



République algérienne démocratique et populaire

Université Akli Mohand Oulhadj

BOUIRA



Institut de Technologie

## Rapport de soutenance

En vue de l'obtention du diplôme

de Licence professionnalisant en :

### Génie Chimique

## THÈME :

**Contrôle physico-chimique d'un anti-  
inflammatoire Celebrex® 200mg**

Réalisé par

- DEBDABA Rostom

Encadré par

- Dr HAMIDOUCHE Sabiha

**Année : 2017 / 2018**

# REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier dans un premier temps, toute l'équipe pédagogique de *l'institut de technologie*.

Je remercie également Madame *HAMIDOUCHE Sabiha* pour l'aide et les conseils concernant les missions évoquées dans ce rapport, qu'elle m'a apporté lors des différents suivis.

Je tiens à remercier tout particulièrement et à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes, pour l'expérience enrichissante et pleine d'intérêt qu'elles m'ont fait vivre durant le stage au sein de l'entreprise *Pfizer Sidal Manufacturing*.

Madame Lilia, superviseur de control de qualité, pour son accueil et la confiance qu'elle m'a accordé dès mon arrivée dans l'entreprise.

Madame AMIRA, pour m'avoir intégré rapidement au sein de l'entreprise et m'avoir accordé toute sa confiance.

Je remercier aussi toute l'équipe de contrôle de qualité, pour leurs disponibilité et pour le temps qu'ils m'ont consacré tout au long de stage

Enfin je tiens à remercier Athman et Walid opérateurs de production.

## ملخص:

أجري هذا التريص في مخبر مراقبة الجودة في شركة فيزر لصناعة الأدوية، وشمل التريص مختلف التحاليل الفيزيوكيميائية لمضاد الالتهابات سيليبريكس، وتجرى هذه التحاليل، بالموازاة مع عملية التصنيع، على المادة الفعالة، مواد الحشو الإضافية و المنتج النهائي. هذه التحاليل تستند على المعايير الفيزيائية والفاعلية.

النتائج المتحصل عليها تتوافق مع المعايير المتبعة و هذا بسبب معايير التصنيع الجيدة.

## Résumé :

Ce stage s'est déroulé dans le service de contrôle de qualité au sein d'une entreprise pharmaceutique Pfizer, le travail consiste à effectuer un contrôle physico-chimique d'un médicament anti-inflammatoire sous forme gélule.

J'ai effectué tous les analyses correspond à cette médicament qui inclue l'analyse de principe actif Celecoxib, d'excipients, de mélange finale et du produit fini. Ces analyses basent sur l'aspect physique du produit et sur l'efficacité, elles jouent aussi sur l'aspect et les caractéristiques de conservation.

Les résultats obtenues sont tous conformes aux standards, ils répondent aux Bonnes pratiques de fabrication suivie par l'usine pour assurer une bonne qualité de leur produits, la non-conformité peut revient aux erreurs humaines l'hors d'analyse, elle peut revient aussi aux solutions utilisés.

## Sommaire

REMERCIEMENTS .....	
RESUME : .....	
SOMMAIRE .....	
LIST DES FIGURES .....	
LIST DES TABLEAUX .....	
LIST DES EQUATIONS .....	
ABREVIATIONS .....	
INTRODUCTION .....	2
CHAPITRE 1 .....	3
PRESENTATION DE L'ENTREPRISE .....	3
1.1 HISTORIQUE .....	3
1.2 L'ORGANIGRAMME DE PSM .....	4
1.3 CYCLE DE LA PRODUCTION .....	4
CHAPITRE 2 .....	6
GENEALITES SUR LES MEDICAMENTS .....	6
2.1 GENERALITES .....	6
2.1.1 Médicament .....	6
2.1.2 Les formes de médicament : .....	6
2.1.3 Le principe actif: .....	6
2.1.4 L'excipient .....	7
2.1.5 Celebrex®(Celecoxib) : .....	7
2.2 CYCLE DE PRODUCTION .....	8
2.2.1Fabrication : .....	8
2.2.2Le conditionnement : .....	9
2.2.3 L'échantillonnage .....	9
CHAPITRE 3 .....	10
ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES .....	10
DE CELEBREX .....	10
3.1 ANALYSE DE LA MATIERE PREMIERE .....	10
3.1.1 Celecoxib : .....	10
3.1.2 Lactose monohydraté granulé .....	11
3.2 ANALYSE DE BLEND (MELANGE FINALE) .....	12
3.2.1 Apparence .....	12
3.2.2 La teneur et l'uniformité de teneur en celecoxib .....	12
3.2.3 La teneur en eau .....	13

3.3	ANALYSE DU PRODUIT FINI (GELULE CELEBREX).....	13
3.3.1	<i>L'apparence</i> .....	13
3.3.2	<i>Identification de dioxyde de Titanium (colorimétrie)</i> .....	13
3.3.3	<i>Dosage par HPLC</i> .....	14
3.3.4	<i>Uniformité de teneur du celecoxib (UV)</i> .....	17
3.3.5	<i>Désintégration</i> .....	18
3.3.6	<i>Dissolution (HPLC)</i> .....	18
3.4	LES EAUX DE RINÇAGE ET LES ECOUVILLONS.....	20
3.4.1	<i>Définition :</i> .....	20
3.4.2	<i>Le but :</i> .....	20
3.4.3	<i>Procédures :</i> .....	20
	<b>CHAPITRE 4</b> .....	<b>22</b>
	<b>RESULTATS ET DISCUSSIONS</b> .....	<b>22</b>
4.1	ANALYSE DE LA MATIERE PREMIERE.....	22
4.1.1	<i>Principe actif</i> .....	22
4.1.2	<i>Analyse de Lactose monohydraté</i> .....	23
4.2	ANALYSE DE MÉLANGE FINAL (BLEND).....	25
4.3	ANALYSE DE PRODUIT FINI.....	26
	<b>CONCLUSION :</b> .....	<b>31</b>
	<b>REFERENCES</b> .....	
	<b>ANNEXE 1 : CHROMATOGRAMME HPLC</b> .....	
	<b>ANNEXE 2 : APPAREILS ET DISPOSITIFS</b> .....	

