



Département de Technologie Chimie Industrielle

Rapport de Stage

En vue de l'obtention du diplôme

De Licence professionnalisant en :

Génie de la formulation

Thème :

Contrôle de qualité d'une forme galénique liquide sirop SALBUTAMOL

Réalisé par :

Mr. ADJEDJ Chouaib Mustapha

Encadré par :

Mme HALEM Zohra

MCB / promotrice

Tuteur de l'entreprise

Mr.SERRADJ Salih
ingénieur de laboratoire SAIDAL

Soutenu devant le Jury :

Mr AOUDJIT Farid

MAA/ Examineur

Mme IGGUI Kahina

MCB / Présidente

Remerciements

*En préambule à ce mémoire, qui est un aboutissement à de longues et fastidieuses années d'études universitaire, je remercie **ALLAH** le tout puissant de m'avoir aidé et fourni le courage nécessaire, qui m'ont permis de surmonter les difficultés durant ce parcours universitaire.*

De nombreuses personnes ont contribué scientifiquement intellectuellement ou techniquement à la réduction de ce mémoire.

*Qui nous exprimons notre grande reconnaissance et mes vifs remerciements à ma promotrice Mm. **HALEM Zohra** pour la confiance qu'elle m'a témoigné en me dirigé tout au long de ce projet sa disponibilité ses encouragements et sa patience qui ma permis de finaliser ce modeste travail.*

*Aussi, je remercie **M.SERRADJ Salih**, mon tuteur de stage qui m'a formé et accompagné tout au long de cette expérience professionnelle avec beaucoup de patience et de pédagogie. Enfin, je remercie l'ensemble des employés et des chimistes et techniciens de laboratoire des matières et d'analyse spécial et tout travailleur de laboratoire SAIDAL pour les conseils et l'information qu'ils ont pu me prodiguer au cours de ce stage.*

A toutes les personnes qui ont participé à ce projet de près ou de loin en soient pleinement remerciées.

Je remercie très vivement l'ensemble d'enseignants et

Le personnel de l'institut de technologie de notre université pour l'aide qu'il m'a fournie.

Mes remercies vont également à tous mes amies et collègues de la Promotion 2019 de l'institut de Bouira.

Enfin mes remerciements à tous les membres du jury.



Dédicaces

*Je dédie ce travail à mes chers parents ;
Deux personnes exceptionnelles qui, par leur
amour, leur dévouement, leur patience
et leur soutien inconditionnel
m'ont permis d'arriver là où je suis.*

A mes frères : Ayoub, Abdennour.

A ma chère sœur Ines.

NJBRS

*Je la dédie, aussi, à mes amies les plus proches
Et à toute personne qui me connaisse.*



Sommaire

Introduction générale	1
------------------------------------	----------

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1 Généralités sur le groupe « SAIDAL »	2
I.1.1. Présentation du site de travail « SAIDAL ».....	2
I.1.2. Historique du Groupe SAIDAL.....	2
I.1.3. Organisation du groupe SAIDAL.....	4
I.1.4. Site de production Gué de Constantine GDC.....	5
I.2. Généralités sur les médicaments	6
I.2.1. Définition d'un médicament.....	6
I.2.2. Définition d'un médicament antitussif.....	6
I.2.3. Voies d'administration	6
I.2.4. Composition des médicaments.....	7
I.4.1. Définition d'un principe actif.....	7
I.4.2. Définition d'un excipient.....	7
I.2.5. Définition de la médecine traditionnelle	7
I.2.6. Définition des plantes médicinales.....	8
I.2.7. Définition de la phytothérapie	8
I.2.8. Principes actifs naturels.....	8
I.3. Procédés de fabrication du sirop	8
I.3.1. Procédés d'extractions du PA de la plante	8
I.3.1.1. Extraction liquide solide	8
I.3.1.2. Extraction liquide-liquide.....	9

I.4. Conditionnement	10
I.4.1. Types de conditionnement.....	10
Conditionnement primaire	10
Conditionnement secondaire	10
I.5. Contrôle de qualité (CQ).....	10
I.5.1. Définition du Contrôle de qualité	10
I.5.2. Types de Contrôle de qualité.....	10
I.5.2.1. Contrôle physico-chimique.....	10
I.5.2.2. Contrôle microbiologique	11
I.5.2.3. Contrôle toxicologique	12
I.5.3. Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.).....	12
I.5.4. l'Organisation mondiale de la santé (OMS)	12

Chapitre II : Fabrication et contrôle de qualité de SALBUTAMOL ®2mg/5mL

II.1. Identification du médicament	13
II.2. Mode et voie d'administration	14
II.3. Effets thérapeutiques de SALBUTAMOL.....	14
II.4. Principe actif de SALBUTAMOL	14
II.4.1. Définition	14
II.4.2. Structure chimique.....	14
II.5. Les excipients de SALBUTAMOL	15
II.5.1. Ethanol (C₂H₄O)	15
II.5.2. Ethylparaben	15
II.5.3. Méthylparabène.....	15
II.5.4. saccharose.....	16
II.6. Contrôle de qualité.....	16

II.6.1. Contrôle physico-chimique.....	16
II.6.2. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC).....	16
	II.6.2.1. Définition 16
II.6.3. Spectroscopie Infrarouge (IR).....	17
	II.6.3.1. Définition 17
II.6.4. Dosage du Principe actif	17
II.6.5. Contrôle qualité microbiologique	23

Chapitre III : Aperçu sur la plante *Malva sylvestris* & Protocole expérimental

III.1. Présentation et description botanique de la plante <i>Malva sylvestris</i>	25
III.1.1. Famille des malvacées.....	25
III.1.2. Le genre <i>Malva</i>	25
III.1.3. Espèce <i>Malva sylvestris</i>	25
III.1.3.1 Les fleurs de <i>Malva sylvestris</i>	26
III.1.3.2. Feuilles de <i>Malva sylvestris</i>	26
III.1.3.3. Tige de <i>Malva sylvestris</i>	27
III.1.3.4. Racine de <i>Malva sylvestris</i>	27
III.1.3.5. Le fruit de <i>Malva sylvestris</i>	28
III.1.4. Systématique.....	29
III.1.5. Utilisations des mauves.....	29
III.1.5.1. Usages thérapeutiques	29
III.1.5.2. Propriétés pharmacologiques.....	29
III.1.5.3 Usages culinaires	30
III.2. Protocole expérimental	30
III.2.1. Identification et récolte.....	30
III.2.2. Extraction	31

III.2.3. Tests de présence des métabolites secondaires (composés phénoliques).....	32
III.2.4. Tests biologiques	33
III.2.4.1. Test de l'activité anti oxydante par le DPPH.....	33
III.2.5. Réduction du fer.....	34
III.2.5.1 FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	34
III.2.5.2. Résultats FRAP	35
III.2.6. DPPH	35

Chapitre IV : Résultats

IV.1. Principe actif : (SALBUTAMOL sulfate).....	36
IV.1.1. Spectre IR	36
IV.1.2. Dosage par HPLC	37
IV.2. Contrôle qualité microbiologique.....	38
IV.2.1. Contrôle microbiologique du produit fini.....	38
Résultats et norme	38
Conclusion	39

Liste des figures

Figure I.1: Groupe SAIDAL	5
Figure I.2: Voies d'administration.....	6
Figure I.3: Extraction de la molécule actif dans une plante (extraction solide-liquide)	9
Figure I.4: Extraction liquide-liquide.....	9
Figure I.5: Tests Microbiologiques.....	11
Figure II.1: SALBUTAMOL Sirop.	13
Figure II.2: Structure chimique de SALBUTAMOL sulfate.....	14
Figure II.3: Formule de l'éthanol.....	15
Figure II.4 : Formule Méthylparabène.....	16
Figure II.5: HPLC waters alliance 2695	17
Figure II.6: Aire du pic correspondant au SALBUTAMOL sulfate dans la solution à examiner	20
Figure II.7: Aire du pic correspondant au SALBUTAMOL sulfate dans la solution standard.	21
Figure II.8: Spectromètre UV-VIS	22
Figure III.1: Fleur de Malva sylvestris.	26
Figure III.2: Feuille de Malva sylvestris.	26
Figure III.3: Tige de Malva sylvestris.	27
Figure III.4: Racine de Malva sylvestris.	28
Figure III.5: Fruit de Malva sylvestris.....	28
Figure III.6: Schéma de l'évaporateur rotatif.	31
Figure III.7: Résultats d'absorbance de FRAP.	35
Figure III.8: Histogramme représentatif du pourcentage de piégeage du radical (DPPH).....	35
Figure III.1: Spectre IR de l' SALBUTAMOL sulfate.....	36
Figure IV.2: Chromatogramme SALBUTAMOL sulfate.....	37
Figure IV.3: Chromatogramme SALBUTAMOL sulfate le standard.	37

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Historique de SAIDAL.....	3
Tableau III.1: Systématique du malva sylvestris.....	29
Tableau III.2: Protocole expérimental des tests de présence des métabolites secondaires.....	32
Tableau IV.1: Résultats du test microbiologique du sirop «SALBUTAMOL »	38
Tableau IV.2: Résultats et norme	38

Liste des abréviations

GDC : Gué De Constantine.

MT : Médecine traditionnelle

OMS : Organisation mondiale de la santé

PA : Principe Actif

PVC : Polychlorure de vinyle

CQ : Contrôle qualité

HPLC : Chromatographie liquide haute performance.

PF : Produit finis

PH. EUR : Pharmacopée Européenne.

SCR : Substance chimique référence.

UV : Ultra Violet.

IR : Infra Rouge.

DCM : Dichlorométhane.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

CCM : chromatographie couche mince.

TSB : Bouillon tryptane soja.

TSA : Gélose trypto-caséine soja

pH : Potentiel hydrogène

® : Marque enregistré.

Résumé :

Un médicament est. un produit pas comme les autres dont sa composition possède des propriétés curatives et préventives à l'égard des maladies, il doit répondre à cinq exigences fondamentales: qualité, efficacité, pureté, identité et sûreté; Il ne peut être mis en circulation qu'à l'issue de contrôles de la qualité portant sur toute la chaîne de production. Les risques médicamenteux constituent un problème majeur de santé publique tant sur le plan clinique que sur celui des coûts. Notre travail compose de quatre chapitres

Mots clés: SALBUTAMOL, *Malva sylvestris*, HPLC, DPPH.

التلخيص:

البنيات الكيميائية للأدوية ليست كباقي البنيات، فهي تحوي خصائص علاجية ووقائية من أغلبية الفيروسات، فهي تجيب عن معايير محددة هي: الجودة، الفعالية، النقاوة والتأكد. لا يمكن وضعه في التداول إلا بعد مراقبة الجودة على خط الإنتاج بأكمله. المخدرات هي مشكلة صحية عامة رئيسية من حيث المناخ والتكلفة. يستخدم سالبوتامول وسيلفستريس مالفا في علاج أعراض الربو وغيرها من أمراض القصبات الهوائية عكسها لدى الأطفال والرضع، واحد يمثل الطب الحديث، والآخر يمثل الطب التقليدي (الأدوية العشبية).

الكلمات المفتاحية: سالبوتامول، نبات الخبيزة، النقع، ألوان.

Abstract

Chemical structures of medicines are not the same as other structures. They contain the therapeutic and preventive properties of the majority of viruses. They meet specific criteria: quality, efficiency, purity and warranty.

It can be put into circulation only after quality control on the entire production line.

Drugs are a major public health problem in terms of climate and cost. Salbutamol and Malva sylvestris are used in the symptomatic treatment of asthma and other reversible bronchopneumopathies in children and infants, one represents modern medicine, and the other represents traditional medicine (herbal medicine).

Keywords: SALBUTAMOL, *Malva sylvestris*, HPLC, DPPH.

Introduction

Générale

Introduction générale

Le secteur de santé en Algérie a connu une amélioration de tous les paramètres de santé quantifiables. Des progrès ont été réalisés, surtout depuis le début des années 2000, grâce à une priorité redonnée à l'accès à la santé et une part croissante du budget de l'état consacrée à la santé. La dépense courante de santé en Algérie représente pour 2014, 12,1 % du produit intérieur brut, soit 60 milliards de DA de budget annuel sectoriel. La santé est ainsi le quatrième poste de dépense avec 366 milliards de DA à dépenser en 2014.

L'industrie pharmaceutique, joue le rôle d'un pilier très essentiel dans le secteur de la santé, quel que soit recherche, développement fabrication contrôle et commercialisation des médicaments au service de la santé humaine.

La phytothérapie est la médecine par les plantes, selon l'O.M.S (organisation mondiale de la santé) la phytothérapie est considérée comme médecine alternative.

L'objectif de réalisation de ce travail est de suivre la fabrication d'un médicament sous forme d'un sirop qui est **Salbutamol -SAIDAL® 2 MG/5 ML**, il est classé comme un Bronchodilatateur et Antiasthmatique.

Le 2ème objectif est de faire une recherche bibliographique sur la plante Malva sylvestris, populairement connue sous le nom "Khobeiza" avec quelques manipulations pour se familiariser avec les pratiques du laboratoire.

Salbutamol et Malva sylvestris sont utilisés dans le traitement symptomatique de l'asthme et des autres bronchopneumopathies réversibles de l'enfant et du nourrisson, l'une représente la médecine moderne, et l'autre représente la médecine traditionnelle (phytothérapie).

