onde (*effet bathochrome*) avec augmentation de l'intensité d'absorption (*effet hyperchrome*). Plus le nombre d'atomes de carbone, sur lequel le système conjugué s'étend est élevé, plus l'écart entre le niveau des orbitales frontières diminue.



b) Instrumentation dans l'UV/Visible

Un spectrophotomètre est conçu autour de trois modules : ceux de la source et du système dispersif (souvent conçu comme un monochromateur), qui constituent la partie optique et celui qui est responsable de la détection (figure II.24). L'ensemble est réuni dans un bâti unique. Un compartiment échantillon est inséré sur le trajet optique après ou avant le système dispersif selon la conception du montage.

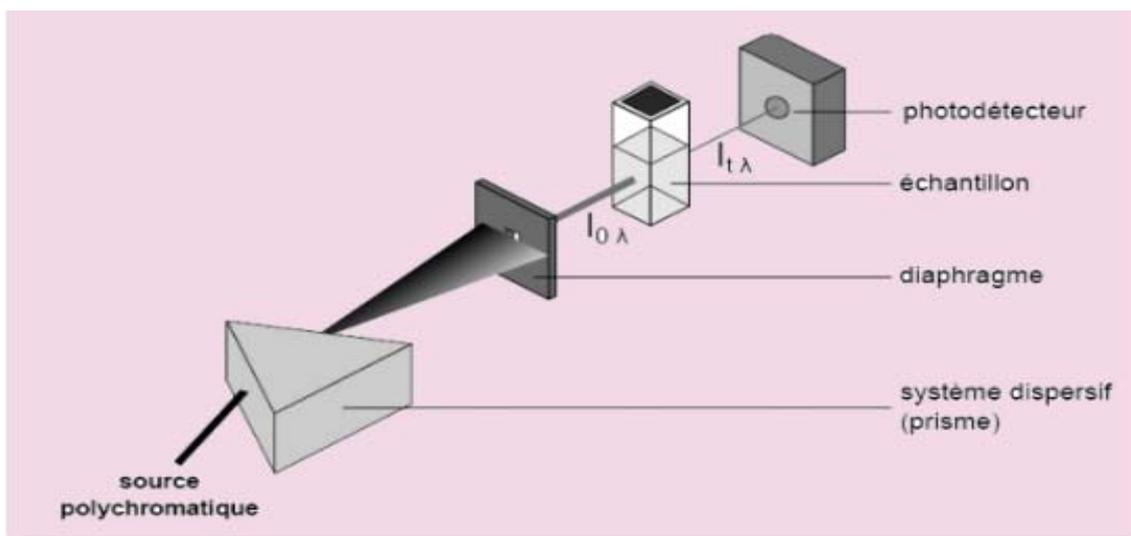


Figure II.24: spectrophotomètre UV-Visible

c) Analyse quantitative (lois de l'absorption moléculaire)

- Loi de BEER et LAMBERT

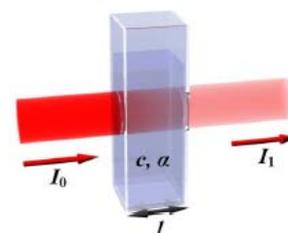
L'UV/Visible est largement exploité en analyse quantitative, depuis fort longtemps dans le domaine du visible. Les mesures reposent sur la loi de **BEER** et **LAMBERT** qui relie dans certaines conditions, l'absorption de la lumière à la concentration d'un composé en solution.

Loi de BEER et LAMBERT $A = \epsilon \cdot l \cdot C$

ϵ : Coefficient d'absorption molaire ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)

C : concentration molaire volumique

l : longueur de la cuve contenant la solution



d) Analyse d'un seul analyte et contrôle de pureté

Pratiquement, on commence par construire une courbe d'étalonnage $A = f(c)$ à partir de solutions de concentrations connues du composé à doser, soumises au même traitement que l'échantillon. Cette courbe, le plus souvent assimilable à une droite pour les solutions diluées, permet de déduire la concentration c_X de la solution inconnue.

On se contente quelquefois de préparer une seule solution étalon. Dans ce cas on prépare une solution de référence dont la concentration C_{Ref} est telle que son absorbance A_{Ref} est légèrement supérieure à celle que l'on attend de la solution inconnue A_X . On applique alors la formule suivante pour calculer c_X :

$$C_X = C_{Ref} \frac{A_X}{A_{Ref}} \quad (25)$$

Cette loi, qui ne concerne que la fraction de la lumière absorbée, est vérifiée dans les conditions suivantes :

- la lumière utilisée doit être monochromatique.
- les concentrations doivent être faibles.
- la solution ne doit être ni fluorescente ni hétérogène.
- le soluté ne doit pas donner lieu à des transformations photochimiques.
- le soluté ne doit pas donner des associations variables avec le solvant.

Pour un dosage, l'absorbance est mesurée à une seule longueur d'onde, on choisit, en général, celle qui correspond au maximum d'absorption (λ_{max}).

D'autre part, pour que l'absorbance reflète correctement la concentration, il faut que la bande spectrale $\Delta\lambda$ qui atteint le détecteur, choisie par le paramètre de l'appareil appelé largeur de fente ou bande passante, soit beaucoup plus étroite (10 fois) que la largeur de la bande d'absorption mesurée à mi-hauteur.

e) Couleurs complémentaires des radiations absorbées

Dans le visible, la couleur de la solution dépend des longueurs d'ondes absorbées. On détermine les couleurs complémentaires grâce à l'**étoile chromatique** (figure II.25). La couleur complémentaire est la couleur diamétralement opposée sur le disque.

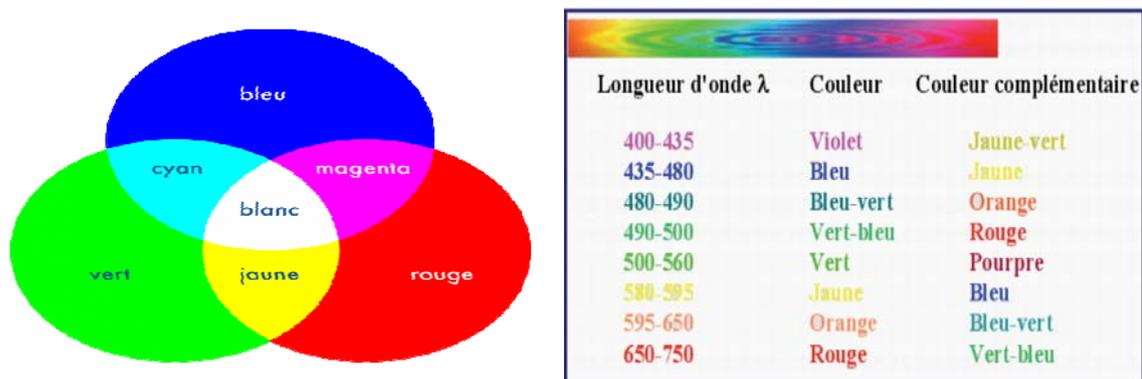


Figure II.25: longueur d'onde associée à une couleur et couleur complémentaire

- Exemple

La solution de permanganate de potassium (KMnO_4) absorbe les longueurs d'onde correspondant au vert (figure II.26). La solution nous apparaît donc magenta (couleur complémentaire du vert) : association de bleu et de rouge.

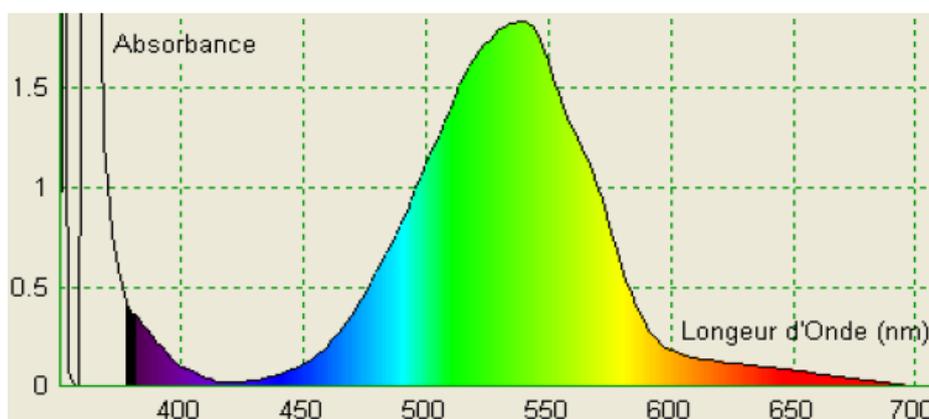


Figure II.26 : Spectre du permanganate de potassium

EXERCICES SPECTROSCOPIE UV-VIS

Exercice 01 :

- a) Une solution aqueuse de permanganate de potassium ($C = 1,28 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) a une transmittance de **0,5** à 525 nm, si on utilise une cuve de **10 mm** de parcours optique.
- 1) Calculer le coefficient d'absorption molaire du permanganate pour cette longueur d'onde ?
 - 2) Si on double la concentration, calculer l'absorbance et la transmittance de la nouvelle solution ?
- b) Une eau polluée contient du chrome ($M = 52 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) à la concentration massique d'environ 0,1 ppm. On choisit, pour son dosage, le complexe Cr^{VI} avec le diphénylcarbazide ($\lambda_{\text{max}} = 540 \text{ nm}$, $\epsilon_{\text{max}} = 41\,700 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$).
- 1) Proposer une valeur du trajet optique de la cuve pour que l'absorbance soit de l'ordre de 0,40.

Exercice 02 :

Le tableau ci-dessous donne les absorbances mesurées de deux peptides A et B avec des solutions de concentrations respectives : $2\cdot 10^{-5}$ et $6\cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ avec des cuves de 1 cm de trajet optique.

Tableau : Absorbances à 260 et 280 nm des peptides A et B.

	A	B
Abs ($\square = 260\text{nm}$)	0.140	0.07
Abs ($\square = 280\text{nm}$)	0.370	0.210

- 1) Calculer les coefficients d'absorption molaire à 260 et 280 nm des peptides A et B.
- 2) Déterminer les concentrations molaires des peptides A et B dans un mélange sachant que son absorbance à 260 nm est de 0,320 et que son absorbance à 280 nm est de 0,860.

Exercice 03 :

À l'aide d'un spectrophotomètre, on réalise une série de mesure d'absorbance A de solutions de violet cristallisé, à la longueur d'onde $\square_{\text{max}} = 580 \text{ nm}$. La cuve a une épaisseur $b = 1 \text{ cm}$. On obtient les résultats suivants en fonction de la concentration

CHAPITRE II : TECHNIQUES D'ANALYSES

massique C_m des solutions :

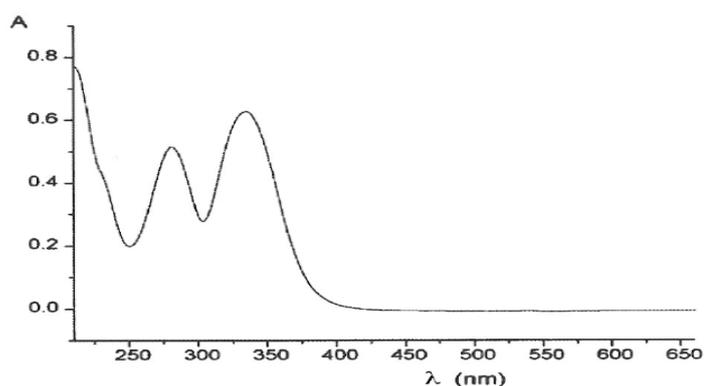
C_m (mg/l)	0.6	1.5	2.4	3	4.5	6
A	0.095	0.25	0.42	0.515	0.775	1.04

Données : violet cristallisé $C_{25}H_{30}N_3$; $M = 408,19 \text{ g.mol}^{-1}$.

- 1) Montrer que la loi de **BEER-LAMBERT** est vérifiée pour cette série de solutions.
- 2) Déterminer la valeur du coefficient d'absorption molaire du violet cristallisé.
- 3) La mesure de l'absorbance d'une solution de violet cristallisé de concentration inconnue, réalisée dans ces conditions, donne $A' = 0,531$. Calculer la concentration molaire C' et la concentration massique C'_m de cette solution.

Exercice 04 :

L'étude par spectrophotométrie UV-Visible d'une molécule extraite d'une plante



orientale
à des
propriétés
anti-
inflammatoire
a donné le
spectre

suivant :

On désire effectuer une gamme d'étalonnage afin de doser le produit. La gamme d'étalonnage doit contenir 5 points (plus le blanc) dont les concentrations sont régulièrement réparties entre 0 et 20 \square g/l. (une solution étalon à 100 \square g/l). Par mesure

spectrophotométrique

à la longueur d'onde, on obtient les résultats suivants :

C ($\mu\text{g/l}$)	0	4	8	12	16	20
Abs	0	0.220	0.436	0.651	0.867	1.082

- 1) Déterminer la longueur d'onde d'absorption maximale de la molécule, ainsi que le type de cuve à utiliser.
- 2) Tracer la courbe d'étalonnage.
- 3) Déterminer la concentration du produit pour une absorbance égale à 0,498.

II.3.4. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse (**SM**) désigne une méthode de caractérisation de la matière. C'est une technique d'analyse physico-chimique permettant de détecter, d'identifier et de quantifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse.

a) Principe de base :

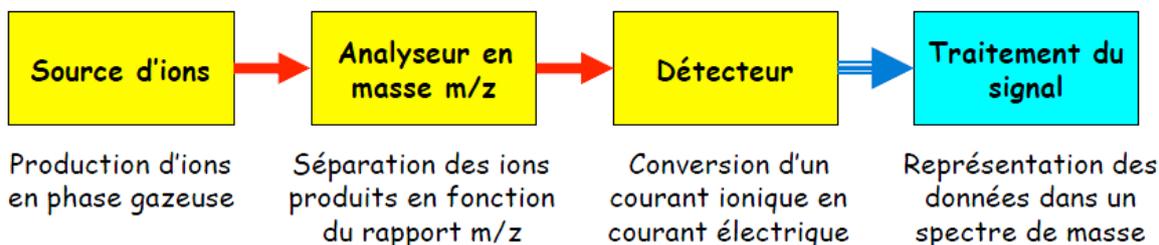
La spectrométrie de masse est basée sur la détermination des masses des molécules ou atomes présents dans l'échantillon étudié. Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport **masse/charge** (**m/z**). De plus, la spectrométrie de masse permet de caractériser la structure chimique des molécules en les fragmentant.

Le concept de la méthode apparaît dans la succession d'étapes auxquelles l'échantillon est soumis :

- **Ionisation** : l'échantillon porté sous forme de gaz ou de vapeur est ionisé dans la source de l'appareil. De nombreux procédés sont utilisables pour cette première étape. À ce stade, tout composé formé de molécules conduit à un mélange statistique d'ions de fragmentation.
- **Accélération** : les ions formés sont extraits de cette partie de l'appareil, focalisés et accélérés par des lentilles électroniques, pour accroître leur énergie cinétique.
- **Séparation** : les ions sont alors « filtrés » suivant leur rapport masse/charge par l'analyseur, certains appareils combinant plusieurs types d'analyseurs en série.
- **Détection** : après séparation, les ions terminent leur course en venant frapper le capteur d'un détecteur dont le signal est proportionnel aux charges des ions reçus.
- **Affichage** du spectre de masse issu du traitement du signal envoyé par le détecteur.

b) Spectromètre de masse

Un spectromètre de masse comporte trois parties:



L'échantillon est vaporisé, puis ionisé par un bombardement d'électrons. Les cations formés sont accélérés par un champ électrique (2 électrodes), suivi par une déflexion des ions par un champ magnétique (2 électroaimants). Le détecteur enregistre les collisions entre sa plaque et les ions de masses connues (figure II.27).



Figure II.27 : Appareil d'un spectromètre de masse

Le bombardement des molécules au moyen d'électrons de haute énergie, atteignant habituellement **70 éV ou 6750 kJ**, convertit quelques molécules en ions. Le taux d'ionisation est très faible, d'environ **1%**. Les potentiels d'ionisation des molécules varient d'environ **10 à 14 éV (965 à 1350 kJ)**. L'énergie des liaisons chimiques varie de **~ 4 à 5 éV (386 à 480 kJ)**. Le potentiel appliqué est habituellement de 70 éV, donc suffisamment grand pour ioniser les molécules et rompre les liaisons. La séparation de ces ions accélérés se fait dans un champ électrique ou magnétique selon leur rapport masse/charge.

En général on ne peut pas localiser la charge et c'est pour cette raison que les crochets [] sont utilisés.

c) Spectre de masse

Le spectre de masse est un diagramme qui représente, l'intensité relative en fonction de du rapport (m/z) (figure II.28).

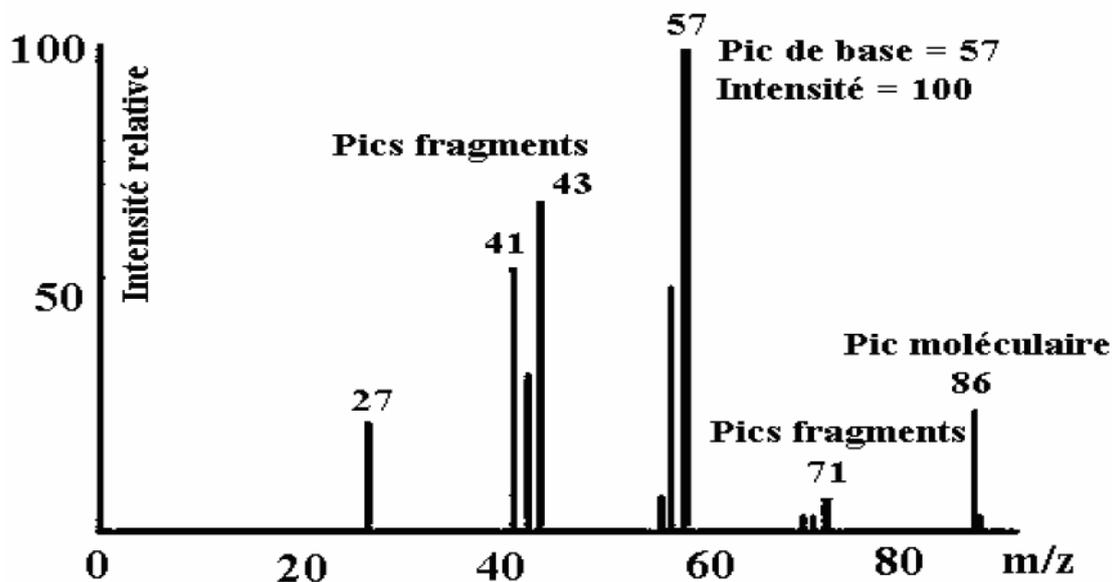


Figure II.28: Modèle d'un spectre de masse (l'hexane C₆H₁₄)

Les différents types de pics observés dans un spectre de masse sont :

- **Le pic de base** : c'est le pic le plus intense du spectre (l'ion le plus stable).
- **Les pics fragments** : ils correspondent aux différents ions fragments.
- **Le pic moléculaire (pic parent)** : il correspond à l'ion de nombre de masse égal à la masse moléculaire de la substance inconnue.