## List des figures

Figure 1. 1 Organigramme de PSM .....	4
Figure 1. 2 Schéma de production .....	5
Figure 2. 1 La formule de celecoxib .....	7
Figure 2. 2 Médicament celebrex®200 mg.....	7
Figure 4. 1 Spectre de celecoxib de référence.....	23
Figure 4. 2 Spectre de celecoxib d'un échantillon prélevé. ....	23
Figure 4. 3 Spectres des échantillons et de standard.....	25
Figure 4. 4 Chromatogramme représente le pic d'échantillon et des impuretés.....	29

## List des tableaux

Tableau 4.1. Différents essais de celecoxib .....	22
Tableau 4.2. différents essais de Lactose granulac .....	24
Tableau 4.3. calculs de pouvoir rotatoire .....	24
Tableau 4.4. Résultats d'analyse correspond au blend .....	25
Tableau 4.5. Résultats de teneur et de l'uniformité .....	26
Tableau 4.6. différentes résultats de produit finis .....	26
Tableau 4.7. l'écart type relatif de différents échantillons .....	27
Tableau 4.8. Calcul de contrôle check .....	27
Tableau 4.9. Détermination de l'écart type .....	28
Tableau 4.10. calculs de teneur .....	29

### List des équations

Équation 3. 1.....	11
Équation 3. 2.....	12
Équation 3. 3.....	12
Équation 3. 4.....	13
Équation 3. 5.....	16
Équation 3. 6.....	16
Équation 3. 7.....	16
Équation 3. 8.....	16
Équation 3. 9.....	17
Équation 3. 10.....	20
Équation 3. 11.....	20
Équation 4. 1.....	28

## Abréviations

BPF	Bonne Pratique de Fabrication
BPL	Bonne Pratique de Laboratoire
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IR	Infrarouge
KF	Karl Fischer
MIN	Minute
MOY	Moyenne
pH	Potentiel Hydrogène
PVC	Polyvinyle Chloride
rpm	Rotation par minute
RRT	Relative Retention Time
RSD	Relative Standard Deviation
STD	Standard
UV	Ultraviolet

## Introduction

Du 23 Avril 2018 au 07 Juin 2018, j'ai effectué un stage au sein de l'entreprise Pfizer Soidal Manufacturing (située à Oued Smar, Alger). Au cours de ce stage dans le laboratoire de contrôle de qualité, j'ai pu m'intéresser au contrôle physico-chimiques d'un médicament anti-inflammatoire celebrex®200mg.

J'avais choisi en priorité PSM (Pfizer Soidal Manufacturing) de la ville d'Alger car elle est réputée dans le secteur pharmaceutique.

L'entreprise PSM se situe dans la zone industrielle d'Oued Smar à Alger. Elle est spécialisée dans la fabrication des produits pharmaceutiques forme sèche.

Mon stage au sein de laboratoires de contrôle de qualité a consisté de réaliser les tâches suivantes :

- Effectuer les différentes analyses en utilisant des méthodes d'analyse physico-chimique et pharmaco technique comme le dosage, la dissolution et l'uniformité de teneur.
- Faire les différents essais de la conformité selon des techniques suivies comme la teneur en eau, la désintégration, variation de masse et test de point de fusion.

Plus largement, ce stage a été l'opportunité pour moi d'appréhender tout sur le secteur pharmaceutique, la fabrication et le contrôle des médicaments qui semis aujourd'hui à des règles de bonne pratiques de fabrication (BPF), grâce à ce stage qui m'a permis de découvrir mes compétences et de les améliorer.

Au-delà d'enrichir mes connaissances en pharmaceutique, ce stage va me permettre aussi d'enrichir mon expérience professionnelle qui va m'ouvrir une grande porte sur mon futur parcours.

L'élaboration de ce rapport a pour principale source, les différents enseignements tirés de la pratique journalière des tâches auxquelles j'étais affecté. Enfin, les nombreux entretiens que j'ai pu avoir avec les employés des différents services de la société m'ont permis de donner une cohérence à ce rapport.

- Je vous expose dans ce rapport en premier lieu une présentation de l'entreprise et quelques notions sur le domaine pharmaceutique.
- Ensuite, je parle de différentes analyses de contrôle de qualité.
- Enfin, j'expose les résultats et je les interprète.

# CHAPITRE 1

## PRESENTATION DE L'ENTREPRISE

### 1.1 Historique

Pfizer est une entreprise américaine fondée le 20/ 08 /1849 à New York par Charles Pfizer et Charles Erhard, elle a été devenu en 1945 le plus grand producteur de pénicilline au monde. Pfizer est parmi les plus grands producteurs de médicament au monde, elle fabrique des médicaments de large consommation, et Tahor est le plus vendu dans le monde.

En 2002, Pfizer a été employé 122 000 personnes dans le monde, aujourd'hui elle est présente dans 150 payés.

Pfizer Sidal Manufacturing (PSM): est une entreprise national pharmaceutique crée en 1998 lors de partenariat entre le groupe Sidal et le groupe Pfizer. Elle dispose d'une usine et d'un centre de distribution dans la zone industrielle d'Oued Smar d'Alger, l'usine assure la fabrication de forme sèche (comprimé et gélule).

Elle a été mis en service le 27 Jan 2003 avec la fabrication de son premier lot de 'VIBRAMYCINE 100mg' en février 2003.

L'usine dispose d'une zone de fabrication et d'une zone de conditionnement et d'un magasin de stockage des matières. Aussi d'un laboratoire de contrôle de qualité qui suit des normes très strictes selon les normes européennes.