Ce travail s'organise donc autour de quatre chapitres :

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

Chapitre II : Fabrication et contrôle de qualité de Salbutamol ®2mg/5mL

Chapitre III : Aperçu sur la plante Malva sylvestris & Protocole expérimental

Chapitre IV : Résultats

Partie théorique

Chapitre I
Synthèse Bibliographique

I.1 Généralités sur le groupe « SAIDAL »

I.1.1. Présentation du site de travail « SAIDAL »

SAIDAL est une société par actions, au capital de 2.5 milliards dinars algériens, dont l'objectif primordial est d'accroître, de créer et de distribuer des produits pharmaceutiques à usage humain.

Sa vision demeure dans son habilité de voir le futur et garantir la position d'un laboratoire leader aux niveaux national et régional tout en perçant le marché international [1].

Implanté en Algérie, BIOTIC est une des trois filiales du leader de l'industrie pharmaceutique en Algérie, le groupe SAIDAL. Avec un capital de 590.000.000 DA, BIOTIC a pour principale mission la production et la commercialisation de médicaments génériques

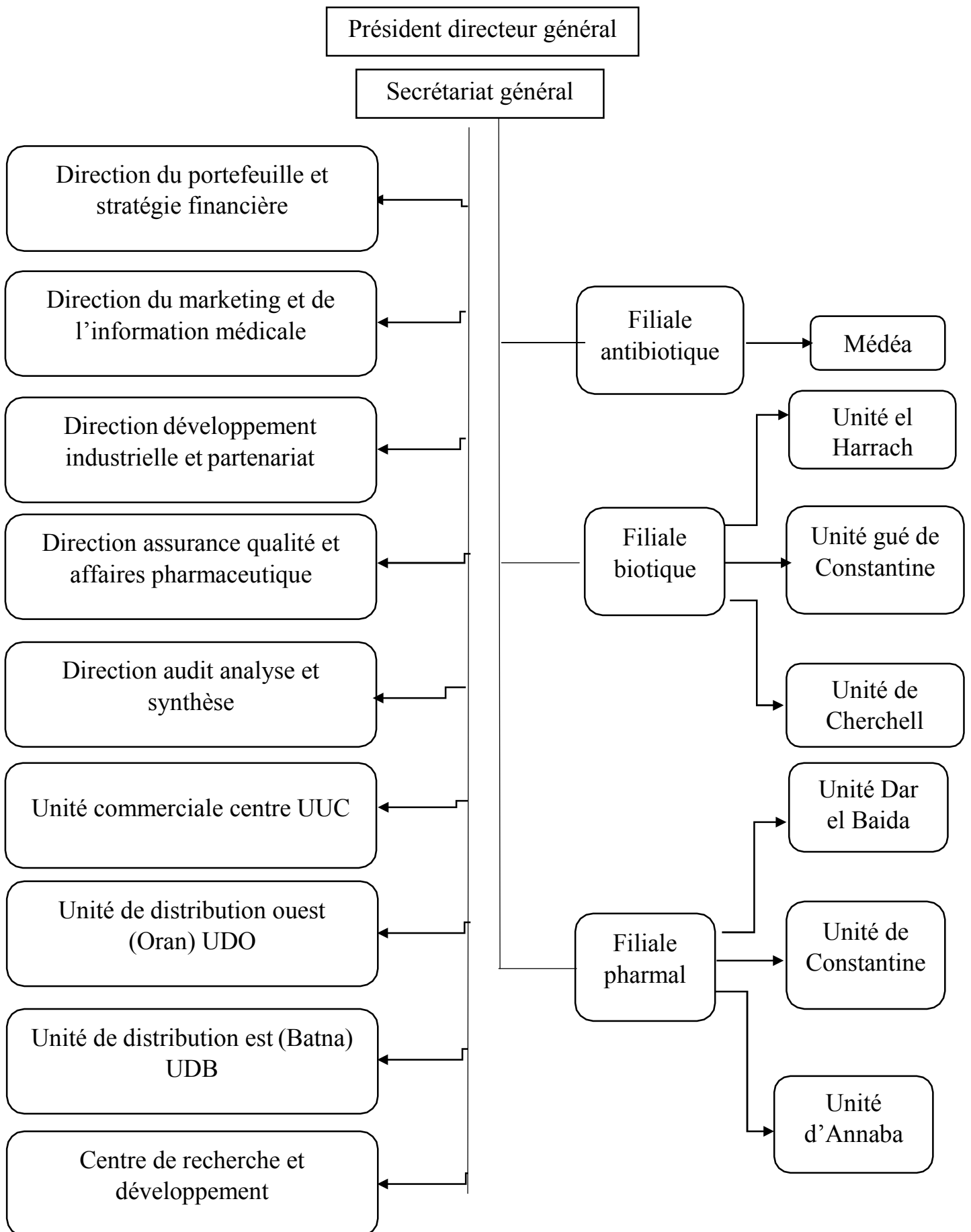
I.1.2. Historique du Groupe SAIDAL

Implanté en Algérie, BIOTIC est des trois filiales du leader de l'industrie pharmaceutique en Algérie, Le groupe SAIDAL et l'unité de Gué de Constantine est considérée comme l'unité la plus ancienne des unités de biotic. Cette unité existe depuis 1958, avec une surface de stockage de 3800 m et un potentiel humain de 595 employés. Elle est spécialisée dans la fabrication et la commercialisation des comprimés, suppositoires, gélules, ampoules buvables et solutés massifs.

Tableau I.1 : Historique de SAIDAL.

1969	Création de la pharmacie centrale algérienne(PCA) par un décret présidentiel, et ayant pour mission de garantir l'exclusivité de l'état sur l'importation, la conception et la distribution des produits pharmaceutiques à usage humain.
1971	Réalisation de l'unité de production d'El Harrach et rachetée en deux périodes (1971 puis 1975) les unités Biotic et Pharmal par PCA.
1982	Réorganisation de la PCA et la création de l'entreprise nationale de production pharmaceutique.
1985	Le nom de l'entreprise national de production pharmaceutique change pour devint SAIDAL.
1988	Intégration du complexe antibiotique de Médéa qui appartenait alors a la SNIC.
1989	SAIDAL devint une entreprise publique économique (EPE)
1997	La transformation de SAIDAL en groupe industriel le 02/02/1998 aux quelle sont conciliées trois filiales Pharmal, Biotic, Antibiotical.
2014	SAIDAL adopte une nouvelle organisation par la fusion par voie d'absorption des filiales Antibiotical, Pharmal, Biotic détenues à 100%

I.1.3. Organisation du groupe SAIDAL



I.1.4. Site de production Gué de Constantine GDC

Il se compose de deux parties distinctes : une pour la fabrication des formes galéniques (suppositoires, ampoules, gélule et comprimés), l'autre dotée d'une technologie très récente spécialisée dans la production des solutés massifs (poches et flacons). Cette usine dispose d'un laboratoire de contrôle de qualité.

Ce site dispose de quatre ateliers de production :

- Atelier des suppositoires ;
- Atelier des solutés massifs flacons ;
- Atelier des ampoules buvables ;
- Atelier des gélules et comprimés.

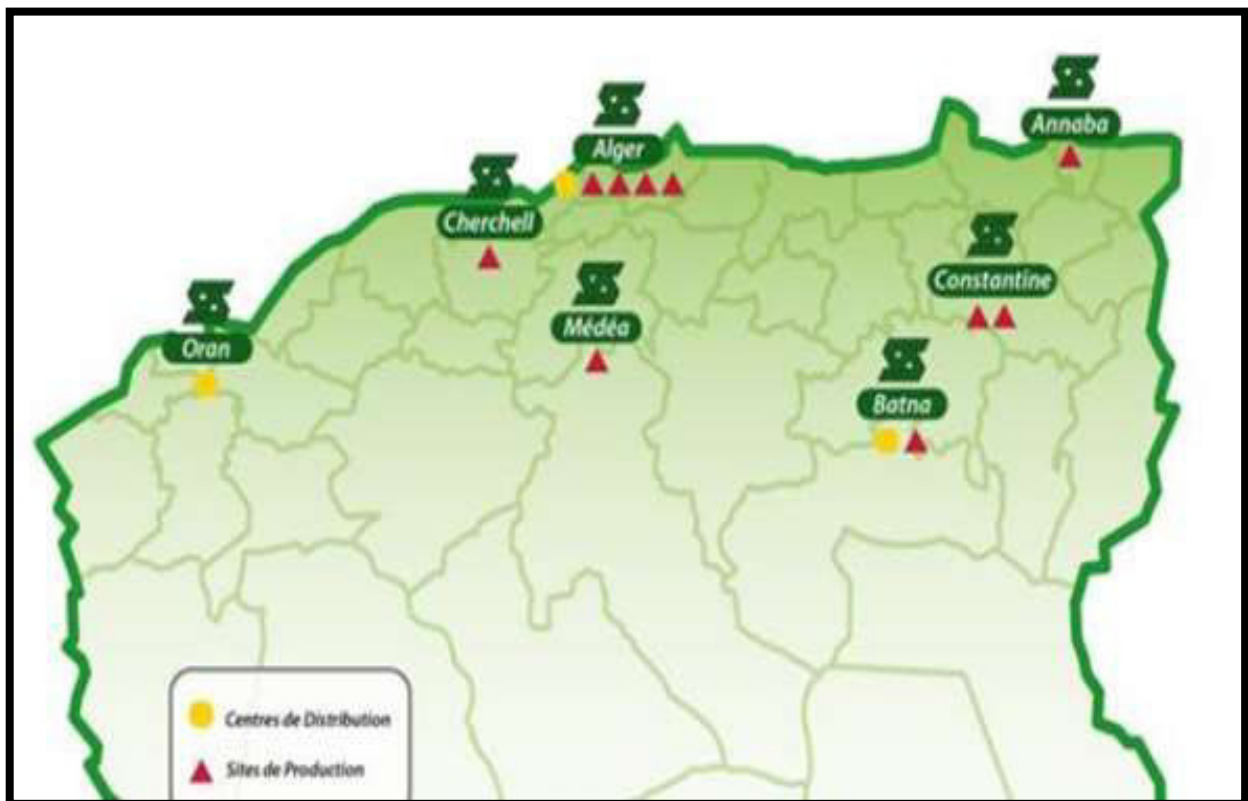


Figure I.1: Groupe SAIDAL.

I.2. Généralités sur les médicaments

I.2.1. Définition d'un médicament

Un médicament est une substance possédant des propriétés curatives ou préventives destinées à guérir, soulager ou prévenir les maladies. Il contient à la fois la notion de guérison et de prévention.

I.2.2. Définition d'un médicament antitussif

Médicament antitussif est un médicament censé arrêter la toux. Le type d'antitussif adéquat dépend de la nature de la toux.

I.2.3. Voies d'administration d'un médicament

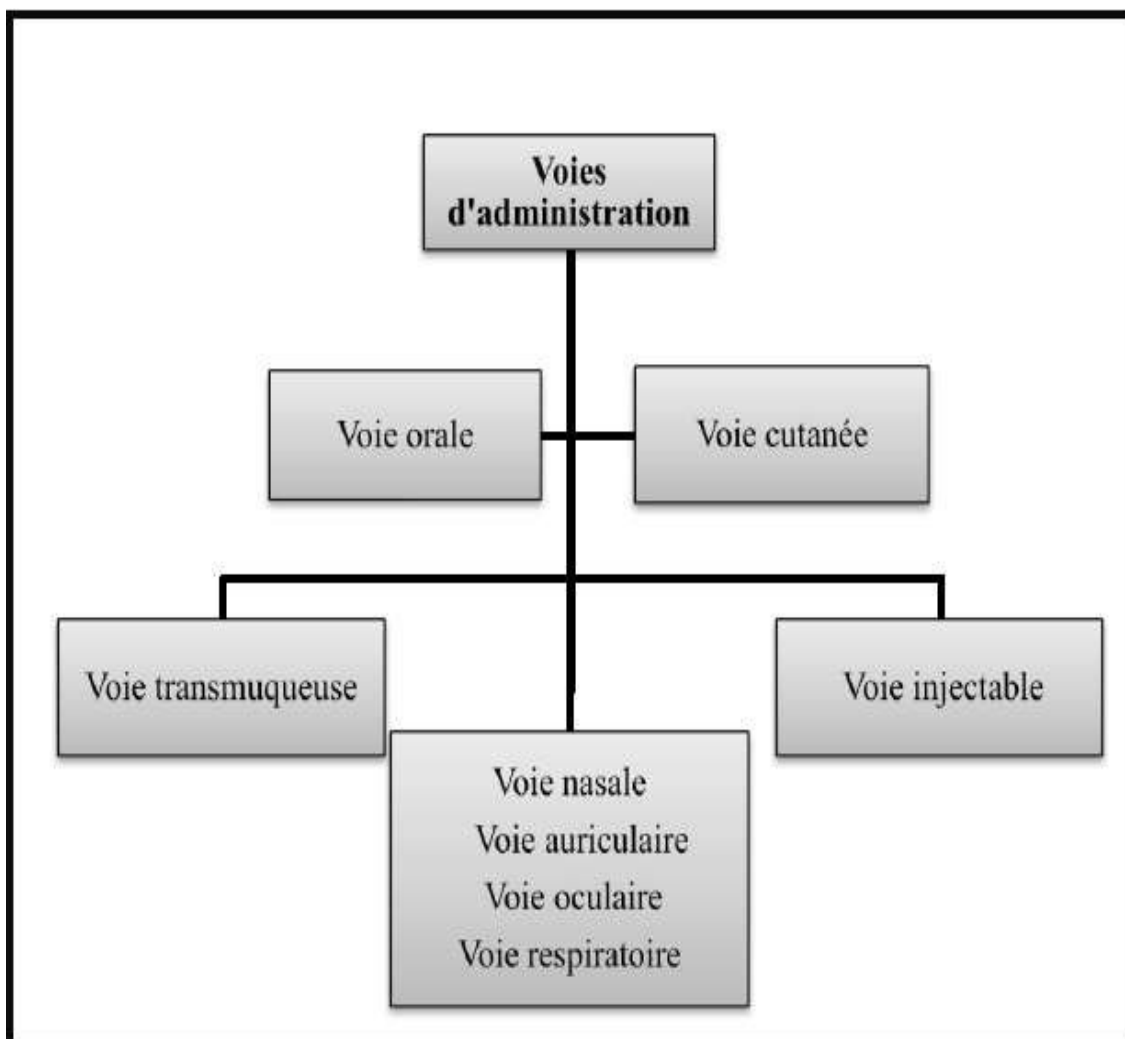


Figure I.2: Voies d'administration d'un médicament.