L'identification du pic moléculaire est importante puisque ce pic correspond à l'ion M⁺ qui a la même masse que la molécule d'origine que l'on cherche à identifier.

d) Différents modes d'ionisation

Il existe différents modes d'ionisation qui varient en fonction des applications. Pour identifier les composés organiques simples par spectrométrie de masse, on utilise deux méthodes pour transformer en cations les molécules neutres : l'impact électronique (IE) et l'ionisation chimique (IC). On peut trouver aussi d'autres modes d'ionisation tels que le bombardement par des atomes rapides sur une matrice (FAB), la désorption par effet de champ (FD) ou par laser (MALDI) et l'électrospray (ESI).

• *SM-IE: Impact électronique*

L'ionisation par impact électronique est la méthode la plus utilisée pour les composés qui peuvent passer à l'état gazeux. Elle consiste à provoquer des collisions entre les molécules sans charges initiales et des électrons obtenus par effet thermo-ionique. Dans un choc il y a arrachement d'un des électrons les moins retenus de la molécule, ce qui conduit à un ion porteur d'une charge élémentaire positive.

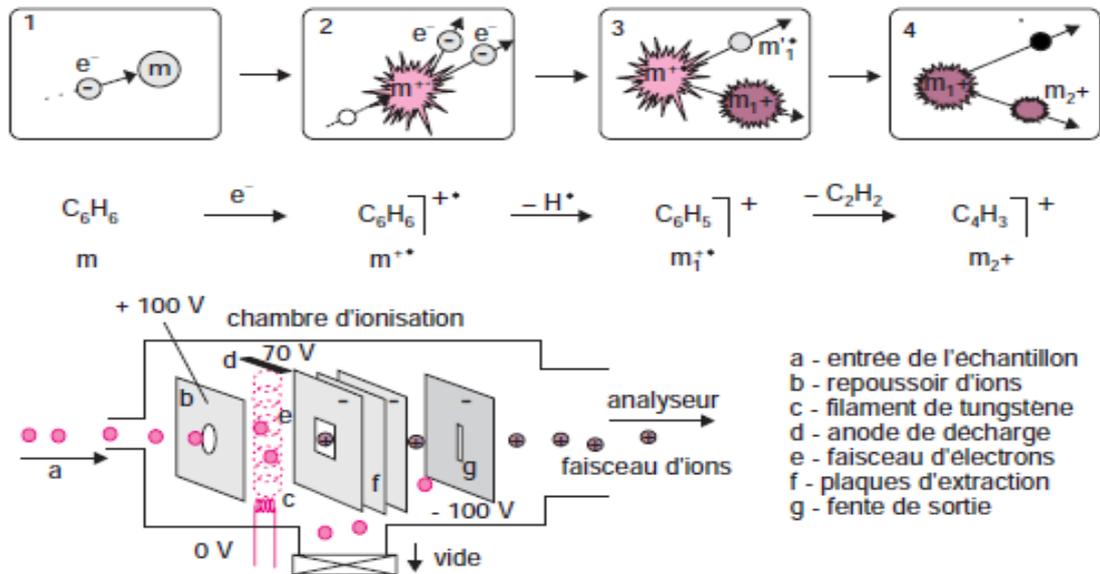
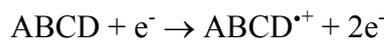


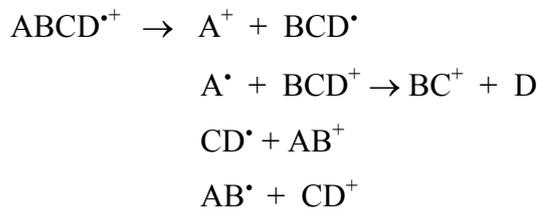
Figure II.29 : Ionisation électronique

- Exemple de réactions rencontrées dans une source à impact électronique

Formation de l'ion moléculaire



Fragmentation



Réarrangement suivi de fragmentation



Collision suivi de fragmentation



- *SM-IC: Ionisation chimique :*

Ce mode d'ionisation résulte de la réaction entre les molécules du composé M et des ions obtenus par bombardement d'électrons sur un gaz, tel le méthane, l'ammoniac ou l'isobutane, introduit conjointement au composé dans la source de l'appareil. Il s'agit d'un procédé d'ionisation « doux ».

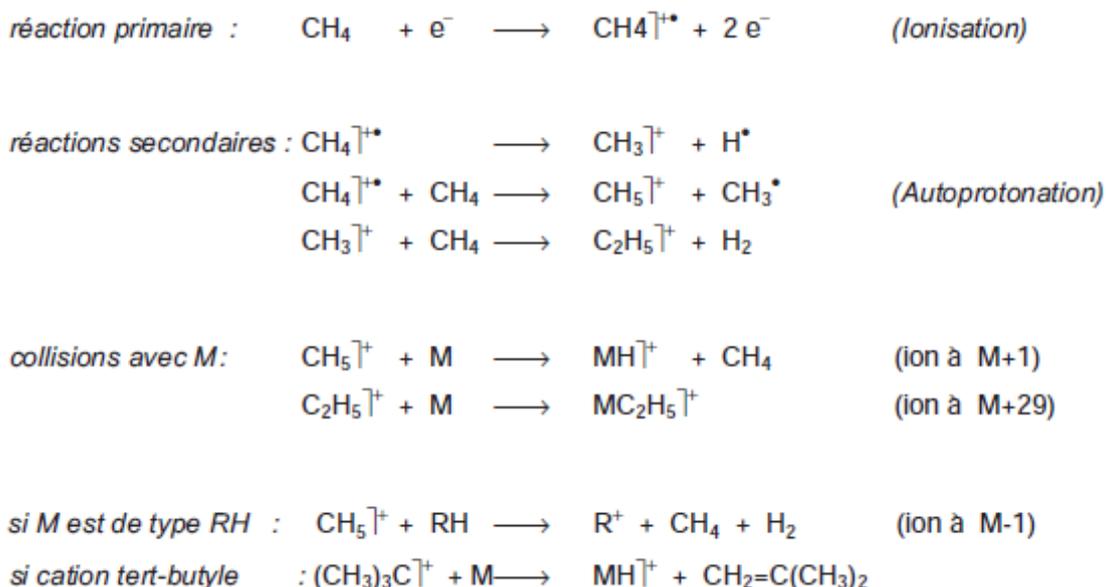


Figure II.30: Ionisation chimique

- *SM-FD : Désorption de champ*

Cette méthode convient bien aux molécules non volatiles et instables à la température. L'ionisation est réalisée dans un champ électrostatique intense (107-108 V.cm⁻¹): ces conditions amènent les molécules à perdre un électron ($\rightarrow \text{M}^\bullet$) sans les chauffer, et l'on n'observe pratiquement pas de fragmentation.

- *SM-FAB: Bombardement par des atomes rapides*

Cette méthode utilise un faisceau d'atomes neutres (Argon) de grande énergie cinétique pour l'ionisation de substances non volatiles, ionisées ou non, présentes soit à l'état solide, soit sous forme de solution dans une matrice de glycérol. L'ionisation s'effectue à température ambiante et fournit en abondance des ions pseudo-moléculaires ([M+H]⁺ en mode positif ou [M-H]⁻ en mode négatif).

e) Analyse de la composition élémentaire des ions

- *Méthode basée sur les spectres haute résolution*

CHAPITRE II : TECHNIQUES D'ANALYSES

Avec un spectromètre de masse dont le pouvoir de résolution est d'au moins 10 000, et moyennant certaines hypothèses il est possible de trouver la formule empirique d'un ion moléculaire ou d'un fragment. Pour cela l'appareil calcule à partir des masses isotopiques exactes des éléments supposés être présents, toutes les formules empiriques qui peuvent correspondre à la masse expérimentale en tenant compte de sa marge d'erreur (tableau II.3).

Tableau II.3 : Masses atomiques des isotopes des principaux éléments rencontrés en chimie organique

Elément	Masse nominale	Masse atomique (g)	Nucléide (%)	Masse (u)
Hydrogène	1	1.00794	¹ H (99.85)	1.007825
			² H (0.015)	2.014102
Carbone		12.01112	¹² C (98.90)	12.00
			¹³ C (1.10)	13.003355
Azote	14	14.00674	¹⁴ N (99.63)	14.003074
			¹⁵ N (0.37)	15.000108
Oxygène	16	15.99940	¹⁶ O (99.76)	15.994915
			¹⁷ O (0.04)	16.999160
			¹⁸ O (0.20)	17.999160
Chlore	35	35.45274	³⁵ Cl (75.77)	34.968853
			³⁷ Cl (24.23)	36.965903

Pour sélectionner la bonne formule empirique, le logiciel accompagne chacune d'elle de la valeur de son indice d'insaturation (I : Nombre de liaisons multiples et de cycles de l'ion correspondant. (N_i représentant le nombre d'atomes de l'élément i , dont la valence est V_i).

$$I = 1 + [0.5 \times \sum_1^i N_i (V_i - 2)] \quad (26)$$

Si (I) est un entier, il s'agit d'un cation radical, et si (I) est un demi-entier, il s'agit d'un anion radical. En général, un ion à nombre impair d'électrons se fragmente par perte d'un radical. Il devient donc un cation à nombre pair d'électrons. Plus rarement il peut se fragmenter par un processus de réarrangement, et demeurer un cation radical.

En associant quelques autres considérations, telle la règle de l'azote (si le composé comporte un atome d'azote, sa masse est impaire), la composition isotopique des éléments, on parvient à trouver la nature des principaux ions présents sur le spectre.

- *Méthode basée sur les abondances isotopiques*

Cette méthode est exploitée pour trouver la formule empirique du composé analysé. Le principe repose sur la composition isotopique des éléments qui sont presque tous constitués de plusieurs isotopes. Pour cette raison tout échantillon d'un composé moléculaire donne en

spectrométrie de masse plusieurs pics moléculaires (M, M +1, M +2, etc.). Pour calculer les intensités des pics M+1 et M+2 des composés ne comportant que les éléments C, H, N, O, F, P, on utilise les deux expressions suivantes :

$$(M + 1)\% = 1,1 nC + 0,36 nN$$

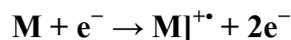
$$(M + 2)\% = nC(nC - 1) \times 1,12/200 + 0,2 nO$$

(nC, nN, etc. symbolisent le nombre d'atomes de carbone, d'azote, etc.) Cette méthode est devenue courante d'emploi mais son efficacité est assez limitée.

f) Fragmentation des molécules organiques

- *Règles de base*

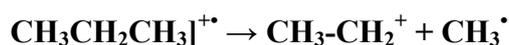
La fragmentation par impact électronique, bien adaptée à l'étude des molécules organiques, résulte de l'instabilité de l'ion moléculaire initialement formé. La molécule M dont la masse est toujours paire (sauf s'il y a un nombre impair d'atomes d'azote), devient un radicalcation au nombre impair d'électrons, représenté par le symbole $MJ^{+\bullet}$. Lorsqu'un ou plusieurs hétéroatomes sont présents, l'ionisation se porte de préférence sur un des doublets libres. À ce stade la molécule M n'est pas encore fragmentée :



Le radical-cation va généralement se fragmenter. Plusieurs facteurs favorisent les processus de fragmentation de $MJ^{+\bullet}$.

- *Fragmentation d'une liaison σ ionisée :*

À partir d'un hydrocarbure tel le propane, l'ionisation d'une liaison σ (C-C) conduira à la formation du cation éthyle et d'un radical méthyle plutôt que l'inverse :

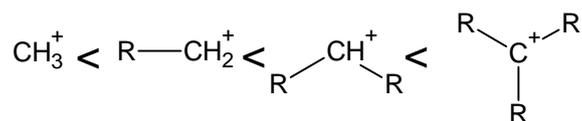


Pour tous les hydrocarbures linéaires, les ions 43 et 57 sont les pics les plus intenses du spectre car ils correspondent aux cations les plus stables.

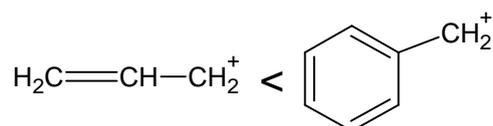
Ion R⁺	CH_3^+	$CH_3-CH_2^+$	$CH_3-CH_2-CH_2^+$	$CH_3-CH_2-CH_2-CH_2^+$
m/z	15	29	43	57

Dans les hydrocarbures ramifiés, la fragmentation se fait dans le sens à donner le carbocation le plus stable.

- *Règle de substitution (alkyle) :* les effets inductifs donneurs de groupements alkyles "apportent" à l'atome porteur de la charge un complément de densité électronique qui stabilise l'ion.



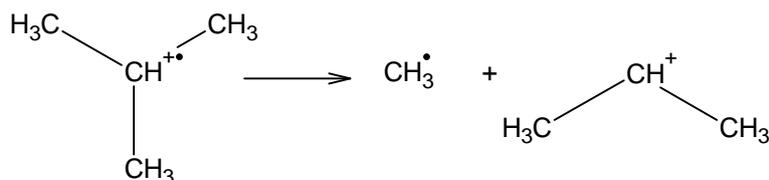
- Règle de délocalisation : les charges portées par un atome de carbone en α d'une insaturation (position allylique et benzylique) ou en α d'un hétéroatome portant des paires libres, sont stabilisées par délocalisation (effet mésomère ou de résonance) :



Exemple

L'ionisation de l'isobutane conduit majoritairement à la perte d'un radical méthyle car le cation isopropyle est thermodynamiquement plus stable que le cation méthyle.

Ordre croissant de stabilité :



- *Fragmentation α :*

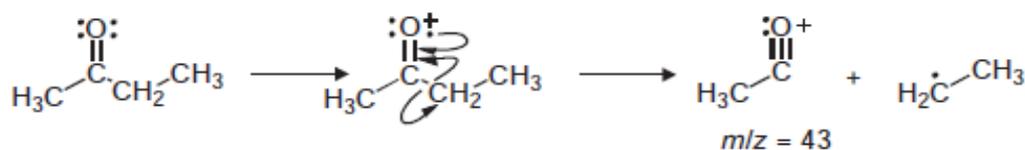
Après l'ionisation initiale, l'ion moléculaire se fragmente en radicaux ou petites molécules neutres.

Le mode de fragmentation le plus fréquent des cétones et des éthers est la rupture en α .

Exemple : une cétone, l'ionisation produit dans un premier temps l'arrachement d'un électron d'un des doublets libres de l'oxygène.

Il y a ensuite, de façon prédominante, rupture par homolyse de la liaison (C-C) en position α du site d'ionisation. L'élimination de la plus grosse chaîne alkyle, sous forme de radical, est favorisée, mais on observera généralement les quatre ions fragments $\text{RCO}]^+$, $\text{R}'\text{CO}]^+$, R^+ et R'^+ .

fragmentation α



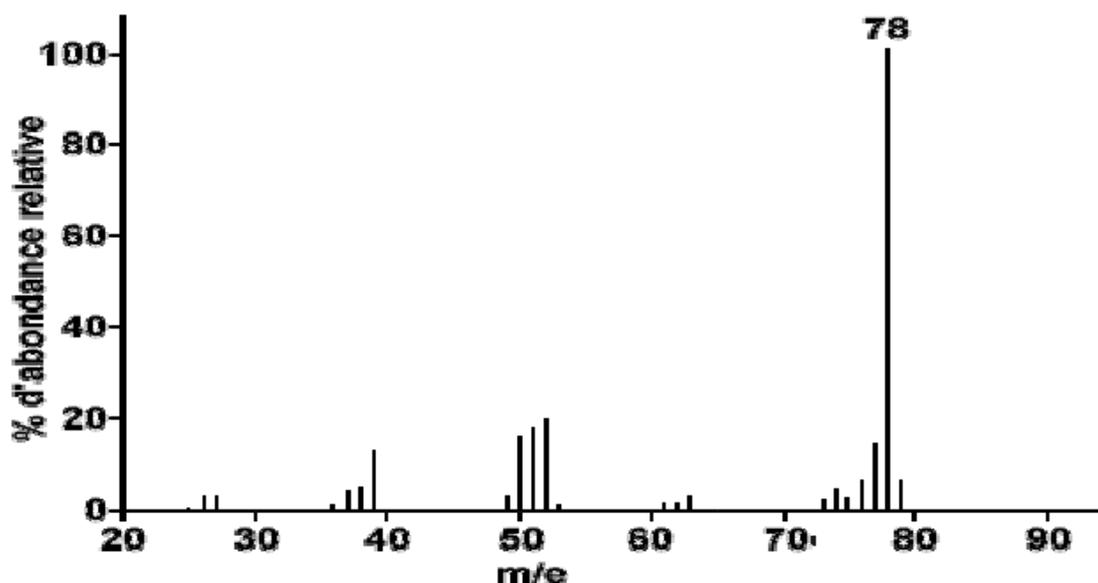
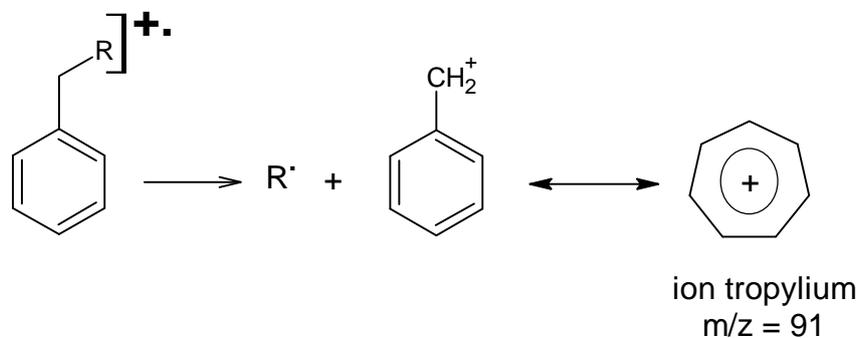
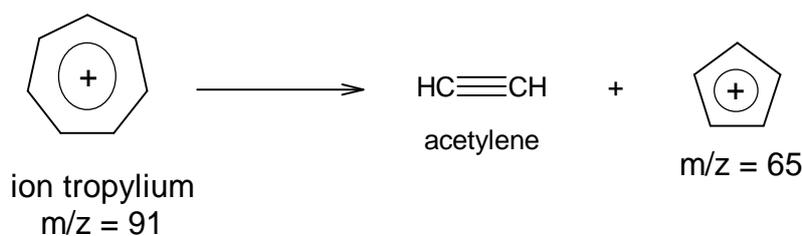


Figure II.32: Spectre de masse du benzène ($M=78$ g/mole)

Lorsque le cycle aromatique est substitué par un carbone (sp^3) la coupure la plus probable (l'ion le plus stable) s'effectue au-delà de ce carbone pour donner un ion de très grande stabilité de masse 91, l'ion tropylium (Dans ce cas, on parle de coupure de la liaison β):



On observe aussi le pic à 65 qui correspond à la perte d'une molécule d'acétylène neutre à partir de l'ion tropylium.

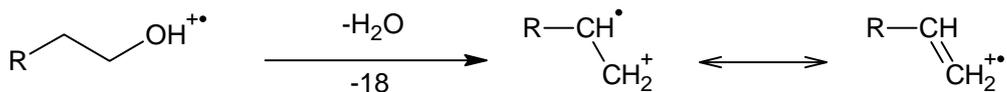


• *Les alcools*

Le pic de l'ion moléculaire des alcools est presque inexistant car ils perdent une molécule d'eau très facilement. Cette perte peut même se produire sous l'effet de la chaleur avant la fragmentation. Dans ce cas particulier l'allure du spectre ressemblera plutôt à celui d'un alcène.