## 1.2 L'organigramme de PSM

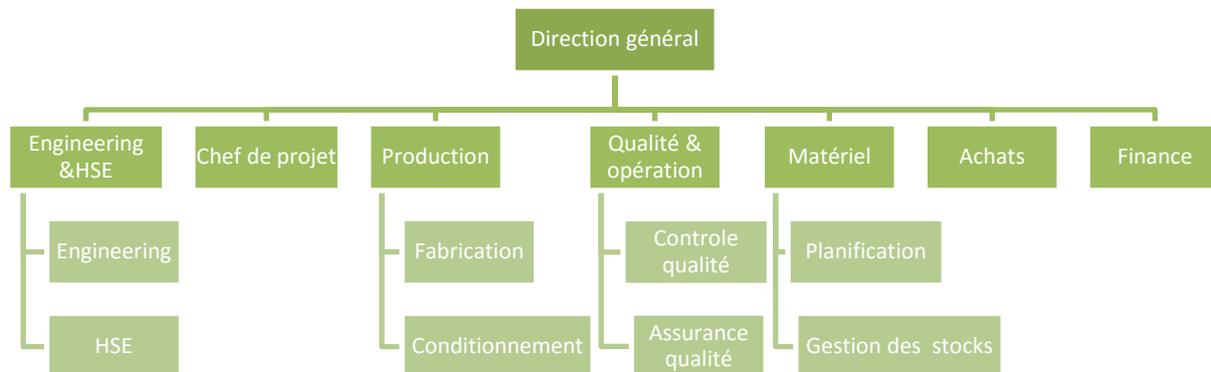


Figure 1. 1 Organigramme de PSM

- Département Engineering et HSE : il assure la sécurité des personnes, du matériel, des produits et de l'environnement. Il contrôle la consommation énergétique.
- Département d'achat : il est responsable de toutes les ressources soit de la matière, du produit ou de matériel.
- Service production : il assure la fabrication des gélules et les comprimés ainsi leur conditionnement.
- Service matériel : il gère les matières arrivants de fournisseur et les produits, il prépare aussi les matières pour la fabrication selon le planning et les commandes.
- Service qualité : il est responsable de contrôle et d'assurance de qualité des matières première, des produits et des articles de conditionnement.

## 1.3 Cycle de la production

La production commence par la réception de matière première puis elle déroule selon les étapes suivantes :

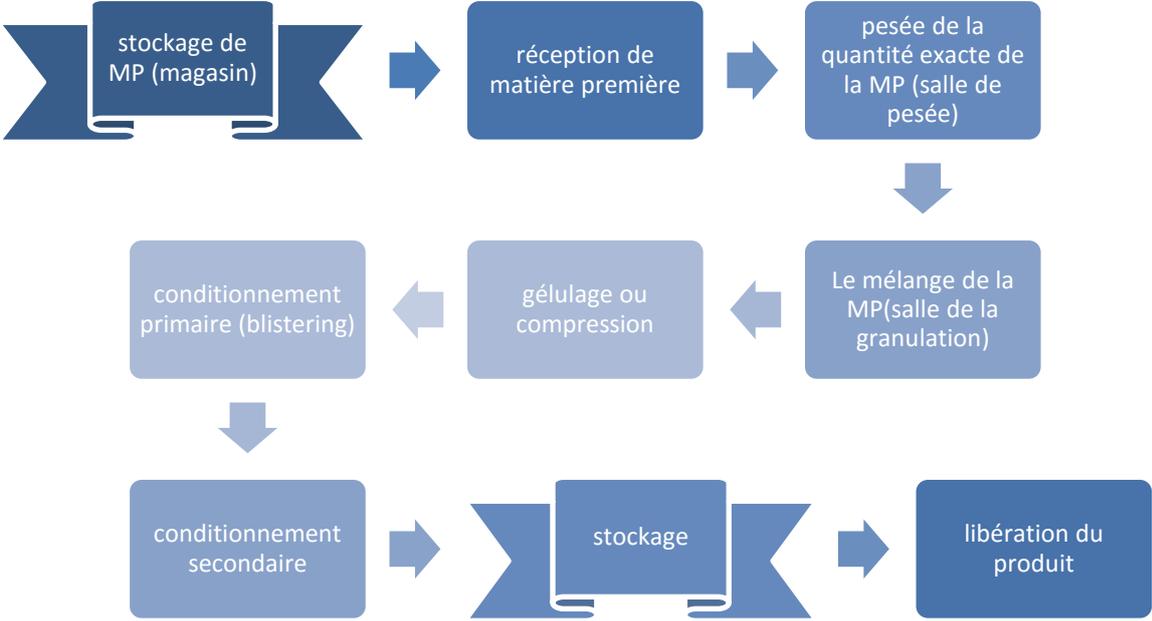


Figure 1. 2 Schéma de production

## CHAPITRE 2

### GENEALITES SUR LE MEDICAMENT (Celebrex)

#### 2.1 Généralités

##### 2.1.1 Médicament

«Un médicament est une substance ou une composition qui possède des capacités ou des propriétés curatives ou préventives visant à soigner une maladie humaine ou animale. Autrement dit, il s'agit d'une préparation utilisée dans le but de prévenir, diagnostiquer et soigner une pathologie ou une autre lésion à type de traumatisme entre autres. Le médicament permet également de corriger ou de modifier le fonctionnement d'un organisme». [1]

Les médicaments sont classés selon leurs formes et leurs modes d'administration.

##### 2.1.2 Les formes de médicament :

- La forme orale : comprimé, gélule, solutions, suspension buvable
- La forme dermique
- Les dispositifs transdermiques
- Les formes injectables : solution, poudre, solution pour perfusion lente
- la forme pour nez, yeux et oreille
- La forme inhalée
- La forme rectale

##### 2.1.3 Le principe actif :

C'est la matière à effet thérapeutique qui peut être d'origine animale, végétale, minérale, synthétique ou microbiologique.

**Exemple :** la formule brut du principe actif Celecoxib :  $C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$

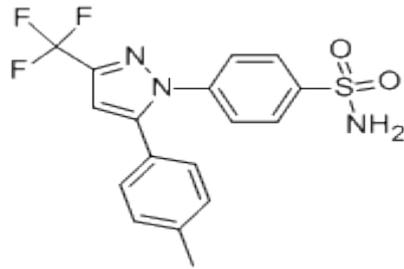


Figure 2. 1La formule de Celecoxib

#### 2.1.4 L'excipient

«Les excipients sont des substances ayant notamment pour fonction de rendre le [médicament](#) plus attractif et/ou plus facile à avaler en influant sur sa couleur, son [goût](#) ou son [odeur](#). Ils peuvent aussi améliorer la dissolution d'un médicament dans l'eau, ou déterminer sa forme (liquide, gel, etc.). Comme ils peuvent aussi protéger le médicament contre les conditions agressives de la température et d'humidité.