I.2.4. Composition des médicaments

Un médicament est constitué d'un ou plusieurs principes actifs d'origine animale, végétale, minérale ou chimique, responsables de son effet clinique, et d'excipients nécessaires à la fabrication du produit.

I.2.4.1. Définition d'un principe actif

Principe actif désigne la substance chimique qui, dans un médicament, possède un effet thérapeutique. Ou bien c'est la substance qui exerce une action pharmacologique ou un autre effet direct en rapport avec le diagnostic, le traitement ou la prévention d'une maladie, ou à agir sur la structure ou les fonctions de l'organisme humain ou animal par des moyens pharmacologiques [2].

I. 2.4.2. Définition d'un excipient

Tout composant, autre que le(s) principe(s) actif(s), qui est présent dans un médicament ou utilisé pour sa fabrication. La fonction d'un excipient est de servir de vecteur (véhicule ou base) au principe actif, ou d'entrer dans la composition du vecteur, contribuant ainsi à certaines propriétés du produit tel que la stabilité, le profil biopharmaceutique, l'aspect et l'acceptabilité pour le patient, la facilité de fabrication.

La formulation d'un médicament comprend généralement plusieurs excipients [3]

I.3.2.1 Véhicule

Dans la préparation liquide, vecteur du principe actif, composé d'un ou de plusieurs excipients

I.3.2.2 Base

Dans les préparations solides ou semi solides, vecteur du principe actif, composé d'un ou plusieurs excipients

Au même titre que le P.A, les excipients jouent un rôle capital dans le médicament à plusieurs niveaux :

Conception

Fabrication

Conservation et

Administration du médicament [4].

I.2.5. Définition de la médecine traditionnelle

La médecine traditionnelle (MT) : Selon l'OMS la MT est « l'ensemble de toutes les connaissances et de toutes les pratiques, explicables ou non, transmises de génération en

génération, oralement ou par écrit, utilisées dans une société humaine pour diagnostiquer, prévenir ou éliminer un déséquilibre du bien-être physique, mental, social, moral et spirituel»[5].

I.2.6. Définition des plantes médicinales

On qualifie une plante médicinale toute plante possédant des propriétés agissant sur l'organisme humain ou animal de façon bénéfique. Les plantes médicinales sont utilisées en médecine naturelle. Généralement, seule une partie de la plante est utilisée, que ce soit le bulbe, les racines, les feuilles, les graines, les fruits ou les fleurs. La branche de la médecine qui utilise des plantes médicinales est appelée phytothérapie [6].

I.2.7. Définition de la phytothérapie

Le mot phytothérapie provient de 2 mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ». La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels.

I.2.8. Principes actifs naturels

Le principe actif naturel, ou la substance active est fait dans le laboratoire mais parfois on le trouve dans la nature pour l'incorporé dans le médicament.

I.3. Procédés de fabrication du sirop

Les médicaments sous forme liquide (sirop) sont produits dans l'industrie pharmaceutique par trois (03) principaux modes de fabrication :

- a. Pesée
- b. Filtration
- c. Stockage

I.3.1. Procédés d'extractions du PA de la plante

Seule une partie de la plante est utilisée, que ce soit le bulbe, les racines, les feuilles, les graines, les fruits ou les fleurs. Ces dernier contient un ou plusieurs PA, on peut l'extraire avec plusieurs méthodes : [7]

I.3.1.1. Extraction liquide solide

L'extraction solide-liquide est un procédé d'extraction d'un soluté liquide ou solide à partir d'un solide en utilisant un liquide comme solvant d'extraction. Ce procédé fait partie avec l'extraction liquide-liquide.[8]

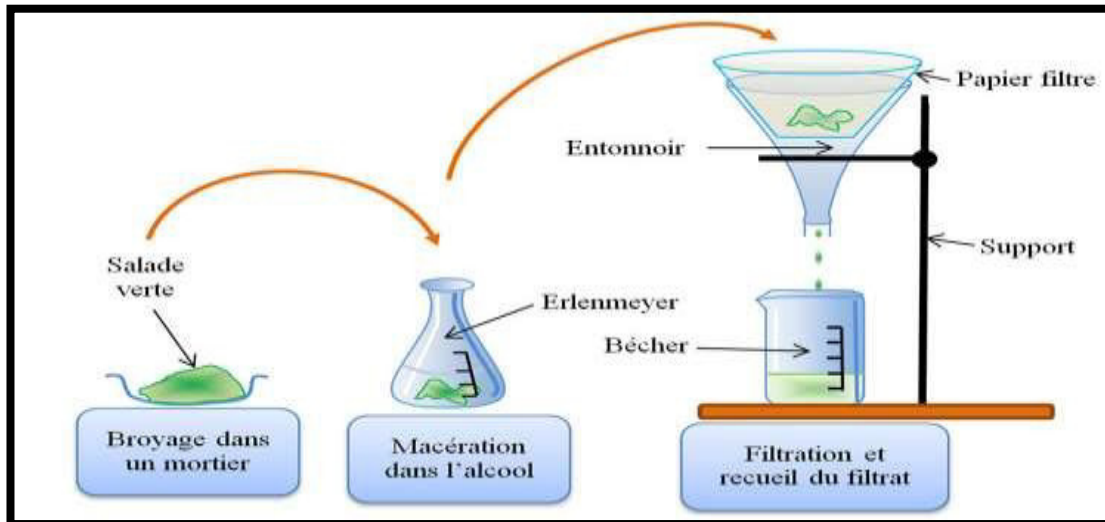


Figure I.3: Extraction de la molécule actif dans une plante (extraction solide-liquide).

I.3.1.2. Extraction liquide-liquide

C'est une technique brevetée de la société DIONEX qui utilise les solvants conventionnels à des températures (50 – 200 °C) et des pressions (100 – 150 bar) élevées. La pression est maintenue assez élevée pour maintenir le solvant à l'état liquide à température élevée. Le solvant reste toujours en dessous de ses conditions critiques [9]. Les avantages de cette technique devant les techniques conventionnelles sont les suivants : on évite les échauffements locaux et on consomme de plus petites quantités de solvant en comparaison à l'extraction par Soxhlet et par Batch avec agitation. Ses inconvénients sont liés à son non sélectivité, ce qui impose des procédures supplémentaires de nettoyage des extraits. Les températures opératoires élevées peuvent mener à une dégradation des solutés thermolabiles [10].

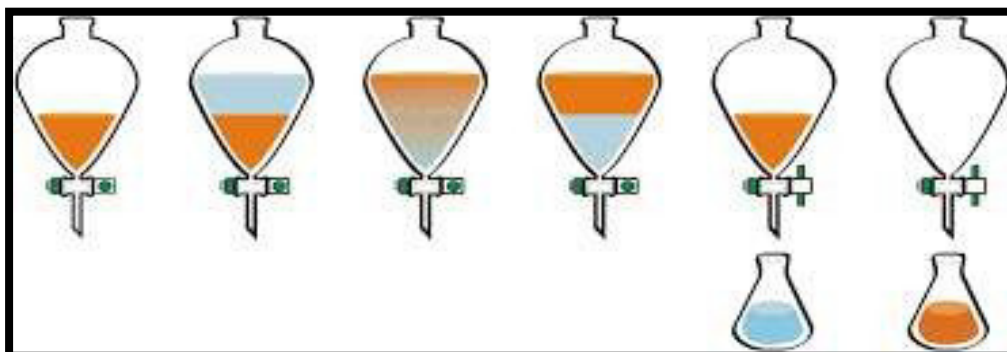


Figure I.4: Extraction liquide-liquide.

I.4. Conditionnement

Toutes les opérations, y compris le remplissage et l'étiquetage, que doit subir un produit en vrac en vue d'obtenir un produit fini.

La machine du type « IMA »

I.4.1. Types de conditionnement

- **Conditionnement primaire**

C'est « le récipient ou tout autre forme de conditionnement avec lequel le médicament se trouve en contact direct ». Cette phase de conditionnement primaire, où le produit semi ouvert est placé dans son enveloppe de protection, est délicate puisqu'il est encore en contact avec le milieu extérieur. Les comprimés sont conditionnés en blisters, ce sont des emballages composés d'aluminium PVC (polychlorure de vinyle) le plus fréquemment, qui sont thermoformés (PVC) et thermo soudés sur la ligne de conditionnement à partir de rouleaux pré-imprimés.

- **Conditionnement secondaire**

Il est représenté en général par l'étui. Ce type de conditionnement n'est pas en contact direct avec le médicament mais il le protège. Il peut comporter plusieurs conditionnements primaires (blisters) ainsi qu'une notice. Le papier et le carton sont très utilisés pour cet emballage extérieur. Ces matériaux sont légers et peu chers.

I.5. Contrôle de qualité (CQ)

I.5.1. Définition du Contrôle de qualité

Le contrôle qualité des médicaments est un ensemble de mesures qui permet de savoir si les médicaments fabriqués ou vendus par une entreprise sont conformes.

- Aux exigences du marché ;
- A la demande du client ;
- Aux législations en vigueur ;
- Au cahier des charges de l'entreprise [11].

I.5.2. Types de Contrôle de qualité

I.5.2.1. Contrôle physico-chimique

Sert à vérifier la structure de la molécule et d'établir les propriétés physiques et chimiques. Il permet ainsi de vérifier et de s'assurer du bon usage de la substance annoncée [12].

✓ **Test de friabilité**

Le test de friabilité permet de s'assurer que les, présentent une résistance mécanique suffisante, pour que leurs surfaces ne soit pas endommagées ou ne présentent pas des signes d'abrasion ou de rupture, sous l'effet de toutes les manipulations (chocs mécaniques, frottements, attrition) qu'ils vont subir jusqu'au moment de leur utilisation [13].

✓ **Test de désagrégation**

Est destiné à déterminer leur plus ou moins grande aptitude à se désagréger, en milieu liquide, dans un temps prescrit et dans des conditions expérimentales bien définies [14].

✓ **Test de dureté**

Consiste à exercer une pression sur le comprimé jusqu'à son point de rupture [15].

✓ **Chromatographie liquide haute performance(HPLC)**

Technique d'analyse pour séparer les constituants d'un mélange en phase liquide. Les molécules à séparer sont entraînées par un fluide (liquide) = **phase mobile**. Elles interagissent (ou pas) avec un support fixe (solide) = **phase stationnaire** [16].

I.5.2.2. Contrôle microbiologique

C'est des méthodes utilisées pour la détection ou le dénombrement des microorganismes [17].

Le contrôle microbiologique du PF d'un médicament sous forme d'un sirop comporte les tests suivants :

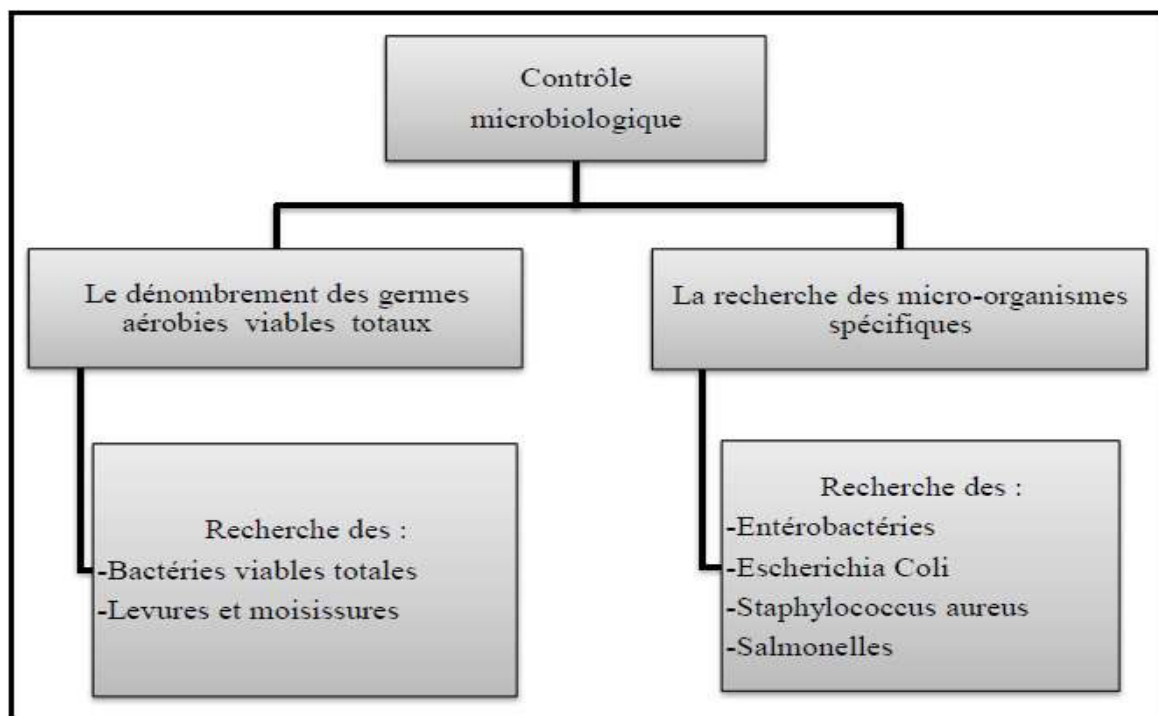


Figure I.5 : Tests Microbiologiques.