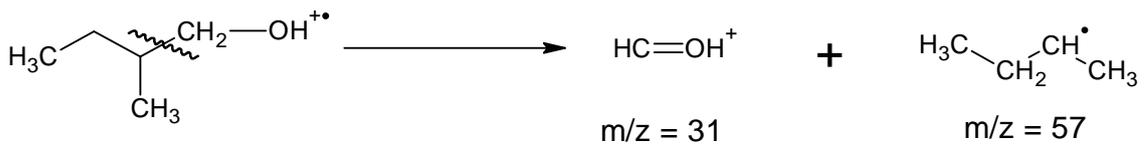
Le fragment le plus courant est : $m/z = 31 \rightarrow \text{H}_2\text{C}=\text{OH}^+$ pour les alcools primaires.

Exemple 1

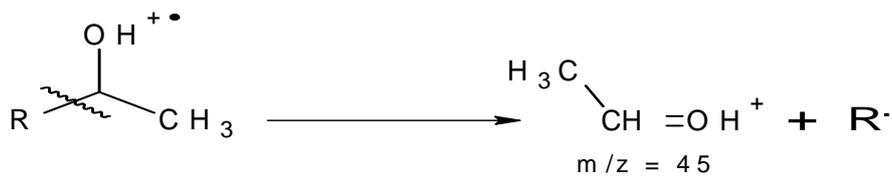


Exemple 2

- *Alcool primaire*

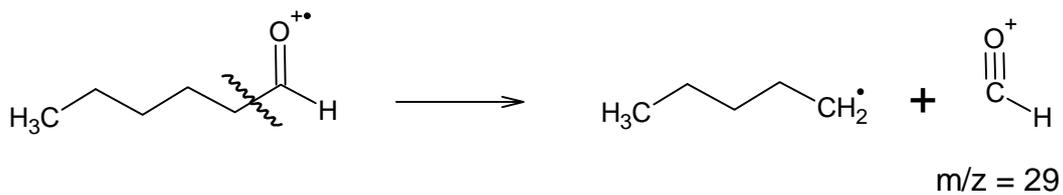
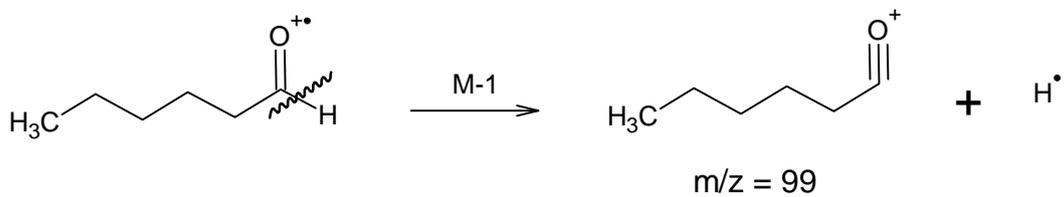


- *Alcool secondaire :*

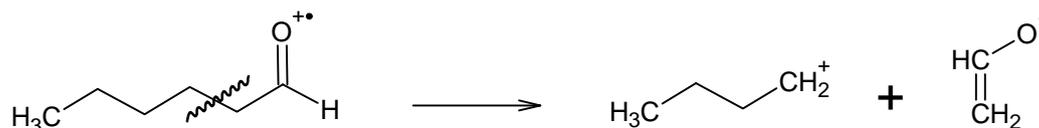


• *Les aldéhydes*

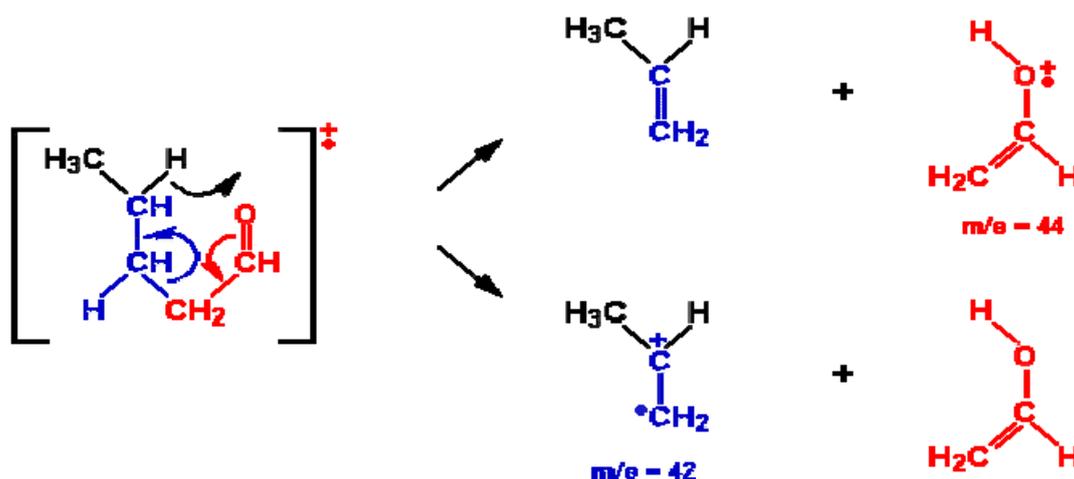
Clivage α



Clivage β



Réarrangement de type MCLAFFERTY



- *Les acides :*

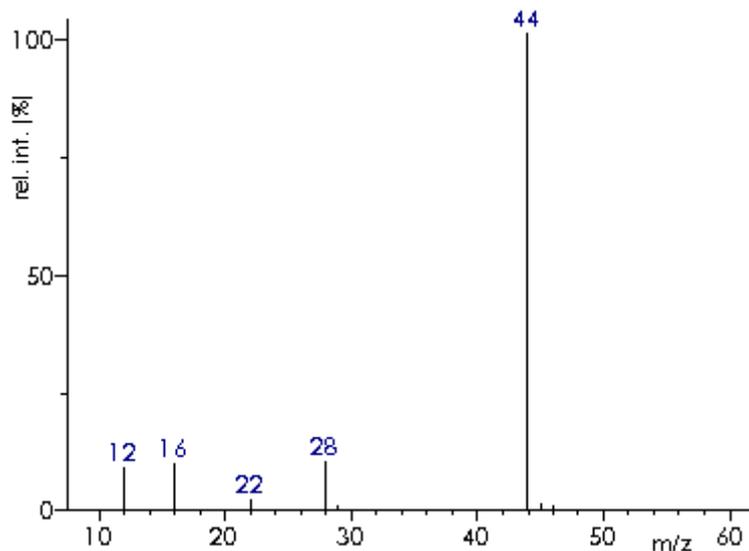
Les acides (ayant une chaîne saturée) présentent un pic parent en général assez faible mais visible (très faible pour les chaînes linéaire de moins de 7 carbones). Il n'y a pas de $M - 1$, mais plutôt des $M - 17$ (perte d'OH) ou des $M - 45$ (perte de COOH).

La coupure en α du carbonyle conduit, si la charge est maintenue sur la fonction au fragment chargé HO-C=O^+ de masse 45, et la coupure β qui pour $\text{R-CH}_2\text{-COOH}$, donne un ion 59 et un autre ion, parfois pic de base, le 60 issu d'un réarrangement de **MCLAFFERTY** si la longueur de la chaîne R le permet.

EXERCICES SPECTRE DE MASSE

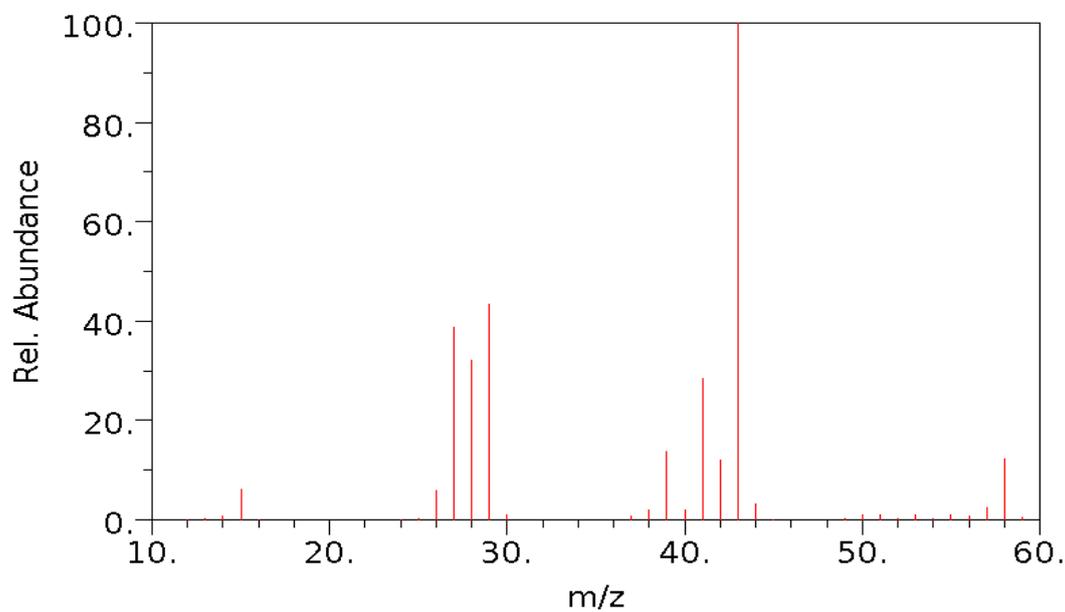
Exercice 01 :

- Attribuez les termes suivants au spectre de masse (EI) ci-dessous: pic de base, pic ionique moléculaire et pic ionique fragmenté.

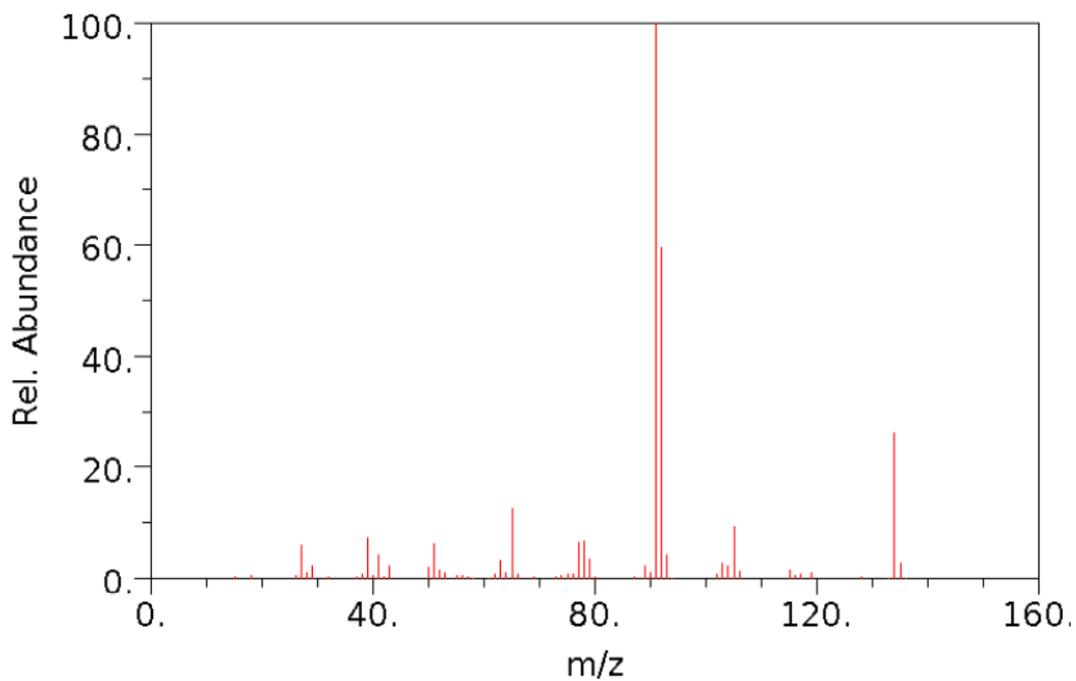


Exercice 02 :

Interpréter les spectres de masse ci-dessous.



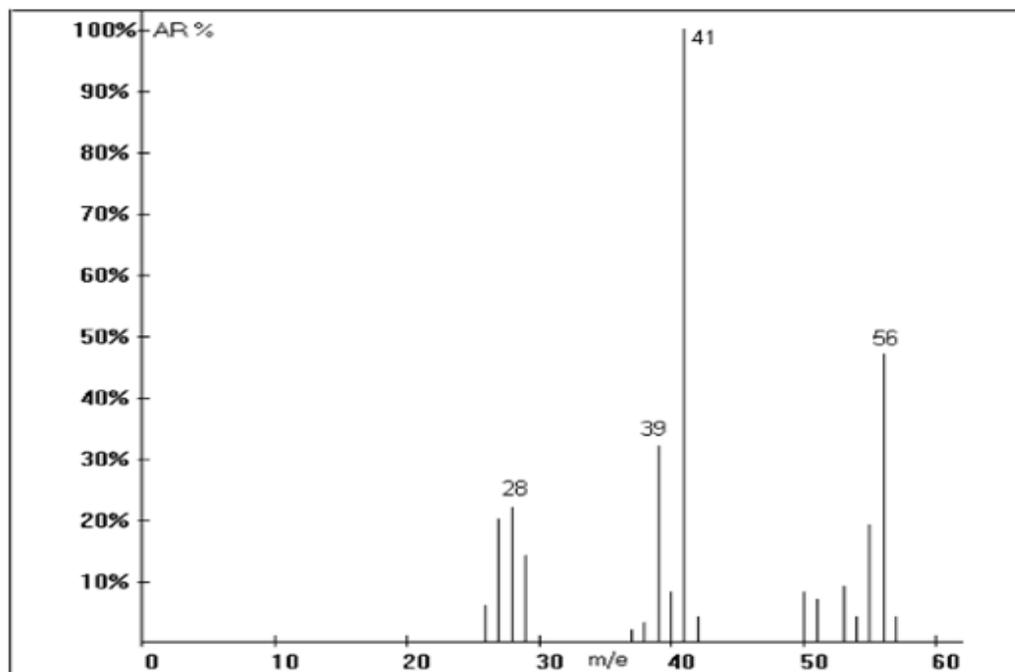
Spectre de masse du **butane** obtenu par (IE, 70 eV).



Spectre de masse du **butylbenzène** obtenu par (IE, 70 eV).

Exercice 03 :

Le spectre suivant est d'un alcène, identifier sa formule brute.



II.4. Techniques d'analyses volumétriques

Dans une solution aqueuse, l'eau et les espèces ioniques ou moléculaires présentes peuvent participer à des réactions ou équilibres chimiques que l'on peut classer en quatre techniques titrimétriques classiques.

- 1-Titrage acide-base.
- 2-Titrage par précipitation.
- 3-Titrage par réactions d'oxydo-réduction (méthodes électrochimiques).
- 4-Titrage par formation de complexes (complexométrie).

II.4.1. Titrage acide-base

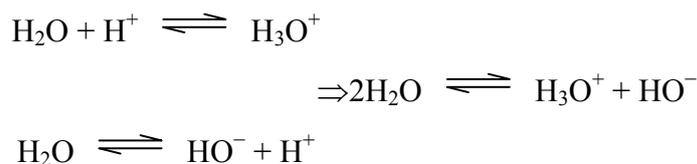
a) Notion de couple acide-base

D'après Brønsted, Un **acide** est une espèce moléculaire ou ionique susceptible de céder un proton H^+ ; Une **base** est une espèce moléculaire ou ionique susceptible de capter un proton H^+ .

À tout acide correspond une base, dite base conjuguée, formée à l'issue de la libération du proton. Inversement, à toute base correspond un acide conjugué issu de la capture du proton par la base. Ces deux espèces forment un couple acide-base. On symbolise l'échange d'un proton entre un acide AH et sa base conjuguée A^- de la façon suivante :



L'eau est une espèce amphotère qui peut jouer le rôle d'un acide ou d'une base vis-à-vis d'une autre espèce. Elle intervient dans les couples H_3O^+/H_2O et H_2O/HO^- :



Dans l'eau, cette réaction a toujours lieu ; c'est l'autoprotolyse de l'eau. À l'équilibre, c'est-à-dire lorsque les concentrations n'évoluent plus, les concentrations des deux ions H_3O^+ et HO^- ne sont pas quelconques. Elles vérifient la relation :

$$K_e = [H_3O^+] [OH^-] \quad (27)$$

où K_e est le produit ionique de l'eau, qui est une constante à température donnée. À 25 °C sa valeur numérique est $K_e = 1,0 \cdot 10^{-14}$.

b) Constante d'acidité

Quand un acide ou une base ne sont pas forts, ils sont dits faibles dans l'eau ; réactions équilibrées, qui conduisent à une solution contenant un mélange de l'acide et de la base conjugués :



L'équilibre est caractérisé par la constante d'acidité K_a (pour la dissociation d'un acide) ou de basicité K_b (pour la protonation d'une base) du couple acide-base. Les constantes d'acidité et de basicité sont des constantes thermodynamiques d'équilibre.

$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-]}{[\text{AH}]} \quad (28)$$

c) Définition du pH d'une solution

Le potentiel hydrogène (pH) permet de mesurer l'acidité ou la basicité d'une solution. Il est lié à la concentration en ions oxonium H_3O^+ dans la solution.

$$\text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+] \quad (29)$$

La valeur du pH est un nombre sans unité compris entre 0 et 14. À une température de 25 °C :

- Le pH d'une solution neutre est $\text{pH} = 7,0$.
- Le pH d'une solution acide est compris entre 0 et 7,0.
- Le pH d'une solution basique est compris entre 7,0 et 14.

Application :

Déterminer le pH d'une solution S_1 de concentration en ions H_3O^+ égale à $3,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$.

$$\text{pH} = -\log [\text{H}_3\text{O}^+] \Rightarrow \text{pH} = -\log (3,0 \times 10^{-2}) = 1,5$$

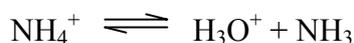
L'expression de la constante d'équilibre K_a peut être modifiée afin de faire apparaître le pH.

$$\begin{aligned} -\log K_a &= -\log \left(\frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-]}{[\text{AH}]} \right) = -\log[\text{H}_3\text{O}^+] - \log \left(\frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]} \right) \\ \text{p}K_a &= -\log K_a \Rightarrow \text{p}K_a = \text{pH} - \log \left(\frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]} \right) \Rightarrow \\ \text{pH} &= \text{p}K_a + \log \left(\frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]} \right) \quad \textit{Relation de Henderson Hasselbalch} \end{aligned}$$

Application :

Déterminer la concentration en ion ammonium NH_4^+ dans une solution d'ammoniac NH_3 de $\text{pH} = 10$ et de concentration en ammoniac $[\text{NH}_3] = 5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$.

$\text{pK}_a(\text{NH}_4^+/\text{NH}_3) = 9.2$



$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{NH}_3]}{[\text{NH}_4^+]} \Rightarrow [\text{NH}_4^+] = \frac{10^{-\text{pH}}[\text{NH}_3]}{K_a} \Rightarrow [\text{NH}_4^+] = 7.9 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l.}$$

d) Evolution des réactions acido-basiques (titrage)

Effectuer un dosage c'est déterminer la concentration molaire d'une espèce dans une solution. Il y a plusieurs techniques de dosage, le dosage par étalonnage et aussi le dosage par titrage. Lors d'un titrage on fait réagir un réactif titrant avec le réactif titré à doser.

Les opérations à suivre pour un titrage sont les suivantes :

On prélève un volume précis de la solution à titrer, que l'on place dans un erlenmeyer ou un bécher et la solution titrante est placée dans la burette graduée.