En Bref, les excipients favorisent la prise du médicament mais n'ont pas de réelles fonctions thérapeutiques. Ils sont en cela différents des substances actives des médicaments qui, elles sont présentes pour guérir le malade». [2]

#### 2.1.5 Celebrex ®(Celecoxib) :

C'est un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien sous forme gélule, son principe actif est Celecoxib.

La gélule de Celebrex est blanche et opaque, présentant deux bandes jaunes indiquant respectivement 7767 et 200.

Les gélules sont conditionnées dans des blisters en aluminium et PVC.



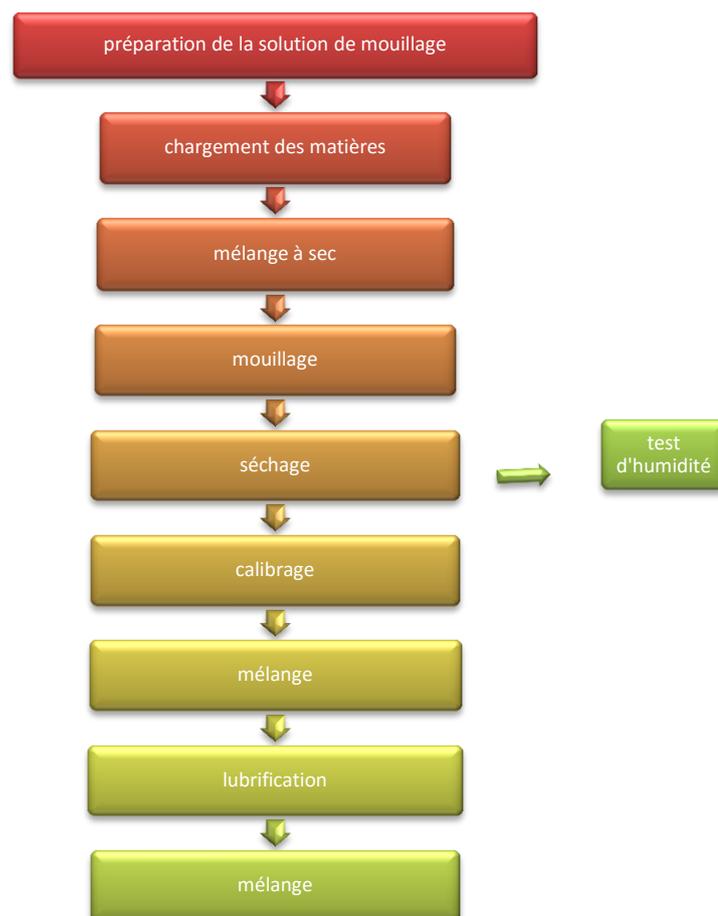
Figure 2. 2 Médicament celebrex®200 mg

## 2.2 Cycle de production

Après la réception de la matière première et les articles de conditionnement : il s'agit du principe actif, excipients, caisse, bobine d'aluminium ou PVC, un contrôle doit être effectué pour assurer la qualité de ces produits.

### 2.2.1 Fabrication :

- La pesée : une quantité de matière première doit être préparé selon le besoin et le planning, le service de fabrication va recevoir la matière première et va faire la pesée exacte de chaque matière.
- Le mélange: il suit les étapes suivantes :



- La solution de mouillage : est préparé dans une cuve, elle contient 8,71 kg d'eau et 2,98kg de sodium lauryl sulfate.

- Le chargement par les matières suivant : lactose monohydraté, povidone k30, croscarmellose sodium et celecoxib.
- Le séchage se fait dans la cuve Glatt à une température entre 45 et 50 °c, à la fin l'humidité doit être inférieure de 1,0 %.
- Le calibrage : on passe le mélange par le Comill qui dispose d'une grille de 0.99 mm, puis on le récupère dans le conteneur de 300L
- Lubrification : cette étape basée sur l'ajout de stéarate de magnésium dans le but d'obtention d'un mélange souple et qui ne colle pas sur les parois.
- Le gélulage : c'est le remplissage des gélules par le blend, le poids de contenue est environ 270mg, après le remplissage et la fermeture les gélules passe par la détection des métaux.

### 2.2.2 Le conditionnement :

- ✓ Conditionnement primaire : c'est la mise des gélules dans le blister, ce dernier est composé de pvc et d'aluminium.
- ✓ Conditionnement secondaire (packaging): dans cet étape on met le blister et la notice dans le étui, on ajout la vignette, puis les étuis sont mis dans des caisses, des échantillons doivent être prélevés pour le contrôle de qualité.
- ✓ ce produit fini attend l'acceptation pour être libéré.

### 2.2.3 L'échantillonnage

Durant toutes les étapes de la production chaque produit et chaque lot suivre un contrôle de qualité, ce contrôle est fait sur des échantillons prélevés.

Les matières et les produits qui subissent le prélèvement sont :

- Toutes les matières premières (principe actif et excipient) au niveau de salle de prélèvement dans le magasin, un prélèvement sous hotte.
- Tous les articles de conditionnement : caisses, étuis, bobines pvc/aluminium, vignettes, notices et sac.
- Mélange (blende), gélules vides, produits semi-finis et fini.

Pour les matières en poudre, on les prélève en utilisant la sonde et la spatule.

## CHAPITRE 3

### ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

#### DE CELEBREX

### 3.1 Analyse de la matière première

#### 3.1.1 Celecoxib :

Celecoxib est le principe actif de Celebrex, il suit plusieurs analyses avant d'arriver à l'utiliser pour la production.

- **Apparence** : poudre blanche à un blanc cassé.

- **Identification par IR** :

La spectroscopie IR nous permet d'analyser l'échantillon de celecoxib et de faire comparer leur spectre d'absorption avec celui de celecoxib standard.