I.5.2.3. Contrôle toxicologique

Le contrôle Toxicologique étudie les effets nocifs des substances chimiques sur les organismes vivants [17].

I.5.3. Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.)

Elle participe à la protection de la santé publique en élaborant des monographies générales et spécifiques, ainsi que d'autres textes réglementaires. Ces derniers permettent de réglementer la fabrication des produits de santé et d'assurer leur contrôle de qualité. Ils sont applicables sur le territoire des pays membres. Ils répondent aux besoins des autorités réglementaires, des fabricants de matières premières et de médicaments, et des services chargés des contrôles de qualité des médicaments et de leurs constituants [18].

I.5.4. L'Organisation mondiale de la santé (OMS)

Depuis 1991, l'OMS a élaboré et publié une série de guides techniques dont les Lignes directrices concernant l'évaluation des médicaments à base de plantes, les Lignes directrices de la recherche pour l'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité des médicaments à base de plantes et les Lignes directrices pour la recherche clinique concernant l'acupuncture. Ils ne suffisent cependant pas à couvrir les nombreux aspects de la recherche et de l'évaluation relative à la médecine traditionnelle [19].

Chapitre II

Fabrication et contrôle de
qualité de Salbutamol
®2mg/5mL

Notre travail a été réalisé au niveau du site de production Gué de Constantine du groupe SAIDAL durant la période mars- juin de l'année 2019.

II.1. Identification du médicament

Le produit choisi pour notre stage est un sirop :

Nom Commercial : SALBUTAMOL SAIDAL

Dosage : 2MG/5ML**

Forme : SOL. BUV.

Laboratoire : SAIDAL GROUPE

Classe thérapeutique : PNEUMOLOGIE

Classe pharmacologique : BRONCHODILATATEURS & ANTI-ASTHMATIQUES

Conditionnement : FL/150ML

Commercialisation : OUI

Remboursable : OUI

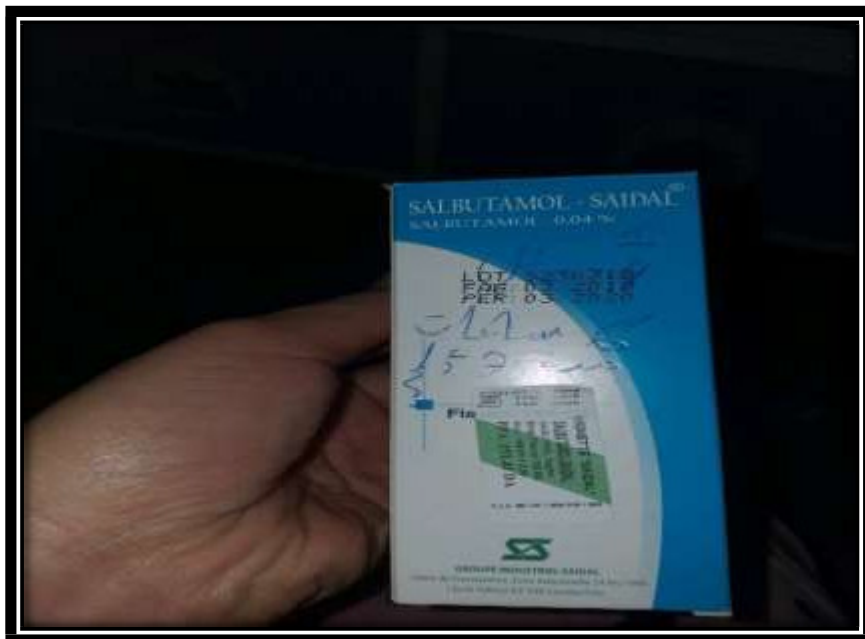


Figure II.1 : SALBUTAMOL Sirop.

II.2. Mode et voie d'administration

Voie orale, SALBUTAMOL 2mg/5ml Sirop bouteille 150 mL

II.3. Effets thérapeutiques de SALBUTAMOL

C'est un bronchodilatateur (il augmente le calibre des bronches) à action retardée et de courte durée qui s'administre par voie orale. Il est indiqué en traitement de la maladie asthmatique et de certaines maladies respiratoires chez l'enfant et le nourrisson.

II.4. Principe actif de SALBUTAMOL

II.4.1. Définition

Le principe actif du SALBUTAMOL est sulfate de SALBUTAMOL. Ces spécialités sont des bronchodilatateurs de la classe des bêta-2 agonistes à action rapide et de courte durée, utilisés en inhalation par nébulisation. [Haute autorité de la santé HAS, 22 juin 2005]

II.4.2. Structure chimique

Formule brute : $C_{13}H_{21}NO_3$

Masse molaire : $239,3107 \pm 0,013$ g/mol

Nom UICPA : (RS)-4-[2-(tert-butylamino)-1-hydroxyethyl]-2-(hydroxyméthyl) phénol

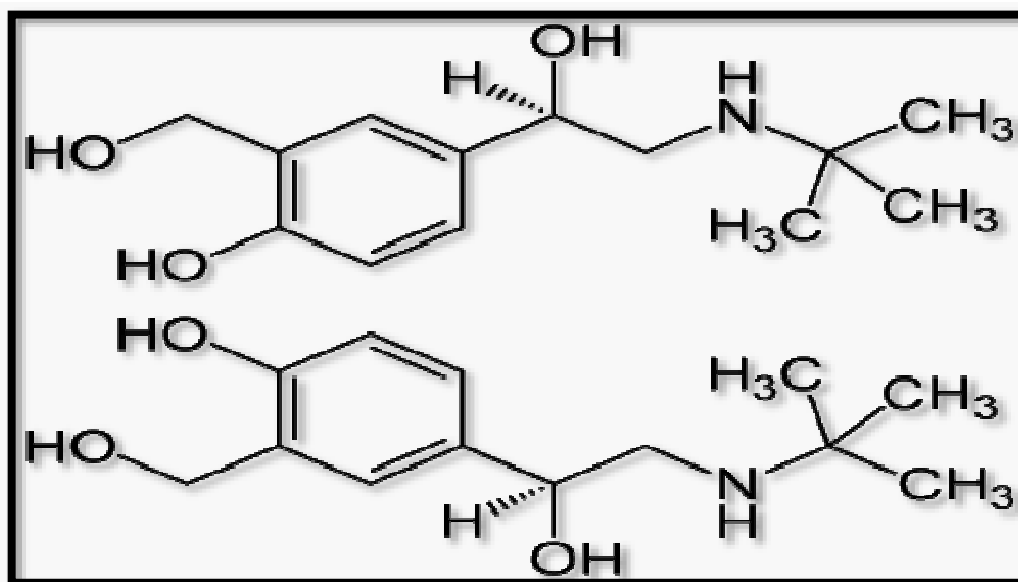


Figure II.2 : Structure chimique de SALBUTAMOL sulfate.

II.5. Les excipients de SALBUTAMOL

II.5.1. Ethanol (C_2H_4O)

Dans la Pharmacopée, figurent l'alcool officinal qui est l'alcool éthylique à 95° et l'alcool absolu. Ils sont utilisés comme solvants, seuls ou associés à d'autres solvants miscibles, pour la préparation de solutés destinés à l'usage externe ou interne.

Dans les solutés pour usage externe, l'alcool ajoute à ses qualités de solvant ses propriétés personnelles d'antiseptique. Dans les préparations pour usage interne, il favorise la conservation, en empêchant le développement des micro-organismes

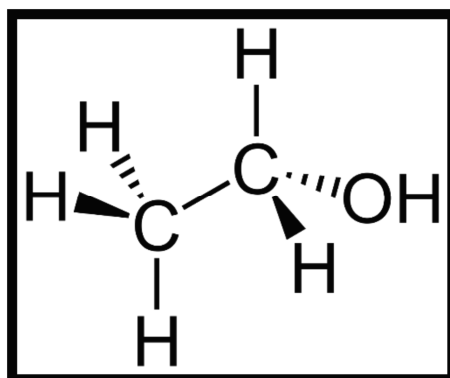


Figure II.3 : Formule de l'éthanol.

II.5.2. Ethylparaben

Le 4-hydroxybenzoate d'éthyle est un conservateur de la famille des parabènes Il est utilisé dans les cosmétiques, les médicaments et les aliments, pour ses propriétés antibactériennes et antifongiques.

Formule : $C_9H_{10}O_3$

Masse molaire : 166,17 g/mol

Formule brute : $C_9H_{10}O_3$

II.5.3. Méthylparabène

Le méthylparabène est utilisé comme agent de conservation dans l'industrie pharmaceutique depuis plus de 50 ans. La formule chimique du méthylparabène sodique est $C_8H_7NaO_3$. Il peut également se retrouver naturellement dans les fruits comme les myrtilles où il exerce une activité antimicrobienne. Le méthylparabène sodique est la forme de sel de sodium du méthylparabène.

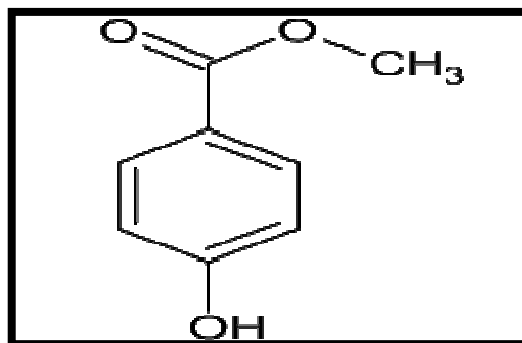


Figure II.4 : Formule Méthylparabène.

II.5.4. Saccharose

Le sucre blanc est très utilisé dans de nombreuses formes galéniques comme diluant (malgré son inconvénient d'être hygroscopique) et comme édulcorant dans diverses formes solides et liquides destinées à la voie orale.

II.6. Contrôle de qualité

Avant de commercialiser un médicament sous la forme d'un sirop, il faut s'assurer de sa qualité. Divers tests sont nécessaires afin d'effectuer le contrôle de la qualité d'un médicament. Il faut s'assurer que le médicament respecte les normes de fabrication.

Toutes les méthodes d'analyses utilisées au cours de notre travail sont décrites par la Pharmacopée européenne 2014.

II.6.1. Contrôle physico-chimique

L'analyse physico-chimique d'un médicament nécessite l'utilisation de plusieurs techniques et la mise en œuvre des différents tests spécifiques sur le principe actif, les excipients et le produit fini.

II.6.2. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

II.6.2.1. Définition

La chromatographie liquide à haute performance est une forme moderne des méthodes chromatographiques, dont les intitulés sont rassemblés sous le vocable général de chromatographie liquide sur colonne, qui, quel que soit le phénomène physique invoqué (adsorption, partage, échanges d'ions...). L'HPLC a la possibilité de séparer et d'identifier les composés qui sont présents dans tout échantillon qui peuvent être dissous dans un liquide en concentrations infimes de l'ordre de parties par millier. Cette versatilité permet d'utiliser l'HPLC dans une variété d'applications industrielles et scientifiques comme, les produits

pharmaceutiques, l'environnement, la médecine légale et les produits chimiques



Figure II.5: HPLC waters alliance 2695

II.6.3. Spectroscopie Infrarouge (IR)

II.6.3.1. Définition

La spectroscopie d'absorption infrarouge, étudie les vibrations et les rotations des molécules, lorsqu'elles sont irradiées par une onde électromagnétique de fréquence comprise dans le domaine d'IR. La spectroscopie IR est une technique d'analyse qualitative d'une molécule, en déterminant la nature des fonctions chimiques présentes dans la molécule.

II.6.3.2. Principe actif (SALBUTAMOL sulfate)

Pour faire l'analyse ou bien le contrôle primaire du PA (SALBUTAMOL Sulfate) il faut passer par deux méthode, spectrophotométrie d'adsorption dans l'infrarouge et par Ultras vis (UV). La différence entre les deux méthodes est :

UV : Identification et dosage.

I.R : Identification et quantité.

II.6.4 Dosage du Principe actif

Dosage du Principe actif (SALBUTAMOL SULFATE)

Réalisé par : HPLC (chromatographie à haute pression) :

Solution Standard :

Peser 4.8 mg (SALBUTAMOL Sulfate) de 4mg SALBUTAMOL base) dans une fiole jaugée de 100mL et on complète le volume avec la phase mobile A

C'est quoi la phase mobile A ?