➤ Pour un **suivi colorimétrique**, on ajoute à la solution titrée un indicateur coloré.

Les indicateurs colorés acido-basiques sont constitués par des couples acide/base dont les espèces conjuguées ont des couleurs différentes. Ils sont donc comme tout couple, caractérisés par une constante d'acidité notée K_{ai} liée à l'équilibre. L'indicateur coloré choisi pour réaliser un titrage colorimétrique doit être tel que le saut de pH à l'équivalence contienne le pK_{ai} de l'indicateur.

Indicateur coloré	Teinte acide	Zone de virage	Teinte basique
Hélianthine	Rouge	3,1 - 4,4	Jaune
Vert de bromocrésol	Jaune	3,8 - 5,4	Bleu
Bleu de bromothymol	Jaune	6,0 - 7,6	Bleu
Rouge de crésol	Jaune	7,2 - 8,8	Rouge
Phénolphthaléine	Incolore	8,2 - 10,0	Rose
Rouge d'alizarine	Violet	10,0 - 12,0	Jaune
Carmin d'indigo	Bleu	11,6 - 14,0	Jaune

Figure II.33 : Les zones de virage des indicateurs colorés

- Pour un **suivi pHmétrique**, on utilise une sonde de pH reliée à un pH-mètre. Cette sonde constitue une pile dont l'électrode de verre est l'électrode de mesure et la demi-pile AgCl/Ag l'électrode de référence.

Application:

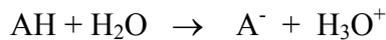
- a) Le tableau ci-dessous indique le pH de quatre solutions S₁, S₂, S₃ et S₄, préparées à partir de deux solutions de deux monoacides A₁H et A₂H de concentrations respectives C₁ et C₂.

S₃ et S₄ sont respectivement des solutions diluées au 1/10 de S₁ et S₂.

	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄
pH	2.3	1.5	2.9	2.5

- Montrer, à partir d'une étude quantitative, que l'un des deux acides est fort. On raisonnera à partir de l'équation-bilan de la réaction de cet acide avec l'eau.
- Déterminer la concentration de cet acide (ordre de grandeur).

Un monoacide fort est totalement ionisé dans l'eau.



On a donc : $[H_3O^+] = C \rightarrow pH = -\log C$

Après dilution de cette solution, la concentration est : $C' = C/10$

Le pH de la solution diluée est :

$$pH' = -\log C' = -\log \frac{C}{10} = -\log C + 1$$

$$\Rightarrow pH' = pH + 1.$$

Si on dilue 10 fois un monoacide fort, le pH augmente d'une unité. C'est ce qu'on observe pour l'acide A₂H :

$$\text{Solution S}_2: pH = 1,5 \qquad \text{Solution S}_4: pH = 2,5$$

A₂H est donc le monoacide fort.

la concentration de l'acide A₂H :

$$pH = -\log C_2 \quad \text{soit} \quad C_2 = 10^{-pH} = 10^{-1,5} = 3,2 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}.$$

II.4.2. Titrage par précipitation

La précipitation correspond au phénomène de saturation d'un solvant vis-à-vis d'une espèce chimique. Au-delà d'une certaine quantité appelée solubilité maximale, l'espèce n'est plus solubilisée et se retrouve évacuée en phase solide dans la solution.

La précipitation est utilisée en chimie qualitative pour mettre en évidence la présence d'une espèce particulière, mais elle peut aussi être utilisée comme technique de séparation, suite à une précipitation sélective suivie d'une filtration.

a) Généralités:

- La solubilité « S » est définie comme étant quantité maximale de corps que l'on peut dissoudre dans un volume déterminé du solvant liquide. Cette solubilité peut être exprimée en mol/L ou de façon massique en g/L.

$$S \text{ (mol.l}^{-1}\text{)} = \frac{n}{V} \qquad S_m \text{ (g.l}^{-1}\text{)} = \frac{m}{V}$$

- On appelle produit de solubilité K_s d'un composé solide ionique la constante d'équilibre de la réaction de dissolution. Il dépend de la température.

Exemple :



$$K_s = \frac{[\text{Ca}^{2+}][\text{SO}_4^{2-}]}{[\text{CaSO}_4]} \qquad (30)$$

$[\text{CaSO}_4] = 1 \text{ mol/l}$ (produit solide)

$$K_s = [\text{Ca}^{2+}] [\text{SO}_4^{2-}] \qquad (31)$$

- Relation entre S et K_s :

Exemple : la dissolution du chlorure d'argent AgCl dans l'eau pure selon la réaction d'équation:



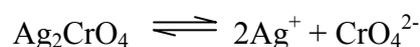
Lorsque la solution est saturée : $[\text{Ag}^{+}] = S$ et $[\text{Cl}^{-}] = S$

d'où :

$$K_s = [\text{Ag}^{+}] \cdot [\text{Cl}^{-}] = S^2 \Rightarrow \qquad K_s = S^2 \qquad (32)$$

Application:

Sachant que le produit de solubilité de Ag_2CrO_4 est égal à $1,1 \cdot 10^{-12}$ à 25 °C, calculer solubilité S de Ag_2CrO_4 en mol/L.



$$K_s = [Ag^+]^2 \cdot [CrO_4^{2-}]$$

$$K_s = (2S)^2 \cdot S = 4S^3$$

$$S = \sqrt[3]{\frac{K_s}{4}} = \sqrt[3]{\frac{1.1 \cdot 10^{-12}}{4}}$$

- *Modification de la solubilité :*
 - Effet d'ions communs ;
 - Effet de la température ;
 - Effet du pH ;
 - Réaction de complexation.

b) Réalisation du titrage : détermination de l'équivalence

Trois méthodes peuvent être utilisées pour déterminer l'équivalence :

- Suivi potentiométrique ;
- Suivi conductimétrique ;
- Utilisation d'un indicateur de fin de réaction (**Dosage de Mohr**).

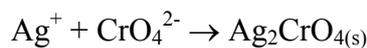
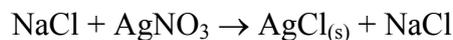
Application : (**Dosage de Mohr**).

On introduit, dans un erlenmeyer, les volumes $V_1 = 10$ mL de solution de chlorure de sodium de concentration C_1 inconnue et $V = 0,5$ mL de solution de chromate de potassium de concentration $C = 0,05$ mol. L^{-1} . On ajoute alors, à la burette, une solution de nitrate d'argent de concentration $C_2 = 10^{-2}$ mol. L^{-1} . Le précipité rouge brique apparaît pour $V_{2E} = 7,8$ mL.

- Quelle est la concentration des ions chlorure dans la solution dosée ?
- Déterminer la concentration d'ion argent (I) dans le bécher lorsque le précipité rouge brique apparaît ; en déduire celle, C' , des ions chlorure dans la solution à cet instant.

Données : $pK_s(AgCl) = 9,7$; $pK'_s(Ag_2CrO_4) = 11,8$.

Corrigé :



- À l'équivalence :

$$n_0(Cl^-) = n(Ag^+) \text{ ajoutés}$$

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_{2E}$$

$$C_1 = \frac{C_2 V_{2E}}{V_1} = \frac{10^{-2} \times 7,8}{10} \Rightarrow C_1 = 7,8 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$$

Lorsque $Ag_2CrO_{4(s)}$ apparaît $\Rightarrow K'_s = [Ag^+]^2 [CrO_4^{2-}] \Rightarrow [Ag^+] = \sqrt{\frac{K'_s}{[CrO_4]}}$

Dans la solution : $[\text{CrO}_4^{2-}] = C \cdot V / (V_1 + V_{2E} + V) = 1.36 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$.

$$[\text{Ag}^+] = 3,4 \cdot 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$$

La concentration C' des ions chlorure restant dans la solution, lorsqu'apparaît le précipité de $\text{Ag}_2\text{CrO}_4(s)$, se détermine à l'aide de K_s :

$$K_s = [\text{Ag}^+] [\text{Cl}^-] \Rightarrow [\text{Cl}^-] = K_s / [\text{Ag}^+] \Rightarrow [\text{Cl}^-] = C' = 5,9 \cdot 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$$

Le pourcentage, % Cl^- , d'ions chlorure non dosés :

$$\% \text{Cl}^- = 100 (n_{(\text{Cl}^-) \text{ restant en solution}}) / n_0 (\text{Cl}^-)$$

$$\% \text{Cl}^- = 100 C' (V_1 + V_{2E} + V) / C_1 V_1$$

$$\% \text{Cl}^- = 0.138 \% \Rightarrow \% \text{Cl}^- < 0,2 \%$$

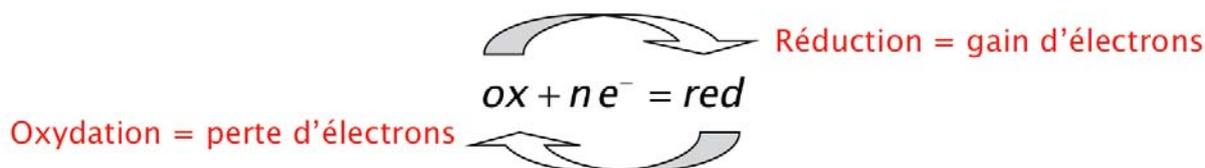
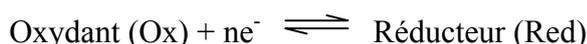
II.4.3. Titration par réactions d'oxydo-réduction

a) Généralités

➤ **Oxydant** : corps susceptible de capter des électrons.

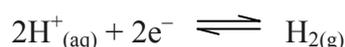
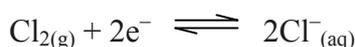
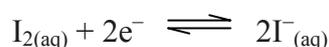
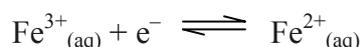
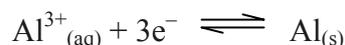
➤ **Réducteur** : corps susceptible de céder des électrons

La relation qui définit les oxydants et les réducteurs est la suivante :



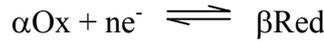
- Lorsqu'un élément est oxydé, son nombre d'oxydation augmente.
- Lorsqu'un élément est réduit, son nombre d'oxydation diminue.

Exemple:



➤ **Formule de Nernst** : La relation de *Walther Nernst* permet de déterminer le potentiel rédox d'un couple d'oxydoréduction en fonction de l'activité des espèces, de la température et du potentiel rédox standard.

On considère la demi-équation rédox suivante du couple (Ox /Red) :



On mesure $E_{\text{Ox}/\text{Red}}$, et la valeur de $E_{\text{Ox}/\text{Red}}$ est donnée par la formule de Nernst :

$$E_{\text{Ox}/\text{Red}} = E_{\text{Ox}/\text{Red}}^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \left[\frac{a_{\text{Ox}}^{\alpha}}{a_{\text{Red}}^{\beta}} \right] \quad (33)$$

Avec :

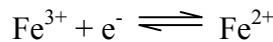
- E° (Ox /Red) le potentiel standard rédox du couple considéré à la température T .
- R la constante des gaz parfaits $R = 8,314 \text{ J.K}^{-1} . \text{mol}^{-1}$.
- T la température exprimée en kelvin.
- F la constante de Faraday, $F = 96485 \text{ C.mol}^{-1}$.
- $a_{(\text{Ox})}$ l'activité de l'espèce oxydante et $a_{(\text{Red})}$ l'activité du réducteur.

Pour le solvant, ici l'eau : $a(\text{H}_2\text{O}) = 1$, et pour un solide X ou un liquide X seul dans sa phase : $a(X) = 1$.

$$\text{A } 25^{\circ}\text{C} \Rightarrow E_{\text{Ox}/\text{Red}} = E_{\text{Ox}/\text{Red}}^{\circ} + \frac{0.059}{n} \log \left[\frac{a_{\text{Ox}}^{\alpha}}{a_{\text{Red}}^{\beta}} \right] / 0.059 \approx 0.06$$

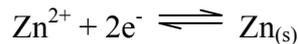
Exemple:

- **Couple $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$:**



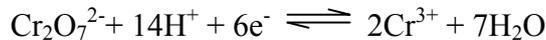
$$E_{(\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+})} = E_{(\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+})}^{\circ} + 0.06 \log \left(\frac{[\text{Fe}^{3+}]}{[\text{Fe}^{2+}]} \right)$$

- **Couple Zn^{2+}/Zn :**



$$E_{(\text{Zn}^{2+}/\text{Zn})} = E_{(\text{Zn}^{2+}/\text{Zn})}^{\circ} + \frac{0.06}{2} \log [\text{Zn}^{2+}]$$

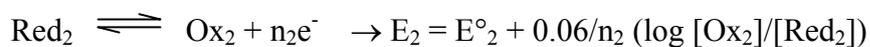
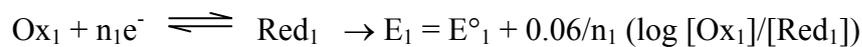
- **Couple $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}/\text{Cr}^{3+}$:**



$$E_{(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}/\text{Cr}^{3+})} = E_{(\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}/\text{Cr}^{3+})}^{\circ} + \frac{0.06}{6} \log \left(\frac{[\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}][\text{H}^+]^{14}}{[\text{Cr}^{3+}]^2} \right)$$

➤ **Constante d'équilibre:**

Soit le système :



La réaction bilan est :



La constante d'équilibre est :

$$K^\circ = \frac{[\text{Red}_1]^{n_2} [\text{Ox}_2]^{n_1}}{[\text{Ox}_1]^{n_2} [\text{Red}_2]^{n_1}} \quad (34)$$

Relions K° aux potentiels rédox standard. À l'équilibre, tous les couples ont le même potentiel d'oxydoréduction,

$$E_{\text{éq}} \Rightarrow E_{\text{éq}} = E_1_{\text{éq}} = E_2_{\text{éq}}$$

$$E^\circ_1 + 0.06/n_1 (\log [\text{Ox}_1]/[\text{Red}_1]) = E^\circ_2 + 0.06/n_2 (\log [\text{Ox}_2]/[\text{Red}_2])$$

$$n_1 n_2 (E^\circ_2 - E^\circ_1) = 0.06 \log \frac{[\text{Red}_1]^{n_2} [\text{Ox}_2]^{n_1}}{[\text{Ox}_1]^{n_2} [\text{Red}_2]^{n_1}}$$

$$n_1 n_2 (E^\circ_2 - E^\circ_1) = 0.06 \log K^\circ$$

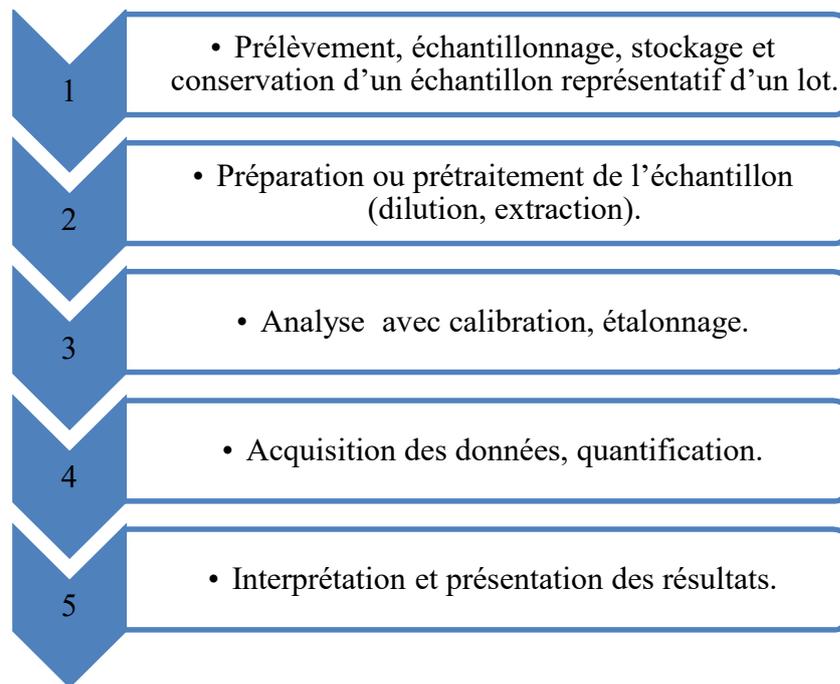
$$\log K^\circ = \frac{n_1 n_2 (E^\circ_2 - E^\circ_1)}{0.06}$$

Chapitre III :
Contrôle de qualité

III.1. Introduction

L'analyse du médicament est constituée de plusieurs étapes que l'on doit parfaitement maîtriser pour assurer la qualité du résultat final.

Le processus analytique se fait en cinq étapes:



III.2. Contrôle de qualité

Le mot « contrôle » peut être utilisé dans le sens de « *vérification* ». Il consiste à mesurer une ou plusieurs caractéristiques d'une entité et à comparer les résultats obtenus à des spécifications préétablies.

Pour les produits, il s'agit souvent de la vérification de la conformité à des exigences figurant dans le dossier d'autorisation de mise sur le marché (AMM) ou à la pharmacopée, la vérification étant généralement suivie d'un tri entre entités conformes et non conformes.

L'évolution du contrôle en pharmacie est la même que dans les autres branches industrielles.

- Le contrôle des matières premières,
- Le contrôle en cours de fabrication (après les opérations ou procédés successifs P1, P2, ... Pn),
- Le développement de l'auto-contrôle, c'est-à-dire ses contrôles effectués par l'opérateur lui-même,

- Le partenariat avec le fournisseur entraînant la suppression de tout ou d'une partie des contrôles à la réception,
- La maîtrise des procédés,
- Le contrôle du produit fini avant l'expédition.

III.3. Principaux référentiels

III.3.1. Pharmacopées

La Pharmacopée est un ouvrage réglementaire destiné aux professionnels de santé qui définit :

- les critères de pureté des matières premières ou des préparations entrant dans la fabrication des médicaments (à usage humain et vétérinaire).
- les méthodes d'analyses à utiliser pour en assurer leur contrôle.

L'ensemble des critères permettant d'assurer un contrôle de la qualité optimale est regroupé et publié sous forme de monographies. Ces textes font autorité pour toute substance ou formule figurant dans la pharmacopée : ils constituent un référentiel opposable régulièrement mis à jour.

De façon générale, la pharmacopée est constituée de plusieurs monographies:

- **des méthodes analytiques** : physico-chimiques (ex. : CCM), de dosage, biologiques (ex. : essai de stérilité), de pharmacognosie (ex. : résidus de pesticides), de pharmacotechnie (ex. : désagrégation des comprimés et des capsules)...
- **des monographies générales** : décrivant de manière générale les contrôles à réaliser. (ex. : préparation à base de drogues végétales, préparation pharmaceutique).
- **des monographies spécifiques** : propre à une matière première à usage pharmaceutique, à un matériau/récipient, une drogue végétale, une forme pharmaceutique, une souche pour préparation homéopathique...

III.3.2. Les différents types de pharmacopées

- **Pharmacopée traditionnelle.**
- **Pharmacopées internationales** :
 - La Pharmacopée internationale (*Ph. Int.*), publiée au niveau mondial par l'OMS.
 - La pharmacopée européenne est assurée par la **Direction Européenne de la Qualité du Médicament et Soins de Santé (DEQM)**. Elle s'applique aux 35 états de la communauté européenne. Elle définit les critères de pureté des matières premières

entrant dans la fabrication de médicaments à usage humain ou animal, ainsi que les méthodes d'analyse à pratiquer pour en assurer le contrôle.