- **Point de fusion** : on utilise un appareil de point de fusion dans lequel on introduit notre échantillon, la température va augmenter automatiquement jusqu'à le point où l'échantillon va fusionner c'est le point de fusion.
- **La teneur en eau** :
  - A partir de titrateur Karl Fischer on peut savoir la quantité d'eau contenue dans l'échantillon.
  - Introduire 0,5 g du principe actif dans le titrateur Karl Fischer et lancer l'appareil, après la fin du titrage une copie va être imprimée contenant les résultats.
  - La teneur en eau ne doit pas dépasser les 5%.
- **Cendre sulfurique** :

Le but est l'évaluation d'absence des substances inorganiques dans la matière à analyser par la carbonisation de l'échantillon à travers l'acide sulfurique.

#### **Procédures :**

Dans cet essai on va utiliser des creusets en platine.

- Chauffer les creusets à une température de  $600 \pm 50^\circ\text{C}$  pendant 30 min et laisser refroidir dans un dessiccateur et peser 1 g de l'échantillon, ensuite humecter les échantillons par  $\text{H}_2\text{SO}_4$  et chauffer à la température de  $150^\circ\text{C}$  jusqu'à la calcination.

- Transférer les creusets dans le four et calciner à 600 °C jusqu'à l'incinération du résidu, mesurer la masse des creusets après la calcination et calculer le pourcentage de cendre sulfurique par la formule suivante :

$$\% = \frac{m1-m2}{pe}$$

Équation 3. 1

m1 : masse de creuset après la calcination

m2 : masse de creuset avant la calcination

Pe : prise d'essai

### 3.1.2 Lactose monohydraté granulac

Le lactose monohydraté est l'un des excipients entrant dans la composition du blend, et ces excipients suivent presque les mêmes analyses et les mêmes essais pour qu'ils soient prêts d'être mélangés.

- Alcalinité et acidité

On pèse de chaque pool (10 sacs) 6g de lactose dans une fiole de 100 ml, on ajout 0,3 ml de phénolphthaléines, puis on ajout au maximum 0,4 ml d'hydroxyde de sodium 0,1M jusqu'à l'apparition d'une couleur rose.

- La teneur en eau

On pèse 0,5g de lactose monohydraté, on met cette quantité dans le titrateur Karl Fischer un milieu de solvant contient le méthanol, on commence le titrage par l'hydranal. Les résultats sont donnés par l'appareil, elles ont imprimé par une imprimante reliée avec l'appareil.

La teneur en eau doit être entre 4,5% et 5,5%.

- Identification C

On pèse 0,25mg de lactose dans des tubes à essai, on ajout 5 ml d'eau purifié et 5 ml d'ammoniaque, on les chauffe dans le bain-marie à 80°C pendant 10 min. une couleur rouge s'apparut.

- Pouvoir rotatoire spécifique

#### Définition :

Le pouvoir rotatoire est la propriété que présentent les substances chirales de dévier le plan de polarisation de la lumière polarisée.

Le pouvoir rotatoire est considéré comme positif (+) dans le cas de substances dextrogyres (c'est-à-dire, celles qui dévient le plan de polarisation dans le sens des aiguilles d'une montre) et négatif dans le cas de substances lévogyres». [3]

Dissoudre 10g de lactose dans 80 ml d'eau purifié, chauffer jusqu'à 50°C, refroidir et ajout 0,2 ml d'ammoniaque dilué, laisser reposer pendant 30 min et compléter jusqu'à 100ml avec l'eau purifié. Prélever une quantité dans un tube à essai. Après calculer le pouvoir rotatoire par les deux formules suivantes :

$$A = \frac{\alpha \times 1000}{L \times C}$$

Équation 3.2 et  $PR = \frac{A \times 100}{100 - Kf}$

Équation 3.3

A : pouvoir rotatoire.

PR : pouvoir rotatoire spécifique

$\alpha$  : angle de rotation en degrés lu à  $20 \pm 0,5$  °C

L : la longueur de la solution prélevé dans le tube à essai

C : la concentration de la solution

Kf : la teneur en eau

## 3.2 Analyse de blende (mélange finale)

### 3.2.1 Apparence

Le mélange qui contient le principe actif et les excipients ne doit pas contenir une contamination visuelle.

### 3.2.2 La teneur et l'uniformité de teneur en celecoxib

Le but est l'identification du spectre de celecoxib par UV et calcul de la teneur individuel en celecoxib dans les gélules de celebrex.

#### 3.2.2.1 Procédure

Pour l'analyse UV-vis on est besoin de préparer les solutions suivantes :

- Le solvant de dilution : il contient 750 ml d'acétonitrile et 250 ml d'eau purifiée.
- La solution standard : elle est préparée à partir de 8 mg de standard de référence dissoudre dans une fiole de 500 ml contient le solvant de dilution.

Une deuxième solution doit être préparée pour le contrôle check.

#### 3.2.2.2 La solution échantillon

La technique consiste à dissoudre une quantité du blend dans le solvant de dilution dans une fiole de 250 ml, on laisse la solution se repose pendant 30 min puis on pipete 2 ml dans une fiole de 100 ml et on complète avec le même solvant.

La prise d'essai : 270 mg

Pour 10 points de prélèvement on va faire deux prises d'essai pour chaque point.

### 3.2.2.3 L'analyse UV

On commence par l'essai à blanc ensuite on introduit les solutions selon une série bien spécifique, elle commence par les standards puis les échantillons un par un, on les encadre aussi par les standards selon la technique.

A la fin on prend les valeurs de l'absorbance pour calculer le label claim qui est défini par la teneur en celecoxib.

La formule qui permet calculer le label claim :

$$\% \text{LBL CLM} = \frac{A \times 100 \times PF}{RF_s \times CX} \quad \text{Équation 3.4}$$

A : l'absorbance de l'échantillon

RFs : moyenne des facteurs de réponse des 3 lectures du standard (STD-1)

PF : pureté du standard

C<sub>x</sub> : concentration théorique (mg/ml)

On calcule aussi le RSD, sa valeur doit être inférieure ou égale à 5,0 %

### 3.2.3 La teneur en eau

Mettre 0,5 g de blende dans le vase de Karl Fischer qui contient aussi le méthanol comme solvant et l'hydranal. La titration se fait selon la réaction suivante :



## 3.3 Analyse du produit fini (gélule Celebrex)

### 3.3.1 L'apparence

- Blister pvc/alu de 10 gélules opaque, blanche à blanc cassé, dure.
- Deux bands à l'encre jaune entourant la capsule.
- Date de péremption et numéro de lot lisibles conforme.