Elle contient :

Acide acitoamonuim

Acide acétique glacial

Avec : propan-2-ol

UV/VIS :

STD : 0.8054

STD : 0.8053 moyenne = 0.8054

STD : 0.8054

S010519 : 1.2018

S010519 : 1.2003 moyenne = 1.2008

S010519 : 1.2004

La teneur en PA (SALBUTAMOL sulfate) g/100 mL

Formule :

$$T = \frac{A_{\text{essai}}}{A_{\text{std}}} * \frac{PE_{\text{std}}}{PE_{\text{essai}}} * 0.04 * TITRE_{\text{std}}$$

A_{essai} : aire di pic correspondant au SALBUTAMOL sulfate dans la solution à examiner.

A_{STD} : aire du pic correspondant au SALBUTAMOL sulfate dans la solution standard.

PE_{STD} : prise d'essai réelle du standard.

PE_{essai} : prise d'essai théorique du standard.

Calcule :

D'après Figure II.6 et Figure II.7 :

$$T = \frac{A_{\text{essai}}}{A_{\text{std}}} * \frac{PE_{\text{std}}}{PE_{\text{essai}}} * 0.04 * TITRE_{\text{std}}$$

$$T = \frac{314969}{341100.5} * \frac{4.8}{4.8} * 0.04 * 1.00036$$

$$T = 0.0369$$

La norme : [0.0360, 0.0420]

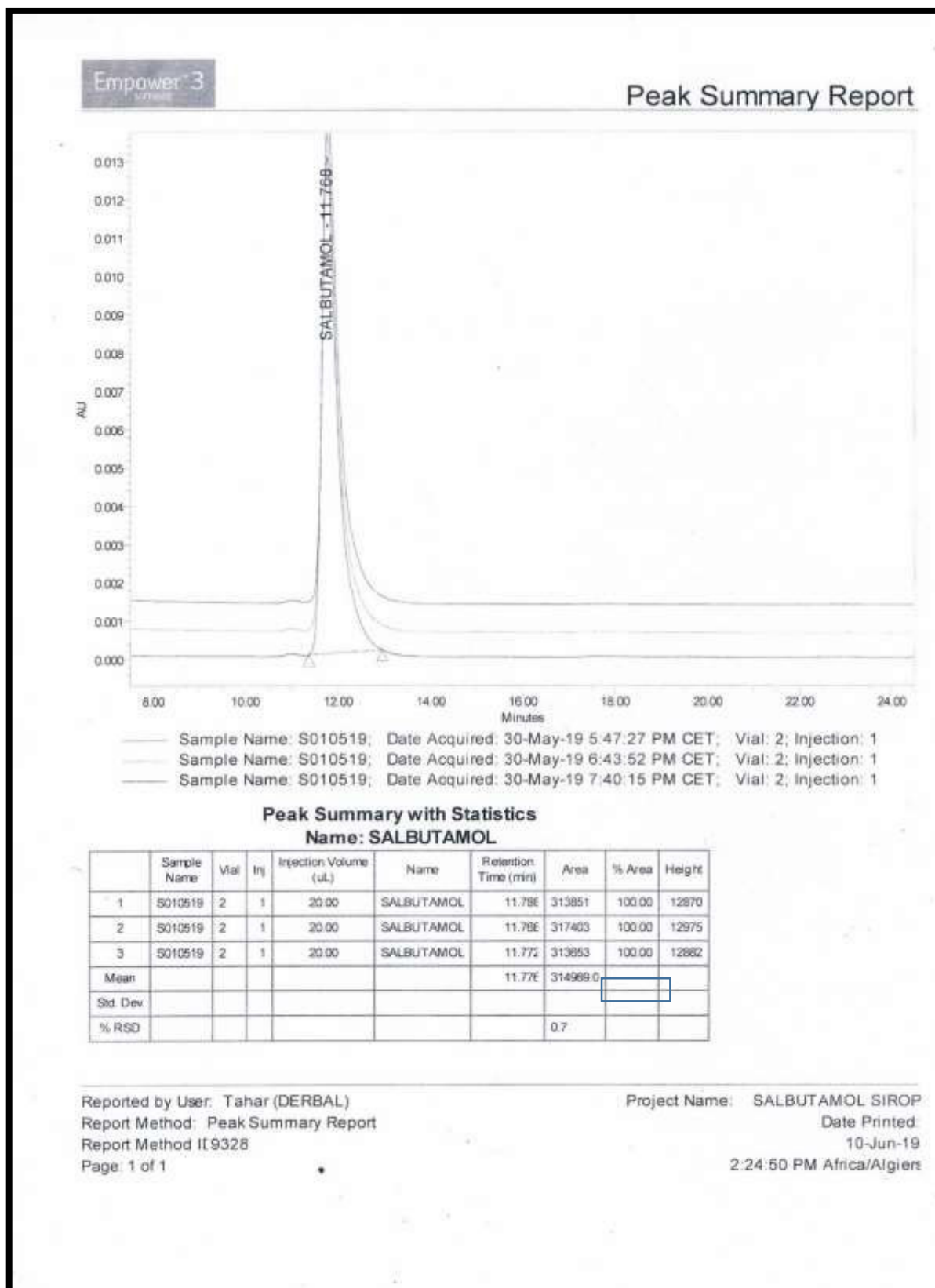


Figure II.6 : Aire du pic correspondant au SALBUTAMOL sulfate dans la solution à examiner

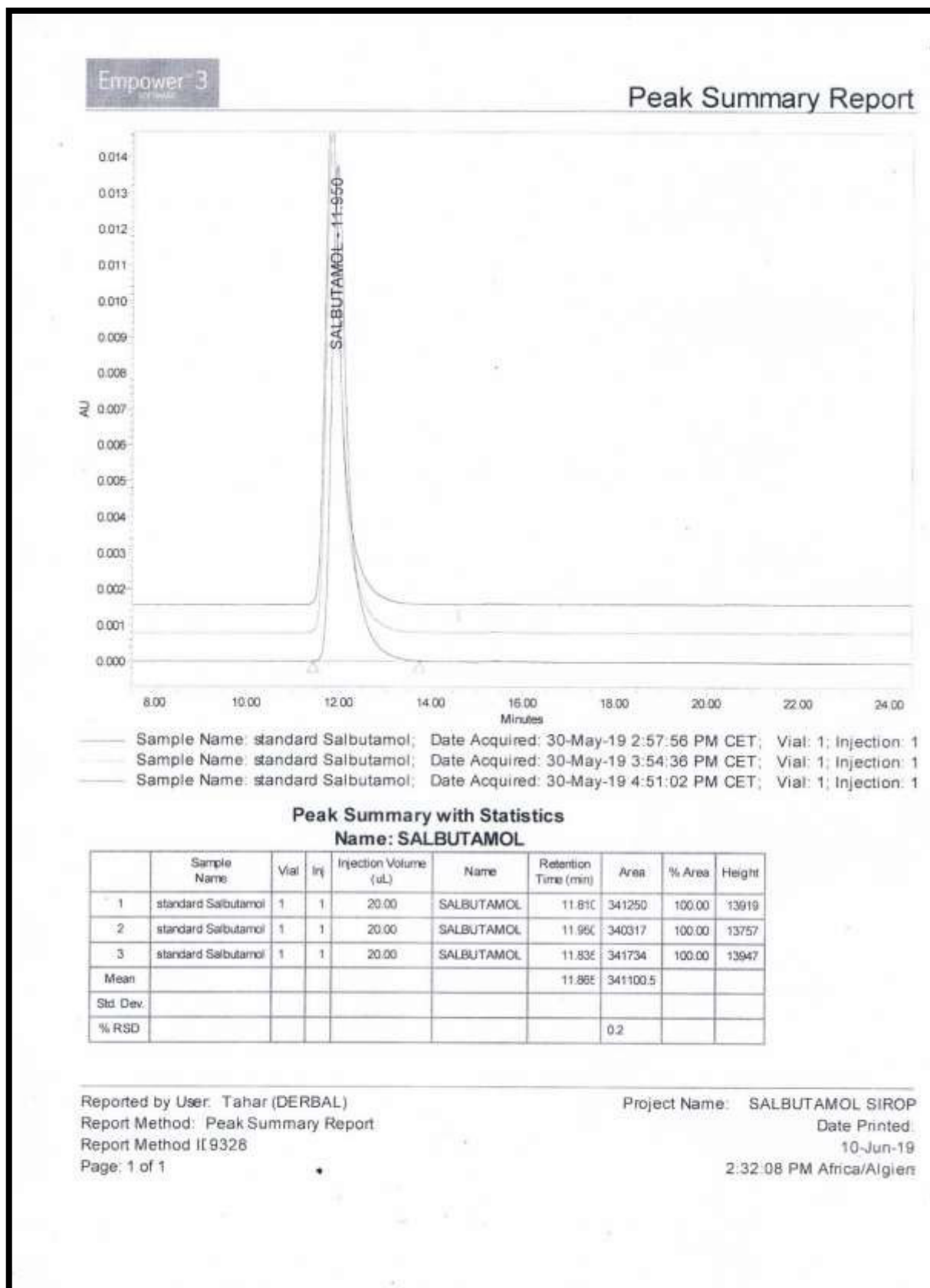


Figure II.7 : Aire du pic correspondant au SALBUTAMOL sulfate dans la solution standard.

II.3.2. Parahydroxybenzoate d'Ethyl :

Essai de sensibilité : 0.2 mL de solution de vert de bromocrésol ajouter en 100 mL d'eau de dioxyde d'eau base R. L'indicateur ne nécessite pas plus de 0.2mL d'acide chlorohuxique 0.002M

pH = 3.6 → (jaune)

pH = 5.2 → (bleu)

II.3.3. Dosage Conservateurs par UV/VIS

(Para hydroxy benzoatendenmethyle)

(Para hydroxy benzoate d'éthyle)



Figure II.8: Spectromètre UV-VIS.

$$dosage\ conservateur = \frac{abs(essai)}{abs(std)} * (P_{essai\ cons1} * T + P_{essai\ cons2} * T)$$

$$dosage\ conservateur = \frac{1.2008}{0.8054} * (14.9 * 1.0055 + 85.2 * 0.993)$$

$$dosage\ conservateur = 128,3\ mg$$

La norme [125,5, 147.5]

II.6.5. Contrôle qualité microbiologique

Les préparations pharmaceutiques devraient satisfaire aux essais spécifiés de la pharmacopée européenne.

« A : Préparations pour administration par voie orale ou rectale »

Dans ce cas il faut faire les tests microbiologiques suivants :

- ❖ Dénombrement des germes aérobies viables totaux (Au maximum 10³ bactéries et 10² moisissures et levures).
- ❖ Absence d'Escherichia coli (1 g ou 1 ml).

Elle comprend :

- ❖ Les formes pharmaceutiques destinées à la voie rectale (les suppositoires, suspensions et solutions à usage rectales).
- ❖ Les formes pharmaceutiques destinées à la voie orale :

Les formes solides : poudres orales, formes obtenues par répartition des poudres dans des enveloppes (les sachets, les gélules ou capsules dures), formes obtenues par traitement des poudres (comprimés, granulés) et les capsules molles.

Les formes liquides : sirops, liquides pour administration orale.

« B : Préparations pour administration orale contenant des matières premières d'origine naturelle (animale, végétale ou minérale) ».

Lorsqu'un prétraitement antimicrobien est impossible et que l'autorité compétente admet une contamination microbienne des matières premières supérieure à 10³ micro-organismes viables par gramme ou par millilitre.

- ❖ Catégories 4 « Médicaments à base de plantes exclusivement composés d'une ou plusieurs drogues végétales (entière, en fragments ou en poudre) »

Elle comprend les médicaments à base de plantes exclusivement composés d'une ou plusieurs drogues végétales (entière, en fragments ou en poudre).

Dans notre cas, Le sirop «SALBUTAMOL » on va suivre cette méthode. Donc, pour son analyse microbiologique, il faut prendre 5 flacons de chaque lot.

On prend de chaque flacon une quantité que l'on introduit dans un bécher et on obtient un volume moyen. On prend 1ml de ce dernier, on le met dans le milieu d'enrichissement TSB (Bouillon Tryptone Soja), puis on l'incube à 30-35°C pendant 24h.

On prend 10 ml de volume moyen puis on rajoute 90 ml de la solution tampon pH=7. On prélève quelques gouttes à l'aide d'une pipette pasteur, on les ensemence dans les boîtes de pétri, en faisant des stries serrées dans le milieu TSA (gélose trypto-caséine soja), et des stries éloignées dans le milieu Sabouraud. On incube les boîtes à 30-35°C pour le milieu de culture TSA et 20-25°C pour le milieu Sabouraud pendant 5 jours.

Après l'incubation du milieu TSB, on prend 1 ml et on le met dans le bouillon de Mac Conckey, on l'incube à 40-45°C pendant 24-48h. Après l'incubation on prend quelques gouttes pour l'ensemencement dans le milieu Mac Conckey gélosé, on l'incube pendant 48- 72h à 30-35°C.

Chapitre III

Aperçu sur la plante *Malva sylvestris* & Protocole expérimental

III.1. Présentation et description botanique de la plante Malva sylvestris

III.1.1. Famille des malvacées

Les Malvacées sont des plantes dicotylédones, dialypétales thalamiflores, méristémones [1].