- **Pharmacopées nationales**
 - La Pharmacopée américaine – USP (United States Pharmacopeia).
 - La Pharmacopée japonaise – JP (Japanese Pharmacopoeia).
 - La Pharmacopée indienne – IP (Indian Pharmacopoeia).
 - La Pharmacopée française – Ph. Fr.
 - La Pharmacopée britannique – BP (British Pharmacopoeia).
 - La Pharmacopée allemande.
 - La Pharmacopée autrichienne.

III.3.3. Les bonnes pratiques de fabrication BPF

(*Good Manufacturing Practices* ou GMP) est une notion d'assurance de la qualité. Établies par des états ou la commission européenne dans le cadre du développement des "démarches qualité", les BPF s'appliquent à la fabrication de médicaments à usage humain ou vétérinaire.

Des textes similaires existent pour les produits cosmétiques, et de nombreux secteurs industriels (par exemple les industries agro-alimentaires).

L'OMS définit les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) comme :

*« Un des éléments de l'assurance de la **qualité**, garantissant que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon uniforme et selon des normes de **qualité** adaptées à leur utilisation et spécifiées dans l'autorisation de mise sur le marché ».*

Les BPF portent sur tous les aspects des processus de production et de contrôle :

- Un processus de fabrication déterminé et des étapes critiques validées,
- Des locaux, un stockage et un transport adaptés,
- Un personnel de production et de contrôle de la qualité formé et qualifié,
- Des installations suffisantes et qualifiées,
- Des instructions et des modes opératoires écrits approuvés,
- La traçabilité complète d'un produit grâce aux dossiers de lot,
- Des systèmes d'enregistrement et d'examen des réclamations.

III.3.4. directives ICH

Le Conseil international pour l'harmonisation des exigences techniques pour les produits pharmaceutiques à usage humain (*International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use* ou ICH) est unique en réunissant les autorités réglementaires et l'industrie pharmaceutique pour discuter des aspects scientifiques et techniques des produits pharmaceutiques et élaborer des lignes directrices de l'ICH. Depuis sa création en 1990, l'ICH a progressivement évolué pour répondre aux développements de plus en plus mondiaux du secteur pharmaceutique et ces directives de l'ICH sont appliquées par un nombre croissant d'autorités réglementaires.

La mission de la CIH est de parvenir à l'harmonisation des données et des règlements et de s'assurer ainsi de la sûreté, de la qualité et de l'efficacité des médicaments développés et enregistrés par les différents pays participants.

III.4. Usine pharmaceutique

Une usine de fabrication pharmaceutique peut être considérée comme une enceinte dans laquelle il entre des matières premières : principes actifs, excipients et articles de conditionnement puis il sort sous formes des produits de qualité définie et des déchets

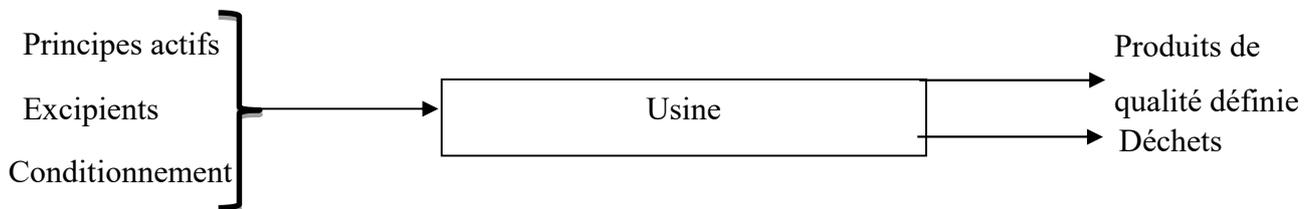


Figure III.1 : Représentation schématique d'une usine pharmaceutique

Cette enceinte est gérée par les éléments suivants :

- main-d'œuvre (ensemble du personnel : direction, encadrement et exécution),
- matériel (locaux et équipements),
- milieu (environnement intérieur et extérieur),
- méthode (procédés et procédures),
- matière (matières premières, articles de conditionnement et autres fournitures).

Tous les procédés de fabrication doivent être validés avec l'aide des laboratoires de contrôle. Ils sont chargés du contrôle et de la surveillance de la qualité des produits pharmaceutiques.

Dans une entreprise pharmaceutique, le département de contrôle de la qualité est placé sous l'autorité d'une personne qui, évidemment, doit posséder une qualification et une expérience suffisante et disposer d'un ou plusieurs laboratoires de contrôle suffisamment équipés (figure III.2).

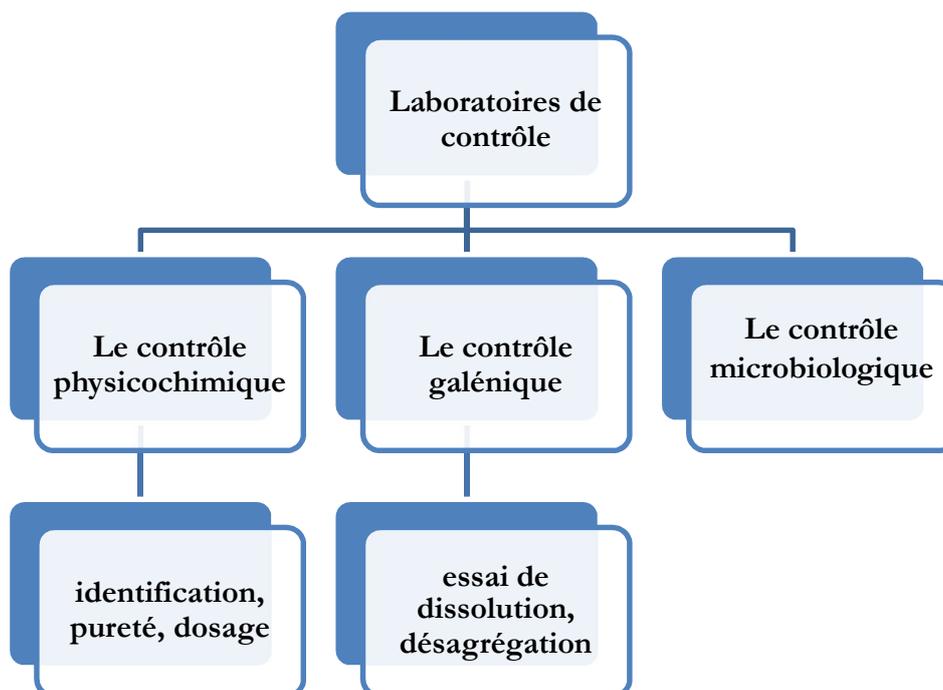
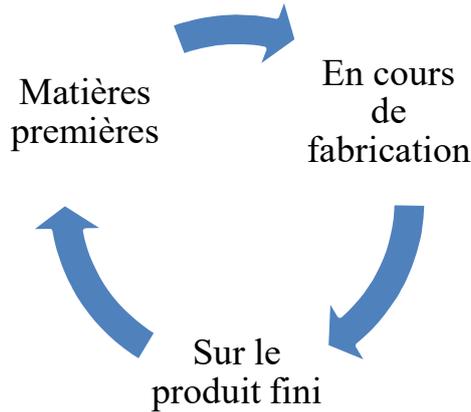


Figure III.2 : Les laboratoires de contrôle de qualité

ICH Q10 décrit un modèle pour un système de la qualité pharmaceutique efficace qui repose sur Les concepts de qualité de l'ISO 9000 et les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) applicables.

Le contrôle de la qualité est l'ensemble des mesures prises (l'échantillonnage, les tests et le contrôle analytique) pour faire en sorte que les matières premières, les produits intermédiaires, les matériaux de conditionnement et les produits pharmaceutiques finis soient conformes aux spécifications fixées d'identification, de dosage et de pureté.

Le contrôle de qualité est donc un outil de vérification qui se fait :



Tous les contrôles décrits dans l'autorisation de mise sur le marché (AMM) doivent être effectués conformément aux méthodes approuvées. Tous les résultats obtenus doivent être vérifiés.

Les contrôles effectués doivent être enregistrés et les enregistrements comprendre au moins les données suivantes :

- le nom du produit et, le cas échéant, son dosage,
- le numéro de lot et le nom du fabricant et/ou du fournisseur,
- les références aux spécifications correspondantes et aux procédures de contrôle,
- les résultats des analyses, y compris les observations et les calculs ainsi que les références à tout certificat d'analyse,
- les dates des contrôles,
- les initiales des opérateurs,
- les initiales des personnes qui ont vérifié les analyses et les calculs,
- une décision claire d'acceptation ou de refus.

III.5. Les formes galéniques et leurs contrôle de qualité

III.5.1. Les comprimés

a) Définition

Les comprimés sont des préparations solides contenant une unité de prise d'un ou plusieurs principes actifs. Ils ont obtenus en agglomérant par compression un volume constant de particules. Les comprimés sont soit :

- Absorbés tels quels par la voie orale,
- Dissous dans l'eau (comprimés dits effervescents, par exemple).
- D'autres doivent séjourner dans la bouche afin de:
 - Exercer une action locale
 - Permettre l'absorption directe du médicament (comprimés sublinguaux).
- Certains comprimés peuvent être placés dans une autre cavité naturelle de l'organisme ou encore être introduits sous la peau (comprimés d'implantation).

b) Les avantages

- Emploi facile : les comprimés sont d'un volume réduit et leur solidité est suffisante pour subir les manipulations de conditionnement et de transport.
- Dosage précis par unité de prise.
- Milieu sec et condensé, favorable à une bonne conservation.
- Forme particulièrement intéressante pour les principes actifs peu solubles.
- Fabrication industrielle à grande échelle d'où prix de revient peu élevé.
- La saveur désagréable des principes actifs peut être complètement masquée par enrobage.
- Les comprimés à couches multiples permettent de résoudre des problèmes d'incompatibilités.

c) Les inconvénients

- Le comprimé constitue une forme concentrée, ce qui peut être irritant pour le tube digestif, si le délitement n'est pas rapidement assuré.
- La mise au point est délicate.
- Les principes actifs liquides ne peuvent pas y être incorporés s'ils sont en trop grande quantité.

d) Classification des comprimés

Les comprimés destinés à la voie orale peuvent être classés en :

- comprimés non enrobés.
- comprimés enrobés.
- comprimés spéciaux : effervescents, solubles, dispersibles, à utiliser dans la cavité buccale, gastro-résistants, à libération modifiée.

e) Les excipients utilisés dans la fabrication du comprimé

Ils sont classés en plusieurs catégories et ils apportent au principe actif les qualités qui lui manquent.

- *Diluant*: Ce sont des poudres inertes. Ils jouent un rôle de remplissage lorsque la quantité de principe actif est insuffisante pour faire un comprimé de taille convenable.
Exemples: lactose
- *Les liants* : Leur rôle est de lier les particules entre elles. Leur présence permet de réduire la force de compression. Ils sont utilisés soit à l'état sec, ou en solution aqueuse ou alcoolique. Exemples: gomme arabique.
- *Les lubrifiants*: Ils jouent un triple rôle dans la fabrication :
 - Améliore la fluidité du grain (pouvoir glissant)
 - Diminution de l'adhérence du grain aux poinçons et à la matrice (pouvoir anti adhérent)
 - Réduction des frictions entre les particules pendant la compression (pouvoir anti friction).
- *Adjuvants divers* :
 - Les substances tampons : elles sont ajoutées soit pour protéger les principes actifs contre les variations du pH au cours de la conservation, soit pour réduire leur action irritante au niveau des muqueuses.
 - Les colorants : ils sont ajoutés pour améliorer l'aspect ou pour éviter des confusions entre comprimés différents.

f) Fabrication des comprimés

La fabrication des comprimés est un procédé complexe qui implique plusieurs étapes pour transformer les substances actives et les excipients en formes solides (figure III.3) destinées à l'administration orale.

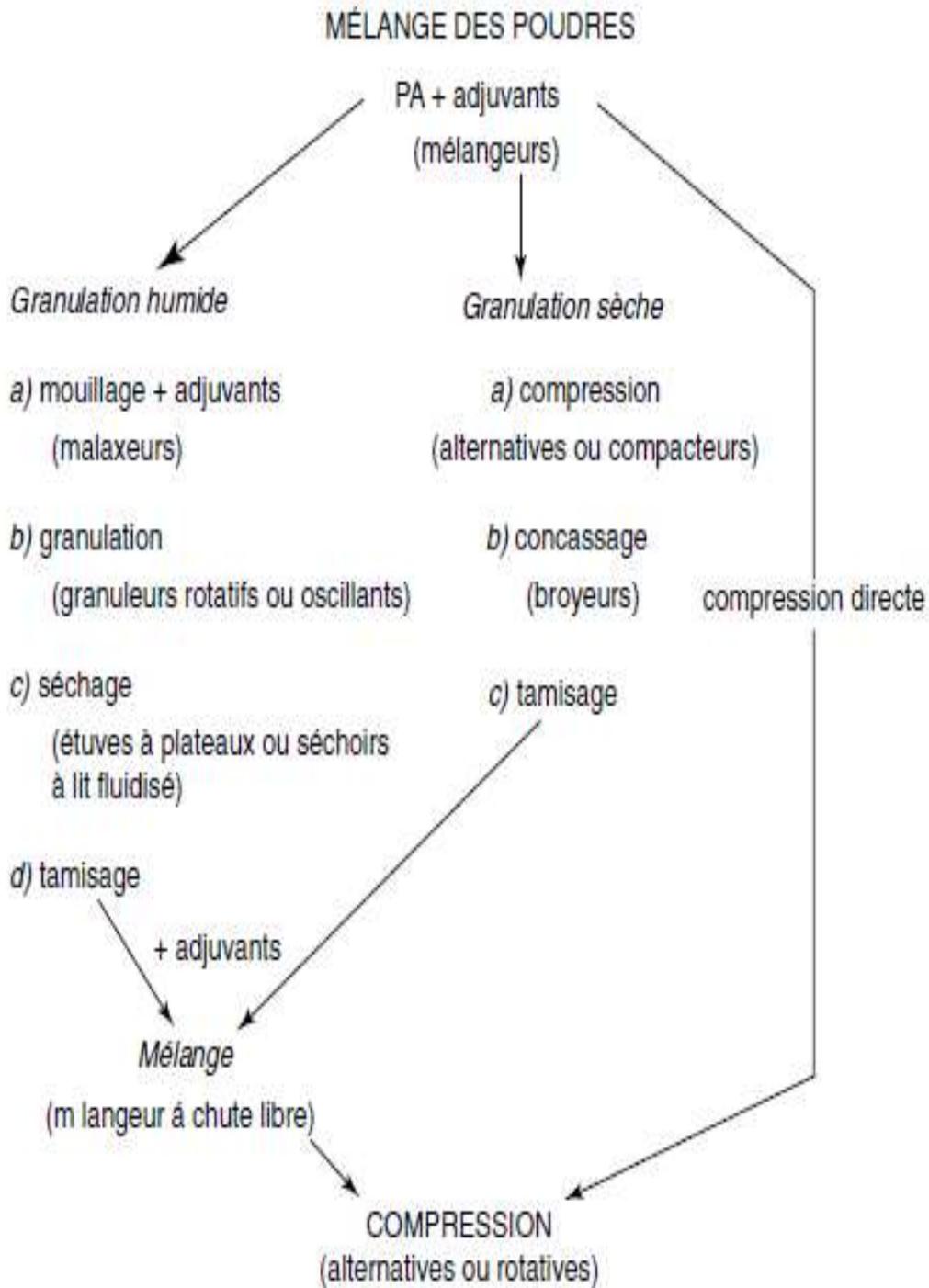


Figure III.3 : Procédé de fabrication des comprimés

➤ *Préparation des matières premières*

- *Pesée et contrôle des matières premières* : Les principes actifs et les excipients sont pesés avec précision.
- *Broyage* : Les particules sont réduites en une taille uniforme pour améliorer la miscibilité et l'uniformité.
- *Tamissage* : Permet d'éliminer les particules trop grosses ou agglomérées.

➤ *Compression directe*

Le terme « compression directe » est utilisé pour définir le processus par lequel les comprimés sont obtenus directement par compression de mélanges de poudres de principes actifs et d'excipients appropriés.

Les étapes de compression directe:

- Pré-mélange,
- Mélange,
- Compression.

➤ *Compression après granulation*

La granulation est une opération qui a pour but de transformer des particules solides en agglomérats plus ou moins poreux. Cette granulation peut se faire par voie humide ou par voie sèche.

- *Granulation par voie humide* : elle comporte les étapes suivantes :
 - Mélange : Les poudres sont mélangées avec un liant liquide (ex. solution d'amidon).
 - Granulation : Le mélange est humidifié jusqu'à formation de granulés.
 - Séchage : Les granulés sont séchés dans un séchoir à lit d'air ou autre équipement similaire.
 - Tamissage : Pour obtenir des granulés de taille uniforme.
- *Granulation par voie sèche*

La granulation par voie sèche n'est utilisée que lorsque le principe actif ne supporte ni l'humidité ni le séchage par la chaleur ou qu'il est trop soluble dans l'eau ou l'alcool. Ce procédé est plus long que la granulation par voie humide. Cette granulation comporte deux phases : La compression et le broyage/tamissage

La compression se fait soit dans:

- Des machines à comprimer alternatives qui donnent des comprimés très durs appelés « briquettes ».

- Des presses à cylindres ou compacteurs qui transforment la poudre en plaques très dures.
- Les briquettes ou les plaques sont ensuite broyées puis tamisées dans un granulateur.

➤ **Les différentes phases de la compression**

- *Machine alternative*

- Alimentation en grain par simple écoulement,
- Elimination de l'excès de grain par arasage au moyen du sabot,
- Compression par abaissement du poinçon supérieur,
- Ejection du comprimé par remontée du poinçon inférieur.

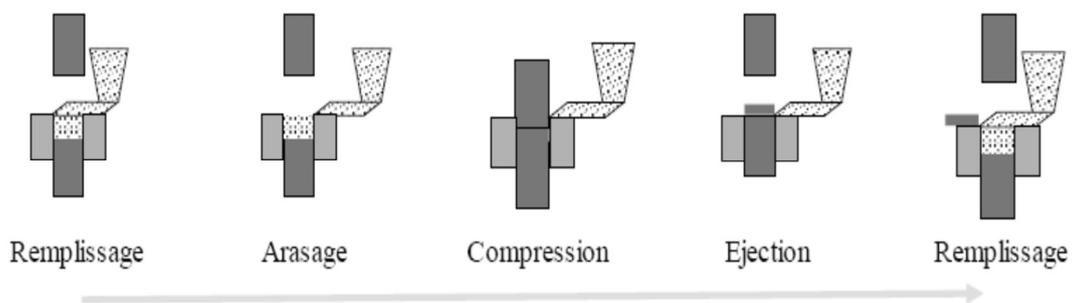


Figure III.4: Machine alternative

- *La machine rotative*

Dans ce type de machine, le sabot reste fixe alors que l'ensemble matrice et poinçon (environ 16), mobile, se déplace horizontalement.