### 3.3.2 Identification de dioxyde de Titanium (colorimétrie)

Mettre 2 g de capsule dans un creuset en platine, ajouter des gouttes d'acide sulfurique jusqu'à un mouillage totale, laisser les creuses à une température de 800°C pendant 18 heures minimum.

Pour les résidus, ajouter 8 ml d'acide sulfurique et 2 ml d'acide phosphorique, mettre dans la plaque chauffante jusqu'à l'ébullition, refroidir puis centrifuger.

Prendre 4 ml de la solution obtenir ajouter à 5ml d'eau purifier et 0,25 ml de la solution de peroxyde d'hydrogène (30% w/w).

La couleur orangé-rouge doit être formée.

### 3.3.3 Dosage par HPLC

#### 3.3.3.1 Principe de la technique :

«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, elle peut détecter des traces très fines». [4]

L'HPLC est très pratique, elle a plusieurs avantages on cite:

- Une grande vitesse de séparation.
- Précision du volume d'injection.
- Grande fiabilité.

**3.3.3.2 Le but :** cette méthode s'applique pour la détermination de l'Identification et la teneur en Celecoxib.

#### 3.3.3.3 Les conditions chromatographiques

Tableau 3.1 : les conditions chromatographiques pour le dosage HPLC

Nom de la colonne	Supelco LC-18-DB 5um, 15cm x 4,6mm
solution du rinçage	méthanol 25%, eau purifiée 5%
temps d'injection	20 min
Volume d'injection	10µl
Débit	1,5 ml/min
Température	40 C

#### 3.3.3.4 Préparation des solutions : [5]

##### **Solution tampon**

Pipeter 10 ml de solution triméthylamine dans un bécher, ajouter 990 ml d'eau purifiée, ajuster le pH a 3 +/- 0.1 avec l'acide phosphorique.

#### **Phase mobile**

Mélanger 380 ml de solution tampon avec 620 ml de méthanol. Dégazer à ultrason pendant 5 min et laisser refroidir.

#### **Solution standard celecoxib**

Prépare en double la solution standard de celecoxib.

Peser 25,0 mg de standard de référence et transférer dans la fiole de 50 ml ajouter 40 ml de solution de dilution et placer la fiole à ultrason pendant 10 min, agiter et laisser refroidir puis ajuster au volume avec le même solvant. Préparer un deuxième standard pour le contrôle check STD -2

#### **Solution standard sensitivity**

Pipeter 1,0 ml de solution de dilution diluée 20 fois dans une fiole de 100ml, diluer au volume avec le solvant de dilution et agiter.

#### **Solution STD stock SC-58762**

Peser 6,25 mg de standard de référence SC-58762 et transférer dans une fiole de 100 ml, dissoudre dans 80 ml de solvant de dilution et placer dans l'ultrason pendant au moins 10 min, laisser refroidir et compléter au trait de jauge.

#### **Solution STD résolution**

Pipeter 1,0 ml de solution standard stock dans une fiole de 25 ml, ajouter 20 ml de solution standard -2, agiter et laisser refroidir, diluer au volume avec la même solution.

#### **Solutions échantillons**

Préparer 3 préparation d'échantillon, ouvrir 5 gélules placer leurs contenues et les gélules vides dans une fiole de 500 ml, ajouter approximativement 400 ml de solvant de dilution, agiter pendant 15 min et placer à ultrason au moins 10 min, laisser refroidir et ajuster au volume avec le même solvant. Laisser les solutions échantillons reposer pendant 30 min puis pipeter la solution claire 25 ml de chaque solution dans des fioles de 100ml, diluer avec le solvant de dilution et agiter.

Filtrer les solutions sur un filtre 0.45 µm (PTFE).

**Solvant de dilution**

Mélanger 1500 ml de méthanol avec 500 ml d'eau

**Système de suitability**

On équilibre le système et on injecte les solutions, on fait la lecture des résultats.

**3.3.3.5 Calcul des paramètres d'HPLC**

**Facteur de symétrie :**  $\frac{0.05w}{2F}$  Équation 3. 5

Avec :

W: la largeur du pic à 5%

F: la largeur entre le pic maximum et le pic à 5%

**Pourcentage recovery :**  $\frac{Rs \times 100}{Cs \times \frac{Rsi}{Csi}}$  Équation 3. 6

Avec:

Rs: l'air du pic de standard de sensibilité

Rsi: la moyenne des airs des 6 injections

Cs: la concentration du standard de sensibilité

Csi: la concentration du STD -1

**Correction de l'air hs:**  $\frac{h \times 25}{W}$  Équation 3. 7

Avec :

h: l'air du pic du standard

W: masse du standard

**Les essais de chaque échantillon : %échantillon =**  $\frac{H \times P}{Hs \times 2}$  Équation 3. 8

Avec :

H: l'air du pic des solutions échantillons

Hs: moyenne des corrections de standard qui encadrent les échantillons

P: pureté du standard celecoxib

- Les impuretés: on calcul la concentration des impuretés présentés au niveau de chromatogramme.

### 3.3.4 Uniformité de teneur du celecoxib(UV)

#### 3.3.4.1 Le but:

Identification du spectre de celecoxib par UV et calcul de la teneur individuel en celecoxib dans les gélules de Celebrex.

#### 3.3.4.2 Procédure : [6]

##### Solvant de dilution

Mélanger 750 ml d'acétonitrile avec 250 ml d'eau purifiée et mélanger bien.

##### Solution standard

Peser 8 mg du standard de référence dans une fiole de 500ml puis diluer au volume avec le solvant de dilution. Préparer une deuxième solution pour le contrôle check.

##### Solution échantillon

Pour 10 gélules individuelles, ouvrir chaque gélule et placer le contenu ainsi que la gélule vide dans une fiole de 250 ml et compléter au volume avec le solvant de dilution. Laisser reposer pendant 30 min afin d'obtenir un surnageant clair puis pipeter 2 ml dans une fiole de 100 ml et compléter au volume avec le même solvant.