C'est une famille cosmopolite mais présente surtout dans les régions chaudes des tropiques, bien qu'on trouve aussi des représentants des Malvacées dans les régions tempérées [2]. Ainsi le nombre de Malvacées diminue graduellement à mesure que l'on va +9vers le Nord [3].

Les Malvacées peuvent être des herbes (c'est le cas du genre *Malva*) ou des arbustes (comme les hibiscus). Les Malvacées constituent la seule famille des Malvales qui ne contient pas d'arbre.

La fleur des Malvacées est hermaphrodite, régulière, pentamère et de grande taille. Leurs pétales au nombre de cinq sont libres ou légèrement soudés à la base, avec une préfloraison tordue. Les fleurs sont solitaires ou regroupées en grappes de cymes [4].

Les Malvacées ont des feuilles alternes, simples, stipulées, lobées, palmati-découpées ou composées-palmées. Le plus souvent les feuilles sont palmatilobées. Le pétiole est souvent renflé aux extrémités et possède des poils pluricellulaires souvent étoilés très caractéristiques chez les *Malva* [1].

III.1.2. Le genre Malva

Les mauves ont donné leur nom à la famille des Malvacées et à l'ordre des Malvales. Elles se ressemblent étroitement par leurs caractères anatomiques comme par leurs propriétés.

Les mauves sont des plantes herbacées robustes. Elles ont un aspect extérieur très polymorphe. Elles mesurent de 10 cm à 2 m de haut, peuvent être dressées ou bien étalées. Cependant leur tige est toujours ramifiée. Certaines espèces sont recouvertes de poils, d'autres non [5][6][7].

Les mauves sont vivaces, bisannuelles ou annuelles selon l'espèce. La floraison des différentes espèces de *Malvas* échelonne entre avril et octobre [5].

De nombreuses mauves ne supportent pas l'altitude et seules certaines arrivent à pousser au-dessus de 1500 mètres.

III.1.3. Espèce Malva sylvestris

La *Malva sylvestris* est devenue une espèce très commune que l'on rencontre facilement à l'état sauvage, dans les champs, le long des chemins et des routes, et même dans certains lieux inhospitaliers comme les terrains vagues. Peu exigeante, à condition qu'elle ait du soleil, cette

plante bisannuelle de 30 à 100 cm de hauteur porte de grandes feuilles dentelées vert foncé et, de juin à octobre, des fleurs d'un beau mauve rosé, rehaussé de stries violettes, qui s'épanouissent en 5 pétales [8].

III.1.3.1 Les fleurs de *Malva sylvestris*

Les fleurs de la mauve sylvestre sont rose pourpré. Elles sont portées par de courts pédicelles et regroupées en bouquet de deux ou plus. Soit à l'aisselle des feuilles supérieures (fascicules axillaires), soit à l'extrémité des rameaux [6][9][10].

Ces inflorescences sont des cimes lâches de 2 à 5 fleurs [10][11].



Figure III.1 : Fleur de *Malva sylvestris*.

III.1.3.2. Feuilles de *Malva sylvestris*

Les feuilles de la mauve sylvestre mesurent jusqu'à 12 cm de longueur et 15 cm de largeur. Les feuilles de *Malva sylvestris* sont palmatilobées. Les lobes sont disposés en éventail et ont un bord denté. La plupart des feuilles ont 5 lobes mais le nombre de lobes peut varier de 3 à 7 par feuilles [9][10].



Figure III.2: Feuille de *Malva sylvestris*.

Les feuilles inférieures ont une forme ronde, les lobes sont peu profonds et nombreux (5 à 7 par feuilles), elles sont suborbiculaires, alors que les supérieures ont des lobes plus profonds et au nombre de 3 à 5, ce sont des feuilles palmatifides [6] [11] [12]. Les feuilles sont de couleur vert foncé mais elles se colorent souvent de pourpre à la base [2]. Les nervures principales de la face supérieure de la feuille et du pétiole peuvent aussi être violettes. Les feuilles de *Malva sylvestris* sont grandes, velues et longuement pétiolées [13] [14]. Le pétiole est généralement plus long que le limbe et peut mesurer jusqu'à 2 mm de large. Il est arrondi, légèrement aplati et présente de discrets sillons longitudinaux verts ou brun-vert.

III.1.3.3. Tige de Malva sylvestris

La mauve sauvage a une tige ronde et velue. Cette tige est rameuse et ligneuse à la base [2]. Elle peut faire de 2 à 70 cm de long [9].



Figure III.3 : Tige de *Malva sylvestris*.

III.1.3.4. Racine de Malva sylvestris

La mauve sylvestre a une racine pivotante. La racine principale est fusiforme, de couleur blanche, forte et riche en mucilage. Les autres racines ne sont que de discrètes radicelles [2]



Figure III.4 : Racine de *Malva sylvestris*.

III.1.3.5. Le fruit de Malva sylvestris

Ce fruit à la forme d'une meule de fromage en part, c'est ce qui a donné le nom populaire de fromageon ou de fromage, à la mauve sylvestre. Il est souvent consommé par les enfants [2]. A maturité le fruit est incomplètement enveloppé par le calice légèrement accrescent [14] et les pédoncules fructifères restent dressés [6].



Figure III.5: Fruit de *Malva sylvestris*.

III.1.4. Systématique [16]

Tableau III.1 : Systématique du malva sylvestris.

Règne	Végétal
Famille	Malvacées
Genre	Malva
Espèce	<i>Malva sylvestris</i>
Classe	DicotylédonesouMagnoliopsida
Sous-classe	DilleniidaeouDialypétales
Embranchement	Spermaphytes
Sous Embranchement	AngiospermesouMagnoliophyta
Ordre	Malvales

III.1.5. Utilisations des mauves

Elles ont plusieurs utilisations :

III.1.5.1. Usages thérapeutiques

Les mauves sont toujours utilisées un peu partout à travers le monde. Ainsi l'étude de Kültür en 2007 a recensé 19 usages différents de *Malva sylvestris* dans la province de Kirklareli en Turquie. Depuis les oreillons, en passant par les calculs rénaux, les plaies, les problèmes gynécologiques et les bronchites [17].

L'étude de Cakilcioglu et Turkoglu (2010) a démontré que *Malva neglecta* était utilisée couramment par les populations locales de Sivrice (Anatolie orientale, Turquie) comme plante alimentaire et médicinale [18].

Dans le centre de l'Italie, une étude réalisée par Guarrera (2005), a montré que sur 100 villages interrogés, 70 utilisaient encore la mauve sylvestre comme plante thérapeutique.

Dans les campagnes françaises la mauve a toujours été un remède très apprécié, employé à défaut de guimauve [19].

III.1.5.2. Propriétés pharmacologiques

On peut citer les propriétés suivantes :

III.1.5.2.1. Action anti-inflammatoire

L'action anti-inflammatoire de *Malva sylvestris* a été démontrée. Ce sont les mucilages qui sont responsables de cette action [20].

La mauve est donc utilisée dans les inflammations des muqueuses, qu'elles soient respiratoires, urinaires, intestinales, buccales, vaginales.

III.1.5.2.2. Action cicatrisante

Il a été démontré que la racine de mauve sylvestre en pommade accélère la cicatrisation des brûlures chez les rats. On observe ainsi au niveau des plaies traité par *Malva sylvestris* une augmentation structurée des fibres de collagène, une augmentation des fibroblastes et la présence de seulement quelques cellules de l'inflammation. Les plaies présentent aussi une réduction de taille significative par rapport aux groupes témoins et une réépithélisation [21].

III.1.5.2.3. Action anti-oxydante

La *Malva sylvestris* a une action anti-oxydante [22]. En particulier les feuilles de *Malva sylvestris* ont révélées des propriétés anti-oxydantes très fortes [22].

III.1.5.2.4. Action antibactérienne

Ces dernières années, plusieurs études se sont efforcées de démontrer l'activité antibactérienne des mauves.

III.1.5.3 Usages culinaires

Les mauves, comme tous les membres de la famille des Malvacées, sont comestibles. Elles sont consommées depuis l'Antiquité et l'ont peut-être même été par les hommes préhistoriques. Les feuilles et les fleurs se consomment crues ou cuites. Les jeunes feuilles d'un vert clair vif sont les plus recherchées. La racine de mauve, quant à elle, n'est comestible que lorsqu'elle est jeune car plus tard elle devient ligneuse.

Aucune toxicité de la plante n'a été prouvée, même en cas d'utilisation prolongée. De plus, une confusion serait sans danger car toutes les Malvacées sont potentiellement comestibles [23]. Mais plusieurs lavatories et guimauves sont assez rares et ne doivent donc pas être cueillies.

Les mauves utilisée actuellement dans les régimes alimentaires locaux sont cueillies dans le milieu environnant. Leur consommation est plus importante en période de pénurie [24].

III.2. Protocol expérimental

III.2.1. Identification et récolte

Les parties aériennes du *Malva sylvestris* ont été rassemblées au début de l'étape de floraison, en février 2016, dans la région de Bir el Ater à l'est de l'Algérie.

L'identification de la plante a été faite par Dr. Hion du département de biologie, université de Tébessa.

Le poids de la matière végétale séchée est de : 1 kg la quantité globale (fleurs, racines, tiges, feuilles).

III.2.2. Extraction

Après le séchage dans un endroit sec et aéré, à l'ombre, les parties aériennes sont coupées en petits morceaux et ont subi une macération dans quatre solvants différents selon l'ordre suivant (l'hexane, le dichlorométhane, le méthanol et l'eau), pendant 48 heures dans chaque solvant.

Après la filtration et l'évaporation sous vide en utilisant l'évaporateur rotatif du laboratoire pédagogique, nous avons obtenu pour chaque extrait un produit dont la quantité et la couleur sont différentes pour chaque cas. Pour préparer nos extraits aux différentes utilisations nous avons éliminé la chlorophylle en utilisant une solution 2% d'acétate de plomb en utilisant le protocole opératoire suivant : Les extraits obtenus et la solution 2% d'acétate de plomb ont été portés séparément jusqu'à l'ébullition. La solution d'acétate de plomb est versée directement sur chaque extrait, le mélange est coulé doucement sur la silice étalée sur un papier filtre, cette dernière capte la chlorophylle.

Durant la filtration sous vide, la chlorophylle est quasiment captée par la silice. Les solutions obtenues (marron) ont été évaporées sous vide jusqu'à l'obtention de matières très concentrées sous forme de gels.

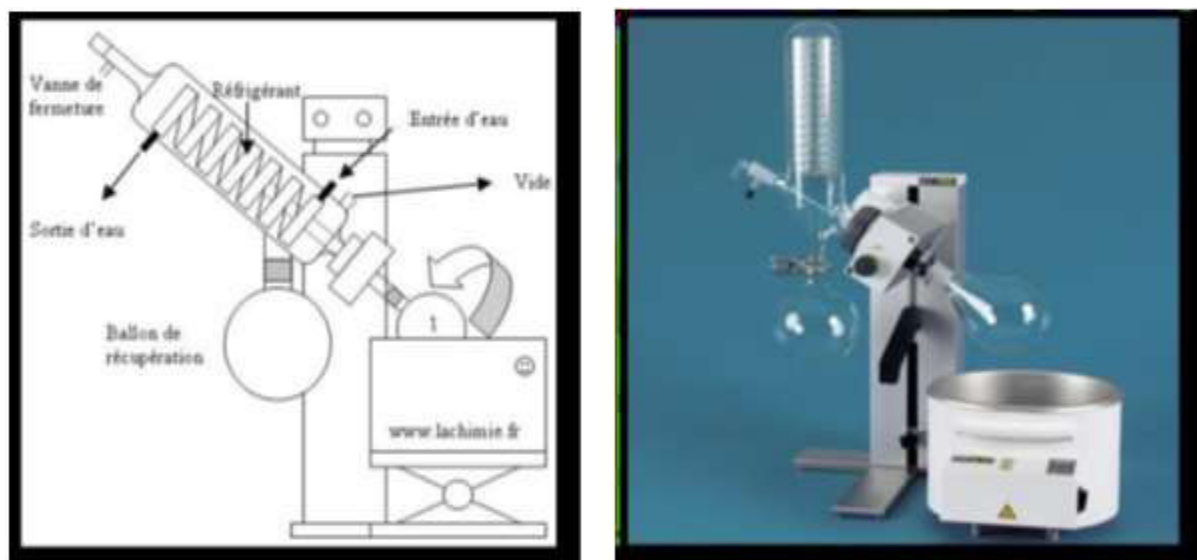


Figure III.6 : Schéma de l'évaporateur rotatif.

A l'issue de cette étape nous avons malheureusement perdu la totalité de l'extrait de l'hexane, les autres extraits ont subi les tests suivants :

III.2.3. Tests de présence des métabolites secondaires (composés phénoliques)

Dans le but d'avoir une idée sur la nature des familles des composés présents dans la plante de notre sujet de recherche, quelques tests de présence des métabolites secondaires ont été effectués comme il est indiqué dans le tableau suivant

Tableau III.2: Protocol expérimental des tests de présence des métabolites secondaires.