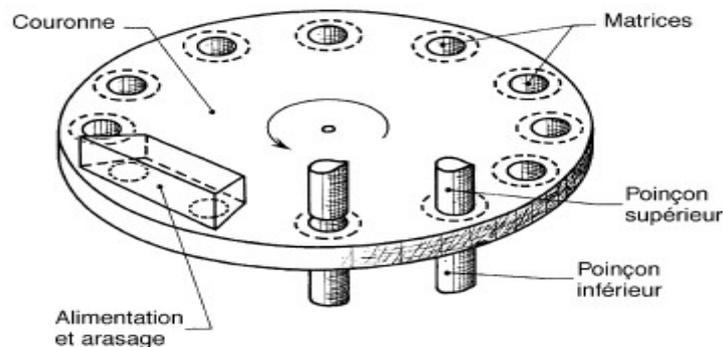


Figure III.5 : Machine à comprimer rotative

- Le rendement pour une machine
 - alternative est de l'ordre de 6000 comprimés par heure.
 - Rotative: il dépasse 100000 comprimés par heure.

Les comprimés terminés sont ensuite dépoussiérés par passage sur une grille ou par aspiration. Ils sont conditionnés soit dans des tubes, soit dans des flacons, soit dans des blisters (constitués de deux feuillets : un en matière plastique transparente, un en aluminium).

g) Enrobage des comprimés

Les comprimés obtenus « comprimés nus » ou « noyaux ». Peuvent être entourés par une « couverture » appelée enrobage. Son intérêt est de :

- Améliorer la présentation du comprimé et sa conservation,
- masquer une saveur désagréable,
- favoriser la conservation (protection contre les agents externes de dénaturation : eau, air, microorganismes),
- Protéger la muqueuse gastrique contre l'action irritante de certains PA exemple l'aspirine,
- Protéger le PA,
- permettre l'administration de deux principes actifs incompatibles qui se trouvent ainsi isolés dans le même comprimé.

Il existe deux méthodes essentielles d'enrobage : enrobage au sucre et enrobage par film.

III.5.2. Contrôle de qualité des comprimés

a) *Contrôle des matières premières*

Contrôles identité, pureté, propriétés physiques et mécaniques des matières premières. Les méthodes d'identification du principe actif (PA) les plus citées par les pharmacopées sont : la spectroscopie (Infrarouge et Uv-visible) et la chromatographie (CCM et HPLC).

b) *En cours de fabrication*

- *Sur le grain*

- Vérification de l'homogénéité par dosage du principe actif sur une prise d'essai,
- Dosage de l'humidité résiduelle (4 à 6 %),
- Contrôle de la fluidité du grain.

- *Sur le comprimé*

Pour vérifier que la machine ne se dérègle pas en cours de son fonctionnement, on fait des prélèvements périodiques de comprimés (tous les 15min) sur lesquels on vérifie la dureté et le poids.

➤ *La dureté des comprimés*

Ce test est destiné à déterminer dans des conditions définies, la résistance à la rupture des comprimés, mesurée par la force nécessaire pour provoquer leur rupture par écrasement. C'est un essai qui permet de vérifier que les comprimés résistent aux différents chocs qu'ils vont rencontrer lors de différentes opérations de conditionnement, de transport, de stockage. Les comprimés, jusqu'à leurs utilisation, ne doivent donc pas se casser et se briser

La dureté des comprimés est un paramètre qui influence le délitement, pour cela il doit être contrôlé à intervalle de temps régulier au cours de la compression pour ajuster la force de compression si nécessaire.

L'appareil est constitué de mâchoires se faisant face, l'une se déplaçant vers l'autre. La surface plane des mâchoires est perpendiculaire au sens du déplacement. La surface d'écrasement des mâchoires est plane et plus grande que la zone de contact avec le comprimé.



Figure III.5: Duromètre

Mode opératoire

- Placez le comprimé entre les mâchoires en tenant compte : le cas échéant, de sa forme, de la barre de cassure et de la gravure.
- Pour chaque détermination, orientez-le comprimé de la même façon par rapport à la direction d'application de la force.
- Effectuez la mesure sur 10 comprimés, en prenant soin d'éliminer tout débris de comprimés avant chaque détermination.

Exprimez les résultats en donnant la valeur de :

- La dureté moyenne constatée $D_{mc} = \sum Di/10$
- La dureté maximale obtenue (D_{max}) = 127 N
- La dureté minimale obtenue (D_{min}) = 106 N
- Calculer la limite de contrôle supérieur et inférieur : $D_{mc} \pm 10\%$.

Les comprimés sont conformes si aucune des valeurs obtenues n'est : Supérieure ou Inférieure à la LC calculée.

➤ *Friabilité des comprimés*

Le contrôle de friabilité appliqué à un certain nombre de comprimés (C_p), consiste à apprécier la perte de masse de ces C_p , sous l'effet des frottements et des chutes qui leurs ont été imposés dans certaines conditions.

L'appareil utilisé pour le test de friabilité est un tambour rotatif, constitué d'un polymère synthétique transparent à surfaces intérieures polies ne produisant pas d'électricité statique. A chaque rotation, les comprimés sont projetés du centre du tambour vers la paroi extérieure, par une pale curviligne. Le tambour est monté sur l'axe horizontal d'un dispositif d'entraînement dont la vitesse de rotation est de 25 ± 1 tr/min. Par conséquent, à chaque rotation, les comprimés roulent ou glissent et tombent sur la paroi ou les uns sur les autres.



Figure III.6 : Appareil du test de la friabilité des C_p

Mode opératoire

Masse unitaire	Nombres de comprimé à prélever
≤ 650 mg	20
≥ 650 mg	10

- Placez les Cp sur un tamis n° 1000 et éliminez les poussières libres au moyen d'air comprimé ou d'une brosse douce.
- Pesez précisément les Cp (P₁) et placez-les dans le tambour de l'appareil du test de friabilité.
- Procédez à 100 rotations, puis sortez les Cp du tambour.
- Éliminez les poussières libres comme indiqué précédemment. Si aucun des Cp n'est fêlé, fissuré ou cassé, pesez-les au milligramme (P₂).

En règle générale, l'essai est effectué sans répétition. Toutefois, si les résultats sont différents ou si la perte de masse est supérieure à 1%, répétez l'essai à 2 reprises et calculez la moyenne des 3 résultats.

La friabilité est exprimée en termes de perte de masse, et calculée en pourcentage de la masse initiale des Cp prélevés. La perte de masse maximale considérée comme acceptable, pour la plupart des produits, est de 1% de la masse des Cp soumis à l'essai.

$$\text{Taux de friabilité} = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \times 100$$

➤ *Sur les comprimés terminés*

Les essais suivants sont effectués au laboratoire de contrôle sur des échantillons prélevés au hasard sur les lots de comprimés terminés. En général, ces essais sont faits avant le conditionnement des comprimés.

- *Contrôle macroscopique*

Par examen visuel, on vérifie l'homogénéité de couleur en surface puis dans la masse du comprimé cassé. La surface du comprimé doit être lisse et brillante (ni collage ni grippage). Les pharmacopées n'exigent pas le contrôle macroscopique des Cp.

Mode opératoire

- Prélevez au hasard 10 Cp du lot de la spécialité analysée et procéder à un examen visuel de la forme de chaque Cp.
- la présence ou l'absence de barre de cassure, ou de gravure.
- la présence ou l'absence de cassure provoquée par un choc sur chaque Cp (Intégrité).
- la texture de la surface de chaque Cp (rugueuse ou lisse).
- la couleur en surface de chaque Cp.
- la couleur dans la masse de chaque Cp cassé.

Exemple : Pour un seul comprimé

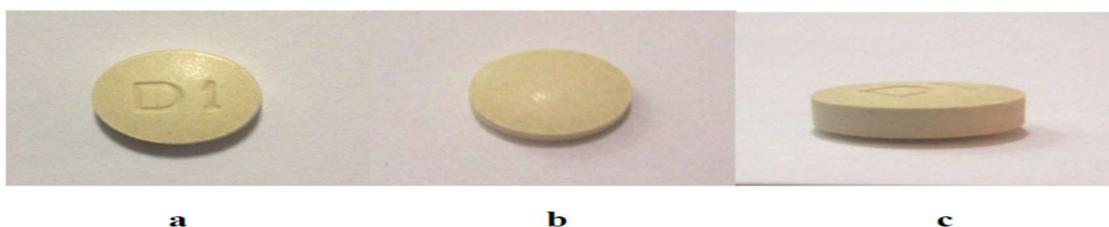


Tableau III.1 : Test macroscopique.

Aspects	Cp1	Cp2.....	Cp10
Forme arrondie avec deux faces bombées	+		
Barre de cassure	-		
Gravure (D1) gravé sur une face du Cp	+		
Cassure de choc	-		
Texture lisse à la surface du Cp	+		
Couleur jaunâtre En surface du Cp	+		
Couleur jaunâtre Uniforme dans la masse du Cp cassé	+		

Après l'analyse, On peut donc conclure que les 10 Cp contrôlés ne présentent pas de défauts de fabrication ou de conservation visibles à l'œil nu.

- ***Dimension des comprimés***

Cet essai permet de vérifier la conformité de l'épaisseur et du diamètre des comprimés, aux normes fixées. L'instrument de mesure des dimensions des Cp est le pied à coulisse.

Il permet en partie de vérifier la conformité du produit fini avec les lots précédents (reproductibilité inter lot), traduisant ainsi une maîtrise du procédé de fabrication des Cp d'une même spécialité pharmaceutique.

Mode opératoire

Prélever 6 Cp du lot de chaque spécialité analysée et mesurer à l'aide d'un pied à coulisse le diamètre et l'épaisseur de chaque Cp.



Figure III.7: pied à coulisse

Se baser sur le **CV (Coefficient de variation)** de dimensions des Cp, pour apprécier l'uniformité ou l'hétérogénéité de dimensions entre les Cp d'un même lot de spécialité.

- ***Test d'uniformité de masse***

Ce test présente un intérêt dans la mesure où il permet indirectement de s'assurer du dosage en substances actives. En effet, si la masse est constante et si le mélange de départ est homogène, on peut être sûrs qu'on a partout la même quantité de principe actif.

Mode opératoire

- Peser individuellement à l'aide d'une balance de précision, 20 comprimés prélevés au hasard sur le lot de chaque spécialité contrôlé.
- Déterminer ensuite la masse moyenne de ces 20 Cp à laquelle on compare la masse individuelle de chaque Cp.

la masse individuelle de 2 au plus des 20 Cp prélevés s'écarte de la masse moyenne d'un pourcentage plus élevé que celui qui est indiqué dans le tableau ci-dessous et qu'aucun Cp sur les 20 prélevés ne s'écarte de plus du double de ce pourcentage.

Tableau III.2 : Normes utilisées dans le test d'uniformité de masse.

Masse moyenne	écart limite en % de la masse moyenne	Ecart toléré pour 2 comprimés
≤ 80 mg	$\pm 10\%$	$\pm 20\%$
$80 < M < 250$	$\pm 7,5\%$	$\pm 15\%$
≥ 250 mg	$\pm 5\%$	$\pm 10\%$

- **Essai d'uniformité de teneur**

L'essai d'uniformité de teneur des comprimés (Cp) permet de vérifier l'uniformité de la quantité de substance active sur l'ensemble des Cp d'un même lot de spécialité.

Le test d'uniformité de teneur appliqué aux Cp d'un même lot, consiste à déterminer les teneurs individuelles en principe actif (PA), d'un nombre spécifié de Cp du lot et à vérifier que chaque teneur individuelle se trouve dans un intervalle étroit autour de la valeur indiquée sur l'étiquette.

Ce test est exigé, lorsque la teneur en PA est inférieure à 2 mg ou si le taux ne dépasse pas 2 %. Dans le cas contraire, ce test est facultatif.

Mode opératoire

Prélevez au hasard 10 Cp à analyser et dosez individuellement la substance active dans chacun des Cp par une méthode analytique appropriée.

➤ *Pour les 10 Cp prélevés*

- l'essai est satisfaisant si la teneur individuelle de chaque Cp est comprise entre 85 % et 115 % de la teneur indiquée sur l'étiquette.
- l'essai n'est pas satisfaisant si la teneur individuelle de plus d'un Cp n'est pas comprise entre 85 % et 115 % ou si la teneur individuelle d'un seul Cp se situe en dehors des limites de 75 % et 125 % de la teneur indiquée sur l'étiquette.
- si la teneur individuelle d'un seul Cp n'est pas comprise entre 85 % et 115 % de la teneur indiquée sur l'étiquette mais qu'elle est comprise entre 75 % et 125 % de la teneur indiquée sur l'étiquette, prélevez au hasard 20 autres Cp et dosez individuellement la substance dans chacun d'eux.

➤ Pour les 30 Cp prélevés au total pour l'essai

- l'essai est satisfaisant si sur les 30 Cp, un Cp au plus a une teneur individuelle en dehors des limites de 85 % et 115 % de la teneur indiquée sur l'étiquette et si aucun des Cp n'a une teneur individuelle en dehors des limites de 75 % et de 125 % de la teneur moyenne.

Les dispositions spécifiées ultérieurement pour l'essai d'uniformité de teneur, ne prennent pas en compte les drogues végétales, les préparations à base de drogues végétales, les poly-vitamines et les oligoéléments contenus dans les comprimés non enrobés.

- **Temps de désagrégation ou de délitement**

Ce type de contrôle est destiné à déterminer l'aptitude des comprimés ou capsules à se désagréger dans un temps prescrit en milieu liquide et dans des conditions expérimentales bien définies.

Mode Opératoire

Cet essai se fait sur 06 Cp prélevés sur chaque lot de fabrication. Selon la Pharmacopée Européenne, un test de désagrégation doit être effectué à l'aide d'un appareil spécifique. Il s'agit de mettre un comprimé dans chacun des 6 tubes en verre maintenus par deux plaques rondes. La plaque inférieure est recouverte d'une toile métallique inoxydable. Une tige centrale permet à l'ensemble de faire « un mouvement alternatif vertical d'une amplitude de 50 à 60mm : 30 ± 2 déplacements (montée et descente) par minute ».

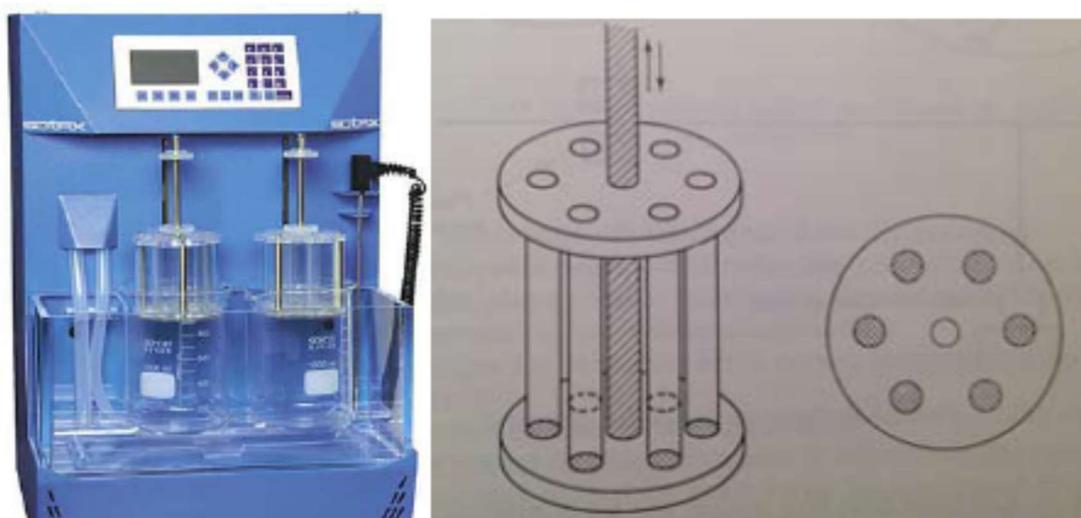


Figure III.8 : Appareil de désagrégation

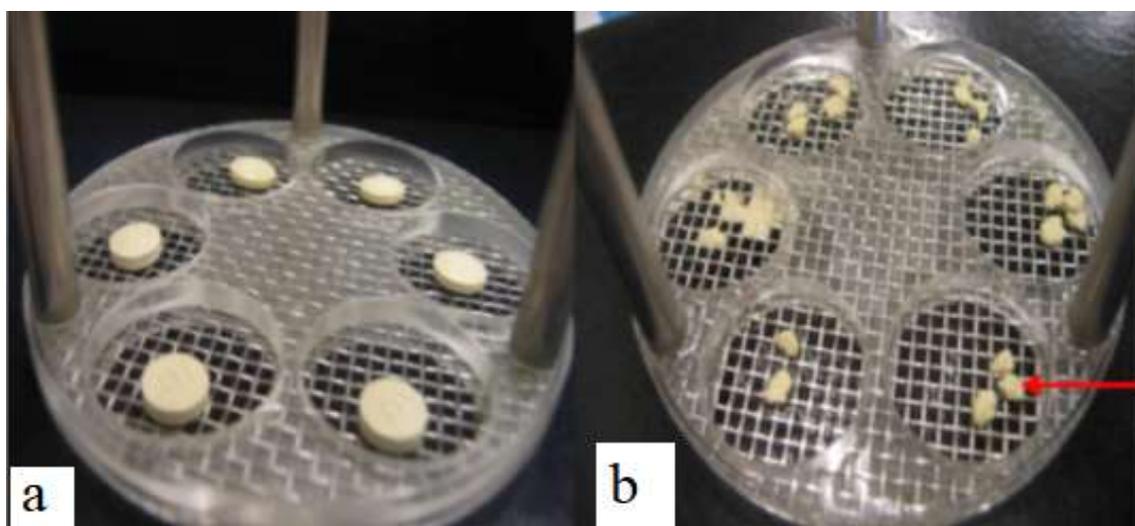
CHAPITRE III: CONTROLE DE QUALITE

Une fois la machine mise en marche, il faut attendre 15 minutes et observer l'absence de résidus durs.

Si aucun résidu dur n'est présent, le test est accepté. Dans le cas contraire, une discussion sur l'utilisation et les propriétés des comprimés testés (comprimés spéciaux, indication thérapeutique...) doit être réalisée et les critères d'acceptation réévalués.

Produit est Conforme: Si les 6 unités sont désagrégées.

S'il y a 1 ou 2 unités qui ne sont pas désagrégées, on refait le test sur 12 unités supplémentaires. Le test est satisfaisant si on a au moins 16/18 unités sont désagrégées.



Images photographiées de la grille d'appareil de désagrégation a : Cp sur grille avant le test, b : Résidus (flèche rouge) de Cp de sur grille après le test

Tableau III.3 : Normes utilisées dans le test de désagrégation

Comprimés	Milieu	Temps max
nus	H ₂ O, 37 ± 2 °C	15 min
effervescents	H ₂ O, 15 – 25°C	05 min
solubles	H ₂ O, 15 – 25°C	03 min
dispersibles	H ₂ O, 15 – 25°C	03 min
enrobés	H ₂ O, 37 ± 2 °C	60 min
entériques	0,1N HCl, 37 ± 2 °C (Tampon phosphate pH 6,8 37 ± 2 °C	> 120 min 60 min

- **Test de dissolution**

La désagrégation est une condition généralement nécessaire, mais non suffisante pour la libération du principe actif, qui ne peut être absorbé qu'une fois dissous.

Cet essai est destiné à déterminer la vitesse de dissolution des principes actifs des formes solides (telles que les comprimés, les capsules) en utilisant un appareil déterminé et dans des conditions opératoires bien définies. Estimation de la libération du principe actif de sa forme galénique dans le tractus digestif.

Il existe 04 équipements pour les formes orales solides:

- Appareil 1: Panier.
- Appareil 2: Palette.
- Appareil 3: cylindre réciproque.
- Appareil 4: la cellule à flux continu.