Mettre les solutions dans la cuve de spectrophotomètre et faire démarrer le scan.

- Assurer que les deux spectres de l'échantillon et du standard de référence à la longueur d'onde égale 252 sont identique.
- Calculer le pourcentage de label claim (%LBL CLM) pour chaque échantillon.

$$\% \text{LBL CLM} = \frac{A \times 100 \times PF}{RFs \times CX}$$

Équation 3. 9

Avec :

A: Absorbance de l'échantillon

RFs : moyenne des facteurs de réponse des 3 lectures du standard (STD-1)

Cx : concentration théorique (mg/ml)

PF : pureté du standard

1. Teneur en eau (kf)

- Pour la détermination de teneur en eau présente dans une matière, on utilise la méthode de titration Karl Fischer.

**Procédure :**

Sur 5 gélules individuelles on met chaque fois une gélule dans le vase de Karl Fischer qui contient le méthanol (solvant).

La réaction aura lieu dès que le titrage commence par l'injection d'hydranal, à la fin l'appareil va nous calculer la teneur en eau qui ne doit pas dépasser le 5,0 %.

### 3.3.5 Désintégration

La désintégration est une méthode qui permet savoir le temps de dissolution d'un médicament l'hors de leur administration orale.

**Procédure :**

On fait fonctionner le désintégrateur et on règle la température à 37°C, ensuite on met 6 gélules dans le désintégrateur et commence la dissolution. La dissolution ce fait lors d'un mouvement vertical de récipient qui contient l'échantillon. Après une dissolution totale des gélules on note le temps de de dissolution qui ne doit pas dépasser 15 min.

### 3.3.6 Dissolution (HPLC)

#### 3.3.6.1 Le but

La détermination du taux de dissolution du celecoxib contenue dans les gélules de Celebrex après un temps par HPLC.

### 3.3.6.2 Les conditions chromatographiques :

Tableau3.2 : Les conditions chromatographiques pour la dissolution HPLC

Température	Ambiante
Débit (ml/min)	1,5
Volume d'injection (µl)	5
Détection (nm)	256
La colonne	Zorbax SB-C8 3,5µm, 7,5 cm, 4,6 mm

### 3.3.6.3 Procédures : [7]

#### Milieu de dissolution

Peser 65,6 g du sodium phosphate tribasique anhydre dans un bécher de 5l on ajout 100 g de sodium dodecyl sulfate puis ajouter de l'eau purifié jusqu'à la trait de jauge.

Transférer la solution dans un bécher de 10 l et compléter au volume avec l'eau purifié, mélanger et ajuster le pH à 12 +/-0,1 avec l'acide phosphorique, dégazer pendant 5 min.

#### Phase mobile

Pipeter 5 ml de triéthylamine dans une fiole de 1L qui contient 995 ml d'eau purifié, mélanger et ajuster le pH à 7 +/-0,1 avec acide phosphorique. Mélanger 550 ml d'acétonitrile avec 450 ml de la solution de tampon triéthylamine.

#### Solution échantillon

Remplir chaque cloche de dissolutest par 1 L de milieu de dissolution placer les pales et régler la vitesse à 50 rpm et la température à 37°C +/-0,5. Placer une gélule dans chaque cloche avec un lest après 45 min prélever 5 ml de chaque cloche, filtrer les solutions.

#### Solution standard

Peser 50 mg de standard celecoxib dans une fiole de 500 ml, ajouter 5 ml d'acitronitrile dissoudre dans l'ultrason puis compléter au volume par le milieu de dissolution final.

Préparer une autre solution pour le contrôle check.

- Equilibrer le système pendant 30 min et injecter 6 fois le standard, mesurer l'air et le coefficient de variation qui doit être inférieur à 2.

**Contrôle check :**

- Calculer la moyenne des 3 injections de standard -2 et 3 dernières injection du standard-1, le standard check est calculé par :

$$\% = \frac{A_{std2} \times M_{std1}}{A_{std1} \times M_{std2}} \times 100 \quad \text{Équation 3. 10}$$

**Le taux de dissolution :**

Le taux de dissolution c'est la quantité du principe actif dissoudre pendant 45 min, il est calculer par :

$$\text{Taux de dissolution} = \frac{H \times p}{H_s \times 2} \times 100 \quad \text{Équation 3. 11}$$

H : air du celecoxib de l'échantillon

Hs : la moyenne de la correction de masse des standards

P : la pureté du standard en %

Le taux de dissolution doit être supérieur à Q+ 5% ou Q= 80%

### 3.4 Les eaux de rinçage et les écouvillons

#### 3.4.1 Définition :

C'est l'analyse des eaux utilisés pour le rinçage des équipements de fabrication qui ont le contact direct avec la matière.

#### 3.4.2 Le but :

On évite la contamination lorsque la transmission de fabrication d'une matière, à d'autre matière.

#### 3.4.3 Procédures :

- On fait passer de l'eau sur les parois interne de trémie supérieure et inférieure de conteneur et on récupère une petite quantité à analyser, c'est l'eau de rinçage.
- En utilisant un écouvillon, on les fait passer sur les parois internes du conteneur.
- On ajout 5 ml de méthanol pour l'écouvillon et on agite par agitateur vortex, puis on ajout 5 ml de l'eau purifié et on laisse reposer pendant 1 heure.
- Préparation de standard de PA :
  - On pèse 10 mg de principe actif dans une fiole de 100 ml, on complète au volume par le méthanol.

- On prélève 1 ml dans une fiole de 100ml, on prépare une autre fiole, on ajout pour la première l'eau, c'est le standard écouvillon, et on ajout pour la deuxième l'eau et méthanol, c'est le standard eau de rinçage.
- On fait analyser les échantillons par la spectroscopie UV en utilisant les deux standards préparés.

## CHAPITRE 4

### RESULTATS ET DISCUSSIONS

#### 4.1 Analyse de la matière première

##### 4.1.1 Principe actif

Les résultats des essais concernant le celecoxib sont présentés ci-dessus.