Composés phénoliques	Le Protocol expérimental	Remarque	Résultats
Tanins	Dans un tube à essai, nous avons introduit 5 ml de solution 5 % de chaque extrait puis 1ml d'une solution aqueuse de chlorure ferrique à 1%.	Coloration verdâtre ou bleu noirâtre	DCM : négatif Méthanol : positif Aqueux : positif
Alcaloïdes	5 ml de l'extrait brut à été ajouté à 2 ml d'acide chlorhydrique. 1 ml de réactif Dragendroffà été ajouté à ce milieu acide.	Formation d'un précipité orange ou rouge	DCM : négatif Méthanol : négatif Aqueux : négatif
Saponosides	Ajouter à 2 ml de la solution aqueuse un peu d'eau et ensuite agiter d'une manière forte. Abandonner le mélange pendant 20 min.	Mousse de 1-2 cm	Aqueux : négatif

III.2.4. Tests biologiques

III.2.4.1. Test de l'activité anti oxydante par le DPPH

La mesure de l'activité anti radicalaire des trois extraits de la plante a été effectuée par le test au 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) [27]. Selon la méthode de (Loo ; Jain ; Darah 2008). Selon le mode opératoire suivant :

❖ Révélation par CCM

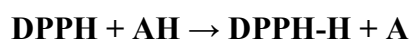
Il s'agit de déposer les extraits, fractions ou produits purs à tester, sur des plaques (CCM). Après séchage des plaques CCM, elles sont giclées avec une solution méthanolique à 2 mg/ml de DPPH. Si on remarque la formation de spots de couleur jaune-blanc sur fond violet on conclut que notre produit a une activité anti-radicalaire [28].

❖ Méthode spectroscopique

• Principe

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits [29].

Le DPPH initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie selon la réaction suivante :



Où AH est un composé capable de céder un H au radical DPPH. Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres, indépendamment de toutes activités enzymatiques.

Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydant se transforme en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) avec perte de son absorbance caractéristique à 517 nm. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu méthanolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants.

Ce test est très utilisé car il est rapide, facile et non couteux [30].

• Mode opératoire

La méthode est réalisée par un test anti-radicalaire contre le DPPH mesuré au spectrophotomètre selon le protocole de littérature, légèrement modifié. Une solution méthanolique de 3 ml de DPPH (0,037 mg/ml) est mise dans un tube à essai sec et stérile.

Par la suite 100 µl de solutions des extraits sont ajoutés et le mélange est vigoureusement agité pendant 30 secondes à l'aide du vortex. Après une incubation pendant 30 mn à l'abri de la

lumière et à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc, qui contient du méthanol, le contrôle contient 100 µl de méthanol et 3 ml de solution DPPH.

- **Méthode de calcul**

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

$$\%d'inhibition = \left(\frac{abs1 - abs2}{abs1}\right).100$$

Abs 1 : Absorbance du contrôle.

Abs 2 : Absorbance de l'extrait.

Chaque test est répété trois fois, les résultats ont été présentés par la moyenne des trois essais et l'écart type.

III.2.5. Réduction du fer

III.2.5.1 FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

La méthode est basée sur la réaction de réduction du Fe⁺³ présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe⁺², la réaction est révélée par le virement de couleur jaune de fer ferrique (Fe⁺³) en couleur bleu verte du fer ferreux (Fe⁺²), l'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm.

Le protocole expérimental utilisé est celui de YILDIRIM, MAVI, et KARA [31] où : 0.5 ml de l'échantillon à différentes concentrations, est mélangé avec 1.25 ml d'une solution tampon de phosphate à 0.2 M (pH= 6.6) et 1.25 ml d'une solution de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 pendant 10 min. 1.25 ml du surnageant sont ajoutés à 1.25 ml d'eau distillée et 250 µl d'une solution de chlorure de fer (FeCl₃. 6H₂O) à 0.1%. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

III.2.5.2. Résultats FRAP

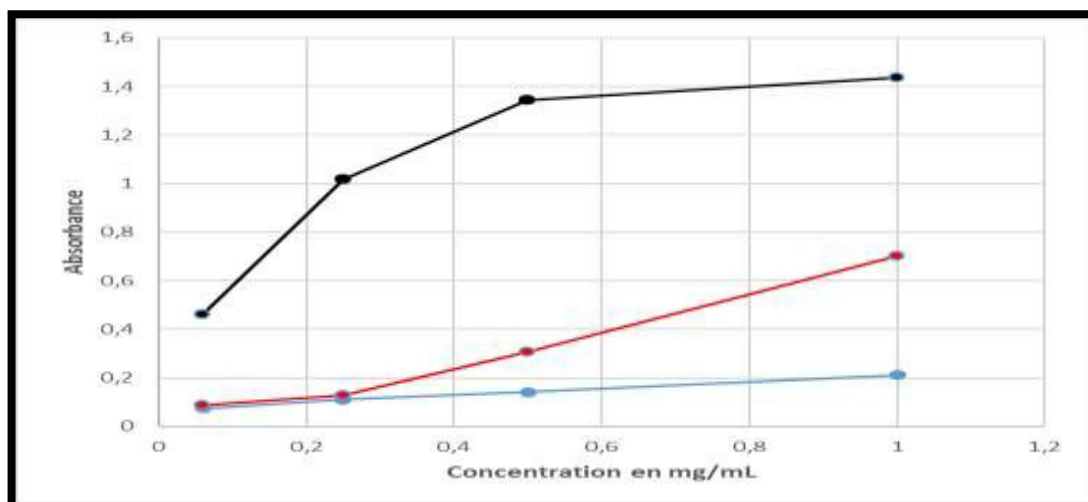


Figure III.7 : Résultats d'absorbance de FRAP.

D'après les résultats obtenus, les deux extraits présentent une diminution proportionnelle de la réduction du fer par rapport aux concentrations utilisées. L'extrait aqueux (en rouge) a un pouvoir une activité anti oxydante plus actif que l'extrait méthanolique (en bleu) en comparaison avec l'acide ascorbique.

III.2.6. DPPH

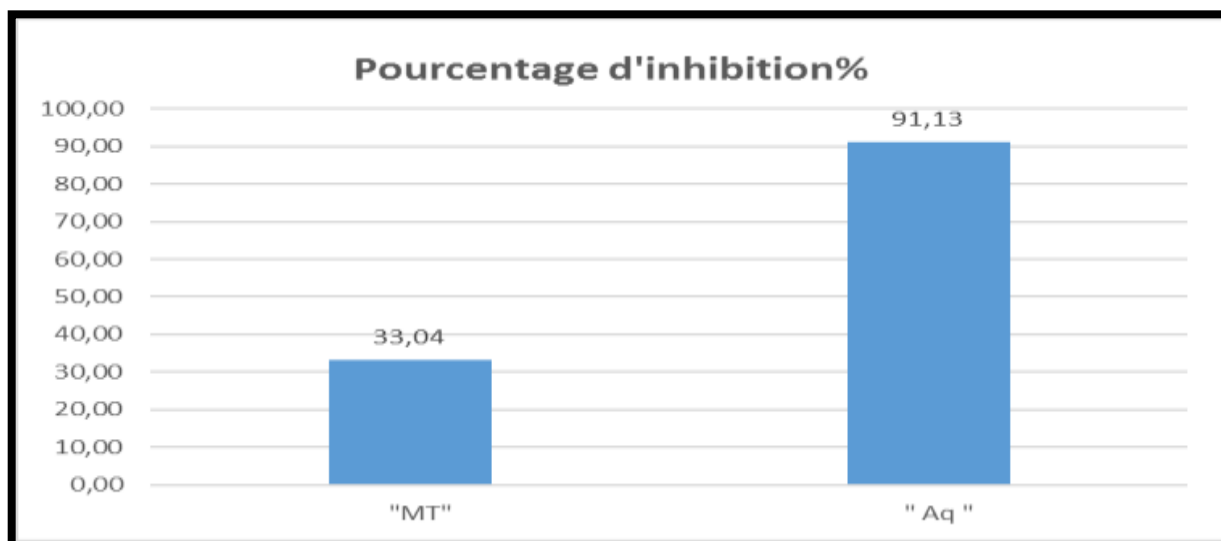


Figure III.8 : Histogramme représentatif du pourcentage de piégeage du radical (DPPH).

D'après l'histogramme on remarque que l'extrait aqueux (91.13) a été l'inhibiteur le plus intéressant, par contre l'extrait méthanolique (33.04) a présenté un pourcentage d'inhibition moins intéressant, en comparaison avec l'acide ascorbique.

Chapitre IV :

Résultats

IV.1. Principe actif : (SALBUTAMOL sulfate)

IV.1.1. Spectre IR

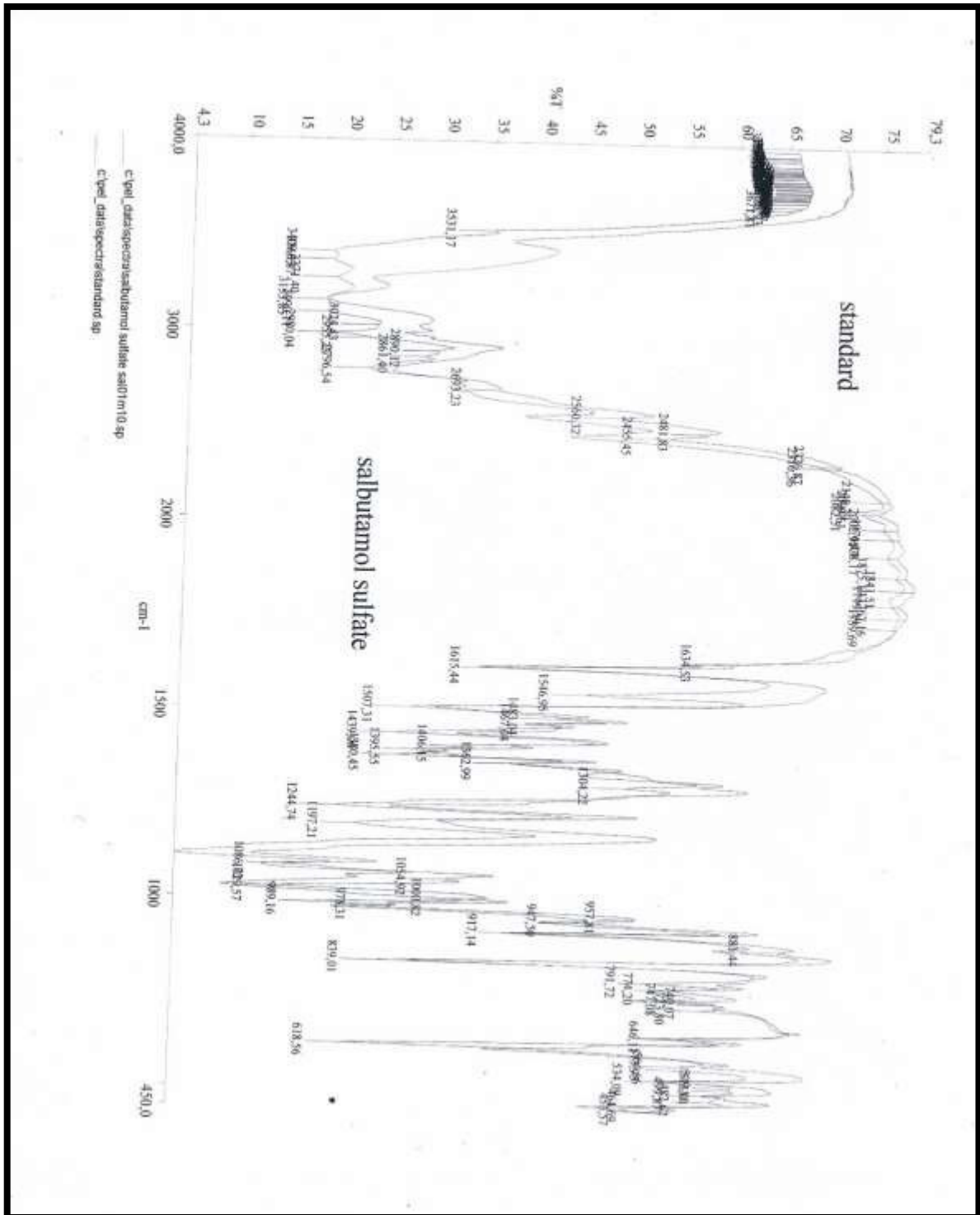


Figure III.1 : Spectre IR de l' SALBUTAMOL sulfate.

On remarque que les deux spectres : standard SALBUTAMOL sulfate et SALBUTAMOL sulfate échantillon sont superposables. Le produit analysé (PA : SALBUTAMOL sulfate) est conforme.