Figure III.9 : Appareil à palette tournante et panier tournant

Les conditions opératoires doivent également être précisées (conditions analytiques).

- Type d'appareil,
- Composition et volume du milieu de dissolution,
- la Température,
- Vitesse d'agitation,
- Temps, volume de prélèvements,
- Mode de Prélèvement: manuel ou automatique,
- centrifugation ou filtration (type du filtre),

- Dilution éventuelle des prélèvements,
- Préparation des standards,
- Stabilité des solutions,
- Méthode analytique: Spectrophotométrie ou HPLC.

Mode opératoire

Pour réaliser le test de dissolution des comprimés, en utilisant l'appareil à palette tournante ou l'appareil à panier tournant, il faut procéder de la manière suivante :

- Prélevez 6 Cp du lot à contrôler,
- Introduisez dans le récipient de l'appareil utilisé, le volume indiqué ($\pm 1\%$) du milieu de dissolution prescrit. Assemblez l'appareil. Chauffez le milieu de dissolution à $37 \pm 0,5$ °C et retirez le thermomètre,
- Placez un Cp dans l'appareil. Dans le cas de l'appareil à palettes tournantes, placez un Cp au fond du récipient avant que la palette ne soit mise en action. Si le Cp a tendance à flotter, utilisez un dispositif approprié tel qu'une hélice de verre ou une hélice constituée par un fil de métal, pour servir à fixer l'échantillon en position horizontale au fond du récipient,
- Dans le cas de l'appareil à panier, placez le Cp dans un panier sec et abaissez le panier jusqu'à la position prévue avant que le dispositif de rotation ne soit mis en action,
- Prenez soin d'éviter la formation de bulles à la surface du Cp et mettez immédiatement l'appareil en marche à la vitesse indiquée qui est contrôlée avec une précision de $\pm 4\%$,
- Au moment prescrit ou à une fréquence déterminée ou de façon continue, effectuez les prélèvements du milieu de dissolution dans une zone située à mi-distance entre la surface du milieu de dissolution et le haut de la palette ou du panier à 10 mm au moins de la paroi du récipient. Dans le cas des Cp (forme à libération immédiate), un seul point de prélèvement est souvent préconisé (généralement 45 minutes),
- Filtrez les prélèvements du milieu de dissolution et procédez à l'analyse du filtrat suivant les indications données,
- Réalisez toutes les étapes précédentes pour tous les 6 Cp prélevés pour le test.

Les résultats du test sont exprimés en déterminant pour chaque Cp testé, la quantité de PA dissous dans un temps prescrit. Cette quantité est exprimée en pourcentage de la teneur indiquée sur l'étiquette.

CHAPITRE III: CONTROLE DE QUALITE

Les résultats du test peuvent être aussi exprimés en cinétiques de dissolution (pourcentage de PA dissous en fonction du temps).

Les résultats obtenus lors de l'essai de dissolution permettent de définir la conformité du lot fabriqué, en comparant le pourcentage dissous obtenus pour des temps bien définis par rapport aux normes fixés. Les critères d'acceptation sont spécifiés par les pharmacopées.

Selon la PE-04 (Pharmacopée européenne -5^{ème} Edition-2004), la PA-07 (Pharmacopée américaine 2007) et la PB-07 (Pharmacopée britannique 2007), les exigences du test de dissolution sont satisfaites, si les quantités de PA dissoutes à partir des Cp testés, sont conformes aux critères du tableau d'acceptation suivant. Il faut poursuivre l'essai de dissolution à travers les étapes E₂ puis E₃ si les résultats de l'essai ne sont pas conformes dès l'étape E₁ puis E₂.

Tableau III.4 : Normes du test de dissolution.

Etapes	Nb d'unités	Critères d'acceptation
E1	6	Aucun n'est < Q*+5%
E2	6	La moyenne des 12 Cp (E ₁ +E ₂) ≥ Q et aucune unité n'est < Q-15%
E3	12	La moyenne des 24 Cp (E ₁ +E ₂ +E ₃) ≥ Q . Pas plus de 2 Cp peuvent être < Q-15% et aucun unité n'est < Q-25%

- **Q*** correspond à la quantité dissoute de PA, exprimée en pourcentage de la teneur indiquée sur l'étiquette. La valeur de Q est spécifiée dans les pharmacopées.

Selon la PB-07, Q = 75%, pour un temps de dissolution de 45 minutes. Cela signifie que le test de dissolution est satisfaisant pour 6 Cp testés, si la teneur en PA dissoute en 45 minutes pour chacun des Cp est supérieure ou égale à 80%.

- **Analyse microbiologique**

L'analyse microbiologique des comprimés est essentielle pour garantir leur sécurité, leur qualité et leur conformité aux normes pharmaceutiques. Cette analyse vise à vérifier l'absence de micro-organismes nuisibles et à contrôler la charge microbienne globale. Selon les pharmacopées (Pharmacopée Européenne, USP, etc.), certains micro-organismes pathogènes doivent être absents tels que (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp et *Clostridium* spp).

III.5.3. Capsules

a) Définition

Les capsules sont classées dans les formes solides. Elles se caractérisent par des formes et des capacités variables et renferment des doses unitaires d'une ou de plusieurs substances actives. Le contenu des capsules peut être solide, liquide ou de consistance pâteuse. Il est constitué d'un ou plusieurs principes actifs additionnés ou non d'excipients tels que solvants, diluants et lubrifiants. Le contenu ne doit pas provoquer de détérioration de l'enveloppe. En revanche, celle-ci est profondément altérée par les sucs digestifs ; il en résulte la libération du contenu. Plusieurs catégories de capsules peuvent être distinguées :

- Les capsules à enveloppe dure ou gélules ;
- Les capsules à enveloppe molle ;
- Les capsules gastrorésistantes ;
- Les capsules à libération modifiée ;

La gélule, ou capsule est utilisée quand le médicament (ou toute autre substance à administrer par voie orale) contient une odeur forte ou un goût désagréable que l'on souhaite masquer. On l'utilise aussi quand le médicament n'a pas une texture facile à mettre sous forme de comprimé.

Le principe actif est libéré après altération facile et plus ou moins rapide de l'enveloppe par les sucs digestifs.

La gélule est constituée de deux parties emboîtées : la « tête » et le « corps » : Le corps est plus long et un peu moins large que la tête. C'est le corps que l'on remplit de poudre, et c'est donc le volume de ce corps qui est le volume utile de remplissage.

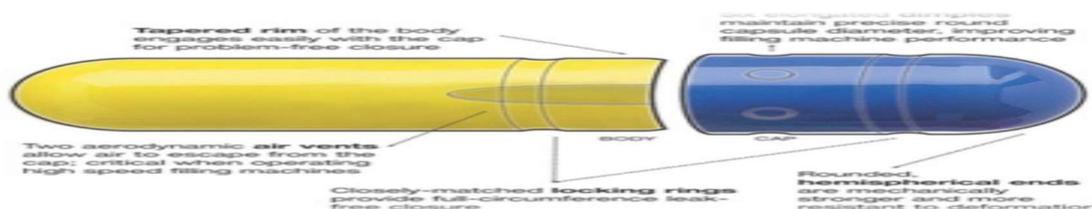


Figure III.10 : La forme de gélule

Il existe deux catégories de capsules :

- Les capsules à enveloppe dure ou gélule : **Gélatine 40 partie, Eau 60 partie**
- Les capsules à enveloppe molle : **Gélatine 100 parties, glycérine 50 parties et eau 125 parties.**

b) Les capsules à enveloppe molle

Elle comporte une enveloppe plus épaisse par rapport aux capsules dures qu'on appelle gélules. L'enveloppe comporte une seule partie. La forme est variée. Ce qui la caractérise c'est que l'enveloppe est obtenue au même temps que le reste de la préparation. On a donc formation de l'enveloppe, son remplissage et sa fermeture dans la même machine. Pour les gélules, les capsules sont obtenues à l'avance. On a plusieurs formes de capsules molles ainsi que plusieurs couleurs.

- **Le contenu**

Le contenu de la capsule molle peut être soit semi-solide soit liquide. On va donc avoir la forme solution, la forme suspension ou la forme émulsion. L'excipient liquide est représenté par des liquides qui ne doivent pas dissoudre la capsule. C'est pour cela qu'on ne va pas utiliser de l'eau. Des solvants non miscibles à l'eau sont utilisés, des huiles végétales et on peut également utiliser des excipients de nature aqueuse telle que les PEG (polyéthylène glycol) de faible poids moléculaire (la consistance dépend du poids moléculaire).

Le pH final de la préparation doit être compris entre [2,5 - 7,5] car un pH trop acide peut hydrolyser l'enveloppe et un pH basique peut entraîner une diminution de la solubilité de l'enveloppe dans l'estomac.

- **L'enveloppe**

Elle est constituée de gélatine, et pour maintenir cet état mou, on utilise des plastifiants. On trouve également le plastifiant dans la capsule dure avec un pourcentage de 1 % (ce qui est important). Comme exemple de plastifiants, on peut citer la glycérine, le sorbitol et le propylène glycol.

On dissout la gélatine dans de l'eau puis on ajoute les plastifiants. On va également ajouter d'autres constituants tels que des colorants (hydrosolubles), des opacifiants (surtout des oxydes minéraux tel que l'oxyde de titane ou de zinc) et des conservateurs antimicrobiens (leur présence doit être mentionnée sur l'étiquette car ce sont des excipients à effet notoire - utilisé car l'enveloppe garde une humidité résiduelle).

- **Procédés de fabrication**

- *Procédé par injection et soudure simultanées*

La partie la plus importante de l'appareillage est la matrice. Ce sont deux roues qui vont tourner en sens inverse et ces roues comportent des alvéoles. Au cours de leurs rotations, les alvéoles tournent à la même vitesse et on va donc les avoir l'une en face de l'autre. On a un système qui permet de pousser les deux moitiés de l'enveloppe pour qu'elles collent entre

elles. Les deux roues sont échangeables sur la machine. On peut faire cela pour changer la taille de l'alvéole mais également pour varier la forme.

Le schéma montre des capsules allongées mais on peut avoir des capsules sphériques et cela suppose qu'on va avoir des alvéoles parfaitement hémisphériques.

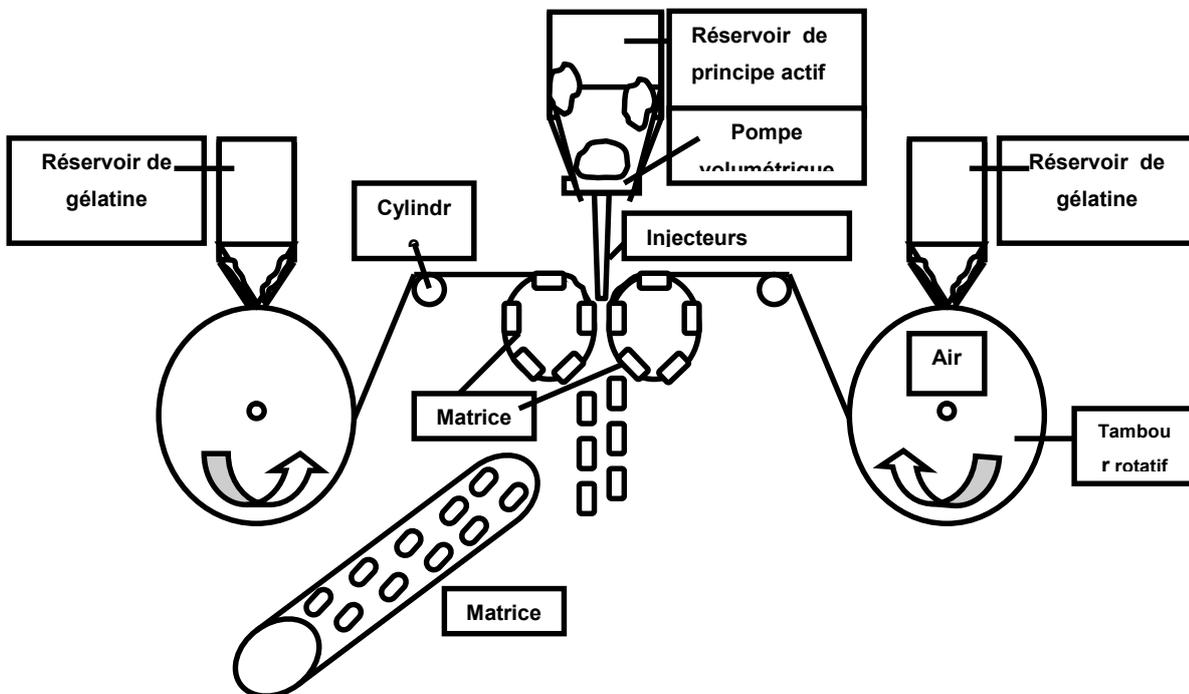


Figure III.11: Fabrication des capsules molles

➤ Procédé à la goutte

Ce procédé utilise un appareillage dont le point le plus important est constitué de deux tubes intérieurs et un tube extérieur. Ce sont des tubes concentriques. Le tube intérieur va véhiculer la substance active et le tube extérieur véhicule l'enveloppe. À la sortie, on va avoir une capsule qui se forme : on a à la fois une goutte interne de préparation médicamenteuse et cette goutte sera enveloppée par la masse gélatineuse. On va donc recevoir, dans un bain froid, les capsules qui sont de forme parfaitement sphérique d'où l'appellation de procédé GLOBEX.

Il y'a une pompe péristaltique qui pousse la préparation médicamenteuse vers l'intérieur et on a la solution gélatineuse avec tous les additifs et toujours maintenue à une température de 65°C.

Après la fabrication de la capsule, on procède à la réfrigération dans un bain glacé d'huile de paraffine (5 °C). À la fin, on procède au dégraissage pour enlever toute trace d'huile de paraffine.

c) Les capsules à enveloppe dure (gélules)

Elles sont constituées d'une enveloppe composée de deux parties à fonds hémisphériques qu'on appelle le corps et la coiffe. Le corps de la gélule est généralement plus long que la coiffe. Étant donné que la fermeture se fait par emboîtement, le diamètre de la coiffe est légèrement plus grand que le diamètre du corps de la gélule. Le corps va recevoir la préparation médicamenteuse. Ces capsules dures sont fabriquées industriellement.

• Le contenu : poudre médicamenteuse

Le contenu est toujours solide et on va donc avoir une poudre qui doit présenter les caractéristiques suivantes : La composition et la distribution granulométrique doivent être homogènes et l'écoulement doit être libre. On a la possibilité des produits liquides et en particulier les huiles essentielles (phytothérapie) ce qui est effectué surtout au niveau de l'officine. On fixe le liquide sur un support inerte (généralement de la silice) et on met le mélange de poudres dans la gélule.

Pour les poudres médicamenteuses, à côté de la substance active, on trouve les substances qu'on trouve pour la forme comprimé (les diluants, les anti-adhérents, les délitants (désagrégeant) ainsi que les tensioactifs (pour améliorer éventuellement la solubilité)).

On peut également trouver dans les gélules des granulés ce qui suppose qu'on va effectuer une granulation exactement comme dans le cas des comprimés. Le granulé est obtenu avec tout d'abord la phase interne qui renferme la ou les substances actives, le diluant, de désintégrant (délitant ou désagrégation soit en totalité ou en moitié).

Par la suite, pour aboutir au comprimé ou pour mettre dans la gélule, il faut ajouter la phase externe du granulé qui est constituée par le lubrifiant et éventuellement la deuxième moitié du délitant.

• L'enveloppe

L'enveloppe contient de la gélatine avec un mélange de plastifiants tel que la glycérine, les gommes naturelles et les sucres (évitent l'état cassant de l'enveloppe). Elle contient aussi des colorants et les gélules peuvent être unicolores ou bicolores (différentes couleurs pour le corps et la coiffe). On retrouve aussi les opacifiants pour protéger la substance de l'effet de la lumière ainsi que les conservateurs (antimicrobiens et antioxydants).

- **Procédé de Fabrication**

- *Fabrication des gélules vides ou enveloppe*

- La gélatine et l'eau déminéralisée sont mélangées, filtrée, stérilisée et fondue à 80°C en une solution à 30%.
- Le mélange est placé sous vide, dégazé puis on ajoute de colorant ou d'opacifiant.
- Les enveloppes sont préparées par trempage de chaînes parallèles de barres contenant des doigts métalliques, l'une pour les têtes, l'autre pour les corps, puis solidification de la gélatine dans des chambres de séchage.
- Les demi-capsules sont ensuite démoulées, coupées et emboîtées deux par deux.
- Cette fabrication industrielle se fait en atmosphère conditionnée : 50% Humidité relative et 21°C.

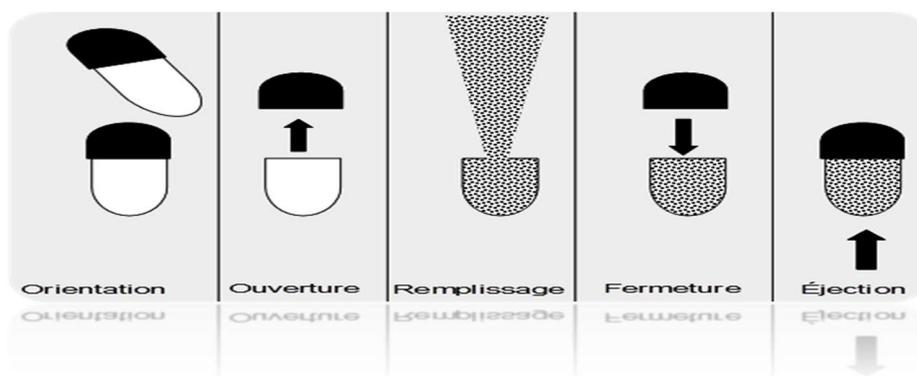
- *Répartition du mélange*

L'appareil utilisé est appelé gélulier, manuel à l'officine et automatique dans l'industrie.

Cette répartition suit les étapes suivantes :

- Alimentation de la machine en enveloppes vides (trémies).
- Ouverture des enveloppes par aspiration.
- Remplissage du fond.
- Fermeture des capsules.

Cette fabrication se fait en atmosphère parfaitement conditionnée : humidité relative : 50 % et température : 21 °C.



Le remplissage se fait en volume, il faut que le volume des poudres à répartir corresponde au volume des gélules à remplir.

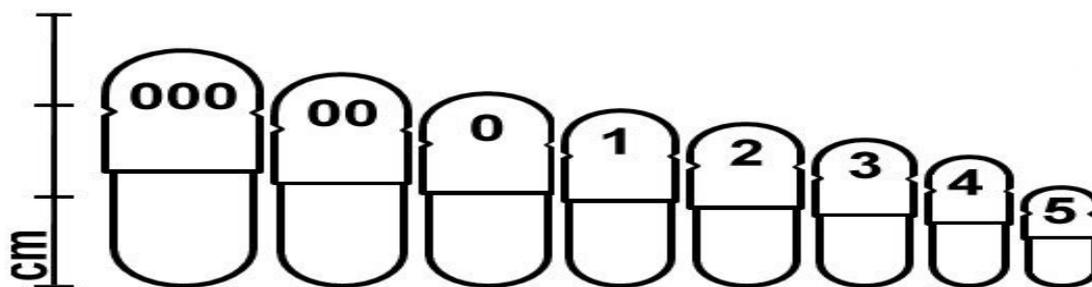


Figure III.12 : Différentes formes des gélules

Tableau III. : Capacité de chaque taille des gélules

Taille	000	00	0	1	2	3	4	5
Volume en ml	1,37	0,95	0,68	0,50	0,37	0,30	0,21	0,13
Capacité (mg)	950	650	450	300	250	200	150	100

Le remplissage des gélules en industrie se fait soit par: Arasage, arasage et tassement ou bourrage alternés, vis sans fin, compresse-doseur, dosage en alvéoles (figure III.13).