IV.1.2. Dosage par HPLC

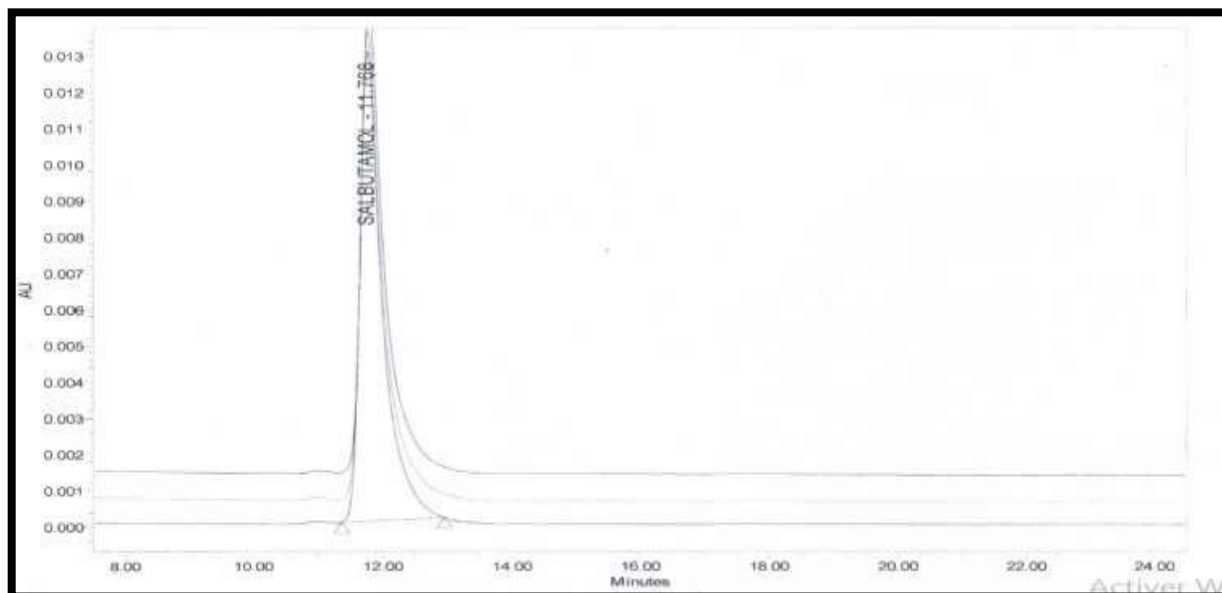


Figure IV.2 : Chromatogramme SALBUTAMOL sulfate.

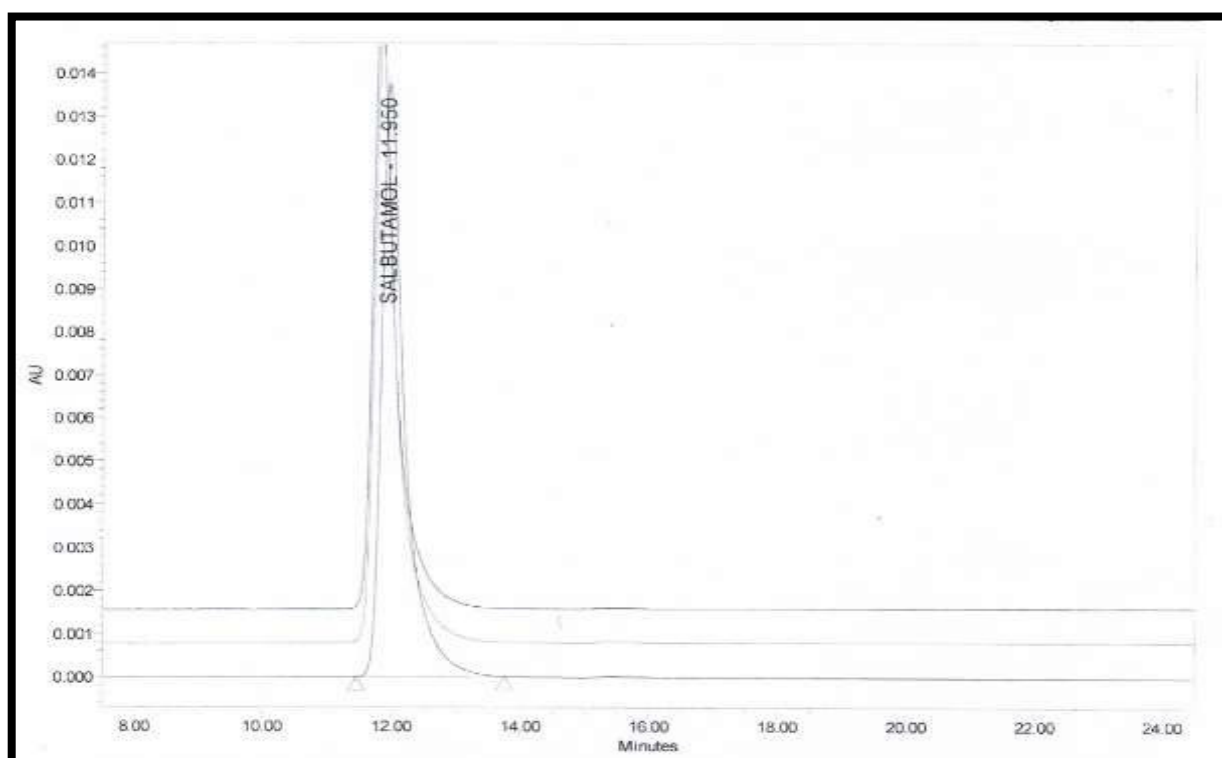


Figure IV.3 : Chromatogramme SALBUTAMOL sulfate le standard.

IV.2. Contrôle qualité microbiologique

IV.2.1. Contrôle microbiologique du produit fini

Tableau IV.1 : Résultats du test microbiologique du sirop «SALBUTAMOL »

Résultat	Absence d'E.coli
----------	------------------

On peut dire que le produit fini, le sirop «SALBUTAMOL » est stérile et ne contient pas de contaminations microbiologiques. Cela signifie que ce produit est conforme et de bonne qualité hygiénique.

Résultats et norme

Tableau IV.2 : Résultats et norme.

Constituants :	Norme	Conformité
Principe actif = 0.0369 g	[0.0360, 0.0042]	conforme
Conservateur = 129.3 mg	[125.5, 147.5]	Conforme

Conclusion

Conclusion

Ce rapport de stage a pour objectif de répondre à la question d'étude, 'comment fabriquer un médicament sirop et quel est le contrôle effectué pour l'assurance de sa qualité ?

Les résultats du contrôle physico-chimique sont conformes aux normes décrites par la Pharmacopée Européenne 2014. Ceci confirme la bonne qualité des produits.

L'ensemble des résultats obtenus ont montré la conformité du produit fabriqué aux normes exigées, ce qui explique la bonne qualité de médicament.

Aussi, En conclusion on peut dire qu'on a atteint aussi important (recherche bibliographique) sur la plante malva sylvestris. malgré que les moyens matériels et le temps accordé à ce travail ne permettent pas d'obtenir des résultats conséquents, ce travail doit avoir une suite pour étudier le reste des activités biologiques des différents extraits.

Chapitre I

- [1] **M.BERROUAG, H.GANDI**, "Contrôle de qualité physico-chimique, microbiologique et toxicologique de l'Acide folique", Mémoire de Master, Université M.BOUGARABoumerdes, (2017).
- [2] **N.AIT AHMED, R.AMIRI, M.BOUDOOR**, "Contrôle de qualité d'un médicament non obligatoirement Stérile : cas de comprimé « HISTAGAN 2mg » ", Mémoire de fin d'étude de master II, Université M'hamed Bougra de Boumerdes, (2016).
- [3] **Agnès Dessaigne**, "Maitrisez la fiche posologique d'un médicament : 45 questions/réponses pour percer les secrets du Résumé des caractéristiques d'un produit et de son environnement ", Heures de France, (2004).
- [4] Pharmacopée européenne 7ème édition.
- [5] S.A.Issembe, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Libreville. Gabon. C I O P F, 8 Novembre 2006
- [6] P.Larousse, « Encyclopédie des plantes médicinales», 2007
- [7] P.Larousse, « Encyclopédie des plantes médicinales», 2007.
- [8] L. Wang, C. L. Waller, Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, Trends in Food Science & Technology, 2006, pp 300 – 312.
- [9] L. Wang, C. L. Waller, Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, Trends in Food Science & Technology, 2006, pp 300 – 312.
- [10] **ABOLI THIERRY**, "*CONTRÔLE DE QUALITE DES MEDICAMENTS*".
- [11] **S.ATOUL, I. MIDOUNA**, "Contrôle microbiologique et physico-chimique d'une formule sèche d'un antibiotique", Mémoire de Fin de Cycle du diplôme Master, Université A.Mira–Bejaia.
- [12] **KOISSI JOEL FRANCK**, "Contrôle de qualité des comprimés non enrobés cas d'un générique et d'un princeps de doxycycline", *Université MOHAMMED V*, (2008).
- [13] **KOISSI JOEL FRANCK**, "Contrôle de qualité des comprimés non enrobés cas d'un générique et d'un princeps de doxycycline", *Université MOHAMMED V*, (2008).
- [14] <https://www.htds.fr/fr/laboratoire/instrumentation-analytique/analyses-physico-chimiques/tests-physiques-des-comprimés/test-de-durete/>

Références bibliographiques

- [15] Présentation des outils du laboratoire: les techniques chromatographiques.
- [16] **Leclercq, A. Lombard, B Mossel, DA**, "Normaliser les méthodes d'analyse dans le cadre de la maîtrise de la sécurité microbiologique française des aliments : atout ou contrainte".
- [17] Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec, "**Notion de Toxicologie**", Bibliothèque nationale du Québec, (2004).
- [18] "Pharmacopée Européenne", Université de Paris SUD, (2014).
- [19] Organisation mondiale de la Santé 2000

Chapitre III

- [01]- Boullard Bernard, Plantes et Champignons, dictionnaire –Estem , 1997 .
- [02]- Couplan François & Doux Yves, L’album des plantes et des fleurs – Delachaux et Niestlé, 1950.
- [03]- Payer J. B. De la famille des Malvacées –thèse de médecine, Paris –Éditeurs Rignoux, 1852.
- [04]- Delaveau Pierre, Expliquez–moi les plantes, voyage en botanique – Pharmathèmes, 2003
- [05]- Coste. H. Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes– tome I – Librairie de sciences naturelles, Paul Klincksieck, 1901.
- [06]- Fournier Paul, Les quatre flores de France – Dunod, 1934– 1940.
- [07]- Spichiger Rodolphe-Edouard et al. Botanique systématique des plantes à fleurs (2ème édition) – presses polytechniques et universitaires romandes, 2002.
- [08]- Paul Schauenberg, Ferdinand Paris. Guide des plantes médicinales. Éditions Delachaux et Niestlé 2010
- [09]- Bonnier Gaston & Douin Robert, La grande flore en couleur de Gaston Bonnier – Belin, 1912–1935.
- [10]- Echevin R. Angiospermes tome I : Apétales et dialypétales – Doin, 1964.
- [11]- Belzung E. Anatomie et physiologie végétales – Félix Alcan éditeur, 1900.
- [12]- Schaffner Willi, Les Plantes Médicinales et leurs Propriétés, Manuel d’herboristerie – Delachaux & Niestlé, 1993.
- [13]- Girre Loic, Nouveau guide des vieux remèdes naturel – Ouest France, 1985.

Références bibliographiques

- [14]- Deysson Guy, Cours de botanique générale, tome II, organisation et classification des plantes vasculaires, première partie : organisation générale – Société d'édition d'enseignement supérieur, 1963.
- [15]- Rouy G. Flore de France ou description des plantes qui croissent spontanément en France, en Corse et en Alsace–Lorraine – tome IV – Société des Sciences naturelle de la Charente–Inférieure, 1893–1913.
- [16]- Classen B. & Blaschek W. An arabinogalactan–protein from cell culture of *Malva sylvestris* – *Planta Med.* 68 (3), 232–236, 2002.
- [17]- Kültür Sükran, Medicinal plants used in Kırklareli Province (Turkey) – *Journal of Ethnopharmacology* 111, 341–364, 2007.
- [18]- Cakilcioglu Ugur & Turkoglu Ismail An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ–Turkey) – *Journal of Ethnopharmacology* 132, 165–175, 2010.
- [19]- Phillips Roger & Foy Nicky, Herbes: Cueillette, culture, utilisation ; pour la santé par l'herboristerie, pour la beauté par la cosmétologie, pour la cuisine - La Maison Rustique, 1991.
- [20]- Shale T.L., Stirk W.A., van Staden J. Variation in antibacterial and anti– inflammatory activity of different growth forms of *Malva parviflora* and evidence for synergism of the anti– inflammatory compounds – *Journal of Ethnopharmacology* 96, 325–330, 2005.
- [21]- Pirbalouti Abdollah Ghasemi, Yousefi Mehdi, Nazari Heshmatollah, Karimi Iraj, Koohpayeh Abed, Evaluation of Burn Healing Properties of *Arnebia euchroma* and *Malva sylvestris* – *Electronic Journal of Biology* 5 (3), 62–66, 2009.
- [22]- Barros Lilian, Carvalho A.N, Ferreira I. Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition - *Food and Chemical Toxicology* 48, 1466–1472, 2010.
- [23]- Couplan François & Styner Eva, Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques – Delachaux et Niestlé, 1994.
- [24]- Jeambey Zeinab, Johns Timothy, Talhouk Salma and Batal Malek, Perceived health and medicinal properties of six species of wild edible plants in north–east Lebanon – *Public Health Nutrition* 12(10), 1902–1911, 2009.
- [25]- Meyer et al. Abrégé de phytopraticque médicale (pathologie de l'adulte), 1 ère édition – Louis Pariente, 1981.

Références bibliographiques

- [26]- Couplan François, *Le régal végétal : plantes sauvages comestibles – Sang de la Terre*, 2009.
- [28]- Hadbaoui, Z. Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques de sorgho et de mil locaux. Thèse de Doctorat : Université de Kasdi Merbah Ouargla-Algerie. **2012**.
- [29]- Wu C, Huang M, Lin Y, Ju H, Ching H . Antioxidant properties of Cortex fraxini and its simple coumarins. *Food Chem.*, 104: 1464–1471, 2007.
- [30]- Cavin A. Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydante et antiradicalaire : Lausanne, 241 P, 1999.
- [31]- Yildirim. A., Mavi A. et A. KARA A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001.