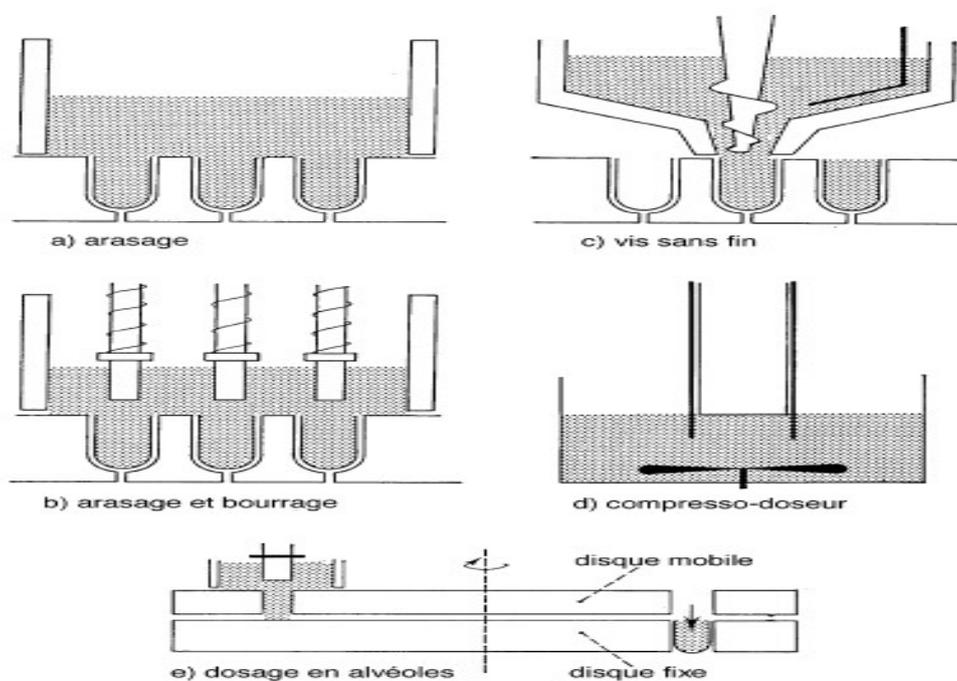


Figure III.13 : Remplissage des capsules

III.5.4. Contrôles des gélules

Le contrôle de qualité des gélules est un processus rigoureux qui vise à garantir que les gélules respectent les normes de sécurité, d'efficacité et de conformité réglementaire.

Avant la fabrication des gélules, les matières premières (principe actif, excipients) et les enveloppes de gélules (gélatine, HPMC, etc.) sont analysées pour vérifier :

- **L'identité** : spectroscopie IR, chromatographie, etc.
- **La pureté** : recherche d'impuretés ou de contaminants.
- **La conformité aux spécifications** : tests sur la granulométrie, densité, humidité, etc.

a) Uniformité de masse

Elle se fait sur 20 unités prélevées au hasard. Pour les capsules dures, on pèse individuellement des capsules pleines et chaque capsule est vidée et pesée vide. La masse du contenu est obtenue par différence.

Dans le cas des capsules molles, on lave les enveloppes avec de l'éther ou un autre solvant volatil qui n'altère pas cette enveloppe pour ne pas avoir de résidus à l'intérieur de l'enveloppe.

Pour vider les capsules molles on est obligé de les couper généralement avec des ciseaux et il faut s'assurer qu'on ramasse toutes les parties de la capsule vide pour avoir une idée sur la masse exacte et on détermine toujours la masse du contenu par la différence. L'interprétation se fait exactement de la même façon que la forme comprimé.

<i>Poids moyen</i>	<i>Ecart limite</i>
< 300 mg	± 10 %
≥ 300 mg	± 7.5 %

b) Uniformité de teneur

Elle se fait pour les teneurs en substance active inférieure à 2 mg (formes faiblement pesées en substance actives). On réalise le dosage dans chaque gélule ou capsule molle sur 10 unités toujours prélevées au hasard. On dose le principe actif et on calcule la teneur moyenne. L'interprétation se fait exactement de la même manière que la forme comprimé. On ne s'écarte pas de ± 15 % sauf pour une seule unité et aucune ne doit dépasser 25 % (dans ce

dernier cas on refait sur d'autres unités). S'il y a plus de trois unités qui s'écartent de $\pm 15 \%$, tout le lot sera rejeté.

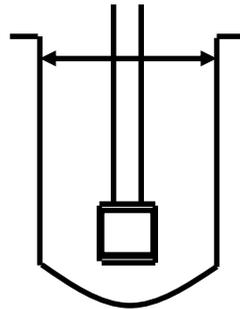
c) La désagrégation

Elle se fait pour 6 unités prises au hasard. On utilise le même appareillage que pour les comprimés. Le temps de désagrégation ne doit pas dépasser 30 minutes dans l'eau. Il faut savoir qu'on peut avoir des gélules gastro-résistantes, l'essai de désagrégation n'a plus aucun sens dans ce cas et on effectue l'essai de dissolution dans un milieu gastrique puis dans un milieu intestinal comme on le fait pour les comprimés gastro-résistants.

d) La dissolution

Pour cet essai, on doit vérifier pour les gélules classiques (conventionnelles) qu'au moins 75 % de la substance active est libérée et dissoute dans le milieu de dissolution en un maximum de 45 minutes.

Dans le cas des gélules, la palette est remplacée par un panier tournant.



e) Tests microbiologiques

- Recherche de contaminants microbiens : bactéries, moisissures, levures.
- Absence de pathogènes spécifiques (E. coli, Salmonella, etc.).

III.5.5. Liquides pour usage oral

« Les préparations liquides pour usage oral sont habituellement des solutions, émulsions ou suspensions contenant un ou plusieurs principes actifs dans un véhicule approprié : certains liquides pour administration orale peuvent consister en des principes actifs utilisés tels quels»

Les liquides peuvent contenir des conservateurs antimicrobiens appropriés, des anti-oxygènes et d'autres substances auxiliaires telles que des agents de dispersion, de suspension, des substances épaississantes, émulsionnantes, des tampons, des mouillants, des solubilisants, des stabilisants, des aromatisants, des édulcorants et des matières colorantes autorisées.

Ils sont conditionnés en récipients multi-doses ou uni-doses. Chaque dose d'une préparation multi-doses est administrée à l'aide d'un dispositif permettant de mesurer la quantité prescrite.

La Pharmacopée européenne classe dans les préparations liquides pour usage oral :

- les solutions, émulsions et suspensions buvables,
- les poudres et granulés pour solutions ou suspensions buvables,
- les gouttes buvables,
- les poudres pour gouttes buvables,
- les sirops,
- les poudres et granulés pour sirops.

a) Sirops

Les sirops sont des préparations aqueuses sucrées et de consistance visqueuse. Ils sont généralement préparés avec du saccharose qui, à une concentration voisine de 65 %, leur assure, en prenant un minimum de précautions, une protection antimicrobienne. Par convention, ce n'est qu'à partir de la concentration de 45 % qu'une solution de saccharose est appelée sirop.

Les sirops peuvent contenir un ou plusieurs principes actifs et aussi des substances auxiliaires telles que colorants, aromatisants et agents antimicrobiens.

Certains sirops ne contiennent pas de principes actifs, ils sont destinés à être utilisés comme véhicule dans diverses préparations pharmaceutiques et, en particulier, dans les potions. Le nom et la concentration des édulcorants et des agents antimicrobiens doivent être indiqués sur l'étiquette.

Mode opératoire

- Sirops de sucre ou sirop simple : La dissolution du sucre peut être réalisée à froid ou, plus rapidement, à chaud.
- à 0 °C, 100 g de solution saturée contiennent 64,18 g.
- à 20 °C, 100 g de solution saturée contiennent 67,09 g (2/3).
- à 100 °C, 100 g de solution saturée contiennent 82,97 g. Les proportions utilisées sont les suivantes :

à froid : 180 g de sucre pour 100 g d'eau. Densité du sirop : 1,32.

à chaud : 165 g de sucre pour 100 g de véhicule lorsqu'on opère en récipient ouvert, du fait de l'évaporation au cours du chauffage. 80 g de sucre pour 100 g de véhicule lorsqu'on opère en vase clos.

- Sirops obtenus par addition du principe actif au sirop de sucre :

Exemple :

Le sirop de codéine pour lequel la codéine est dissoute dans un peu d'alcool avant d'être mélangée au sirop de sucre.

- Sirops préparés par dissolution du sucre directement dans une solution de principe actif ou de principes aromatiques.
- Sirops composés : Ces sirops contiennent plusieurs principes actifs. Leur préparation est plus ou moins complexe selon leur composition.

b) Contrôle des sirops

- Vérifications de base

Vérification de l'identité des matières premières, vérification des quantités mises en œuvre, indication de chaque pesée immédiatement sur la fiche de pesées ou le rapport de préparation. Limpidité/ homogénéité du mélange.

Vérification du conditionnement et de l'étiquetage.

- Vérifications spécifiques (lors de la préparation)

Mesure de la température (si substances thermolabiles), mesure du pH, limpidité après dissolution.

- Vérification du produit fini

Vérification de l'identité des matières premières après usage par le préparateur. Limpidité .Couleur. Homogénéité. Contrôle du pH. Volume / poids final. Vérification du conditionnement et de l'étiquetage.

III.5.6. Suppositoires

a) Définition

Les suppositoires sont des formes galéniques, des préparations de consistance solide, de forme conique ou ovoïde, contenant par unité de prise un ou plusieurs principes actifs et destinés à la voie rectale.

Les matières premières utilisées pour la fabrication des suppositoires doivent posséder certaines propriétés adaptées aux caractéristiques de l'ampoule rectale :

- une température de fusion proche de 37 °C ou la capacité de se dissoudre ou se disperser dans les fluides de l'ampoule rectale ;
- la bonne tolérance vis-à-vis de la muqueuse rectale ;
- la capacité d'étalement...

Le poids des suppositoires est de **3 grammes** pour adulte, **2 grammes** pour enfant et **1 gramme** pour bébé. Cette forme médicamenteuse est très utilisée de nos jours, car elle permet l'administration facile de médicaments irritants pour le tube digestif, et d'absorption difficile pour certains malades par voie buccale. De plus, la voie rectale permet l'absorption rapide de principes actifs du fait de la grande perméabilité des veines du rectum. Mais pour ce faire, le médicament doit être uniformément réparti dans la masse. Les principes actifs après avoir franchi la muqueuse rectale sont entraînés directement dans le torrent circulatoire par les veines hémorroïdales inférieures et moyennes.

La libération des PA se fait selon 2 possibilités :

- **Par fusion** : le suppositoire fond à la température corporelle.
- **Par dissolution**: le délitement se fait dans le liquide rectal puis il y a libération des PA.

b) Les avantages

La forme suppositoire peut être utilisée pour exercer une action générale en cas de :

- Vomissement ou d'obstruction gastro-intestinale,
- Instabilité du principe actif en milieu gastrique,
- Principes actifs à caractères organoleptiques désagréables,
- Principe actif irritant pour la muqueuse gastrique.

c) Composition

La composition des suppositoires comprend un excipient gras (beurre de cacao) qui fond à la température corporelle ou un excipient hydrosoluble.

➤ *Excipients*

L'excipient doit posséder un certain nombre de qualités :

- Innocuité rectale,
- Inertie chimique vis à vis des PA,
- Consistance convenable pour faciliter le moulage,
- Bonne conservation,
- Facilitation du mélange, c à d qu'il doit s'adapter aux conditions mécaniques de fabrication.

d) Procédé de fabrication

On distingue deux procédés :

- Compression dans des machines à comprimer rotatives avec des matrices et des poinçons de forme appropriée (procédé rarement utilisé).
- Fusion et coulée dans des moules appropriés, puis solidification par refroidissement.

➤ *Traitement du principe actif*

- Principe actif soluble dans l'excipient : pas de traitement particulier.
- Principe actif insoluble dans l'excipient : le réduire à un degré de finesse suffisant pour : éviter le risque de sédimentation au cours de la préparation, faciliter la dissolution et l'absorption par la muqueuse rectale. Granulométrie moyenne < 100µm.
- Principe actif insoluble dans l'excipient mais très soluble dans l'eau : préparation d'une solution aqueuse à disperser dans l'excipient (émulsification).

➤ *Traitement de l'excipient*

A l'industrie on utilise pour la fusion de l'excipient une cuve à double paroi en acier inoxydable appelée « fondoir » (un fluide chaud circule dans la double paroi).

➤ *Obtention de la masse homogène*

L'incorporation du ou des principes actifs est effectuée dans des cuves thermostatiques en acier inoxydable où sont réalisées dispersion et homogénéisation.

➤ *Mise en forme dans les moules*

La répartition de la masse homogène et fluide est réalisée par injection à l'aide de pompes doseuses

Dans des moules métalliques (conditionnement après démoulage)

Dans des moules emballages (matière plastique). (Moules servant de conditionnement primaire)

e) Conditionnement

- Complexe aluminium-matière plastique.
- Deux plaques de matière plastique préformées.
- Moules emballages.

f) Formulation

Les suppositoires se préparent généralement par le procédé dit de fusion puis coulée d'un mélange de principe actif et d'excipient dans des alvéoles, la répartition se fait donc en volume (volume des alvéoles du moule).

Le moule à suppositoire est caractérisé par une contenance régulière (exprimé en gramme de masse d'excipient), mais lorsqu'on incorpore une dose bien déterminée de principe actif, ce dernier va déplacer une certaine quantité d'excipient.

Il est donc nécessaire de calculer la masse exacte d'excipient à ajouter à une dose de principe actif pour remplir exactement une alvéole du moule, ceci revient à déterminer le **facteur de déplacement (f)** du principe actif vis-à-vis de l'excipient utilisé.

Facteur de déplacement : C'est le nombre de grammes d'excipient déplacé par un gramme de principe actif.

La masse d'excipient est donnée par la formule suivante :

$$M = F - f \cdot s$$

M : masse d'excipient pour le nombre de suppositoires à préparer.

F : masse de n suppositoires à base d'excipient pur (contenance du moule).

f : facteur de déplacement du principe actif.

s : masse du principe actif pour le nombre de suppositoires à préparer.

Exemple

Préparer 10 suppositoires selon la formule suivante :

Principe actif.....250 mg

Excipient.....q.s.p.....un suppositoire de 2 g

On distingue deux cas :

- Calcul du facteur de déplacement :
- Préparation de 10 suppositoires à base d'excipient pur ; (soit P₁ leur poids).
- Préparation de 10 suppositoires renfermant 80% d'excipient et 20% de principe actif ; (soit P₂ leur poids).

Suppositoire à base d'excipient pur

20% P₂ (la quantité de principe actif) déplace → P₁ - 80% P₂ (la quantité d'excipient)

1 g de principe actif déplace → f

$$f = P_1 - 0,8 P_2 / 0,2 P_2$$

Connaissant la valeur du facteur de déplacement, il ne reste plus qu'à calculer la masse exacte d'excipient pour 10 suppositoires.

Pour plusieurs principes actifs la masse d'excipient est donnée par la formule suivante :

$$M = F - \Sigma f.s$$

III.5.7. Contrôle des suppositoires

a) Essais des excipients

➤ *Essais physiques*

- Point de fusion.
- Point de solidification.
- Viscosité.
- Dureté.
- Densité :

➤ Essais chimiques : Il s'agit surtout des différents indices des corps gras :

- l'indice d'acide.
- l'indice de saponification
- l'indice d'iode.

➤ Essais physiologiques.

b) Contrôle organoleptique :

- aspect homogène en surface et en profondeur.
- Surface unie, lisse et brillante.
- Suppositoire coupé en deux (sens de la longueur) :
 - pas de sédimentation de principe actif.
 - pas d'agglomération du principe actif.

c) Uniformité de masse

On pèse individuellement 20 suppositoires, les poids individuels doivent se trouver dans les limites de $\pm 5\%$ du poids moyen avec cependant une tolérance de $\pm 10\%$ pour deux unités.

d) Résistance à la rupture

La Pharmacopée prescrit un essai de résistance à la rupture des suppositoires. Elle décrit un appareil dans lequel le suppositoire est placé entre deux mâchoires. Des masses de 200 g permettent d'augmenter la pression progressivement.

On opère dans une chambre thermostatée à 25 °C. Cet essai s'applique uniquement aux suppositoires à base d'excipients gras. La valeur obtenue doit être supérieure à 20N pour que le suppositoire ne se casse pas au moindre choc.

e) Essai de désagrégation

- Cet essai est destiné à déterminer la plus ou moins grande aptitude des suppositoires à se ramollir ou se désagréger, en milieu liquide, dans le temps prescrit.
- Trois appareils contenant un suppositoire chacun, sont placées dans un bac remplie d'eau dont la température est maintenue à 36 – 37°C,
- On fait tourner chaque appareil de 180° toutes les 10 min.
- Le temps de désagrégation ne doit pas dépasser 30 min pour les suppositoires à excipients gras et 60 min pour les excipients hydrosolubles.
- Temps de ramollissement des suppositoires lipophiles : essai destiné à déterminer, dans des conditions définies, le temps écoulé jusqu'à ce qu'un suppositoire placé dans l'eau soit suffisamment ramolli pour ne plus offrir de résistance à une charge définie.

f) Essai de dissolution

Destiné à déterminer la vitesse de dissolution des principes actifs. (Appareil à palette ou appareil à panier ...)

Documentation et traçabilité

Chaque lot est accompagné d'un dossier de lot décrivant les résultats des contrôles et les non-conformités sont signalées et traitées immédiatement.

Les tests sont réalisés conformément aux pharmacopées (Pharmacopée Européenne, USP, etc.) et aux Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF/GMP).

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]- Alain Le Hir, Jean-Claude Chaumeil, Denis Brossard, « *Pharmacie galénique Bonnes pratiques de fabrication des médicaments* », 9^e édition, ELSEVIER MASSON (2009).
- [2]- Patrice Trouiller, « *Histoire de la Pharmacie* », Université Joseph Fourier de Grenoble (2012).
- [3]- Agence Nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, « *Bonnes pratiques de fabrication* », Bulletin officiel N^o/1 bis (2014).
- [4]- Organisation Mondiale de la Santé, « *Assurance de la qualité des produits pharmaceutiques* », Volume 1, Genève(1998).
- [5]- Contrefaçon de médicaments, une atteinte à la santé publique, LEEM (2017).
- [6]- D.A.Dean, E.R.Evans, I.H.Hall, « *Pharmaceutical Packaging Technology* », Taylor & Francis (2005)
- [7]- Éric ROCHER, « *Conditionnement et Emballage* », Groupe Eyrolles (2008).
- [8]- Francis Rouessac, Annick Rouessac, Daniel Cruché, « *Analyse Chimique* », 6^e édition Dunod, Paris, (2004).
- [9]- Walter Jennings, Eric Mittlefehldt, Philip Stremple, « *Analytical Gas Chromatography* » 2^e édition, J-W Scientific, Folsom, California (1997).
- [10]- D. Bauer, R. Rosset, « *Chimie analytique générale* », tome 3, Masson (1982).