Tableau 4.1. Différents essais de celecoxib

Nom du test	Résultats	norme
Apparence	Conforme	Blanche au blanc cassé
Identification par IR	Conforme	Spectre conforme au celecoxib standard
Le point de fusion	161,0°C	160 - 164°C +/- 3°C
Teneur en eau	0,03 %	0,5 % maximum
Identification par HPLC	99,2 %	98 -102 %

L'échantillon de celecoxib est analysé par IR dans un intervalle

de nombre d'onde entre 4000 et 500  $\text{cm}^{-1}$  par la spectroscopie IR en faisant passer un faisceau de lumière infrarouge au travers de cet échantillon, et la courbe indiqué par la flèche (figure 4.1), c'est le spectre de celecoxib de référence tandis que le spectre de celecoxib échantillon est présenté dans la figure 4.2.

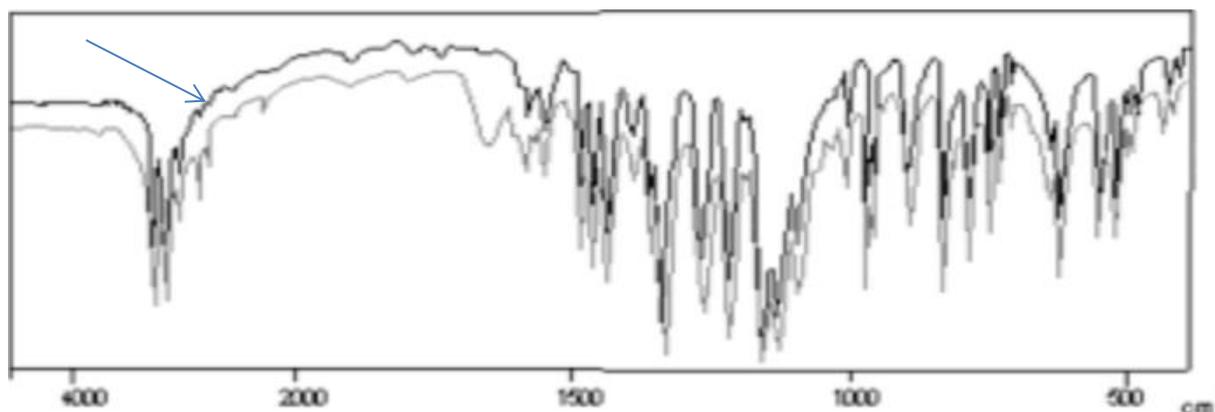


Figure 4. 1 Spectre de celecoxib de référence

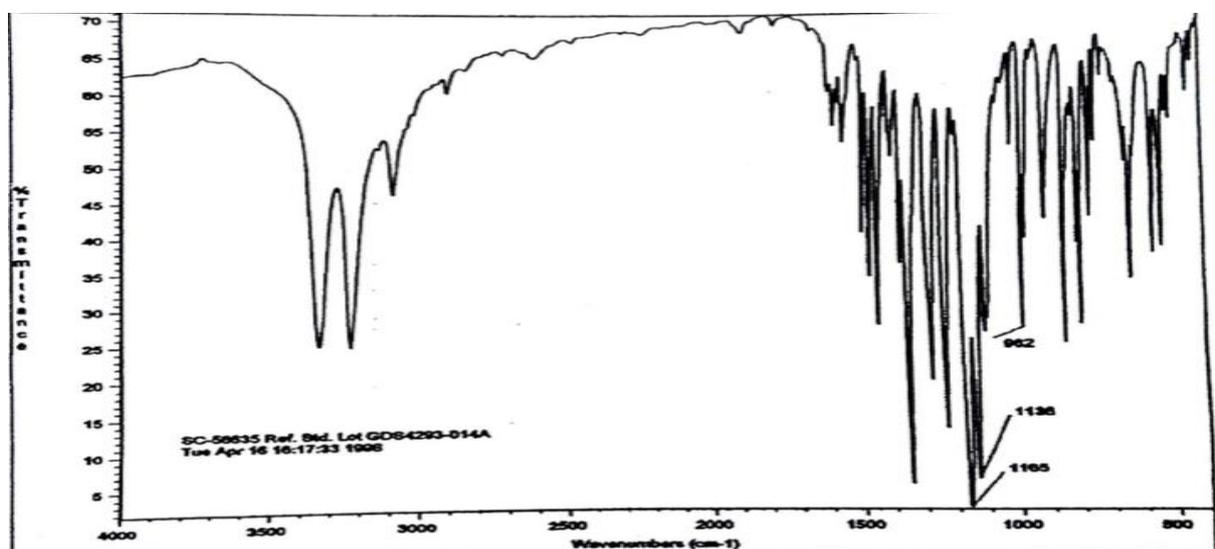


Figure 4. 2 Spectre de celecoxib d'un échantillon prélevé.

Selon les résultats d'analyse spectrophotométrie IR, le spectre de celecoxib échantillon et conforme par rapport au standard.

#### 4.1 2Analyse de Lactose monohydraté

Les résultats d'analyse obtenus sont regroupés dans le tableau 4.2.

Tableau 4.2 : différents essais de Lactose granulé

Nom du test	Résultats	Les normes
Alcalinité et acidité	Conforme	Virage au rose
Teneur en eau	5,1 %	4,5 -5,5 %
Identification C	Couleur rouge	L'apparition de la couleur rouge
Pouvoir rotatoire	54,9 °	54,4 -55,9°
Spectroscopie IR	Conforme	Le spectre de l'échantillon conforme avec celui de standard de référence

- Le pouvoir rotatoire :

On va prendre un exemple d'un seul pool, duquel on va prélever deux échantillons et on prend la moyenne des deux.

Tableau 4.3 : calculs de pouvoir rotatoire

	$\alpha$	C	L	A	Kf	PR
Ech-1	10,5	100	2	52,5	5,16	55,35
Ech-2	10,35	100	2	51,7	5,16	54,4

$$PR \text{ moy} = \frac{55,35 + 54,4}{2} = 54,9^\circ$$

Donc les résultats sont conformes, elle est dans les normes.

- Spectroscopie IR :

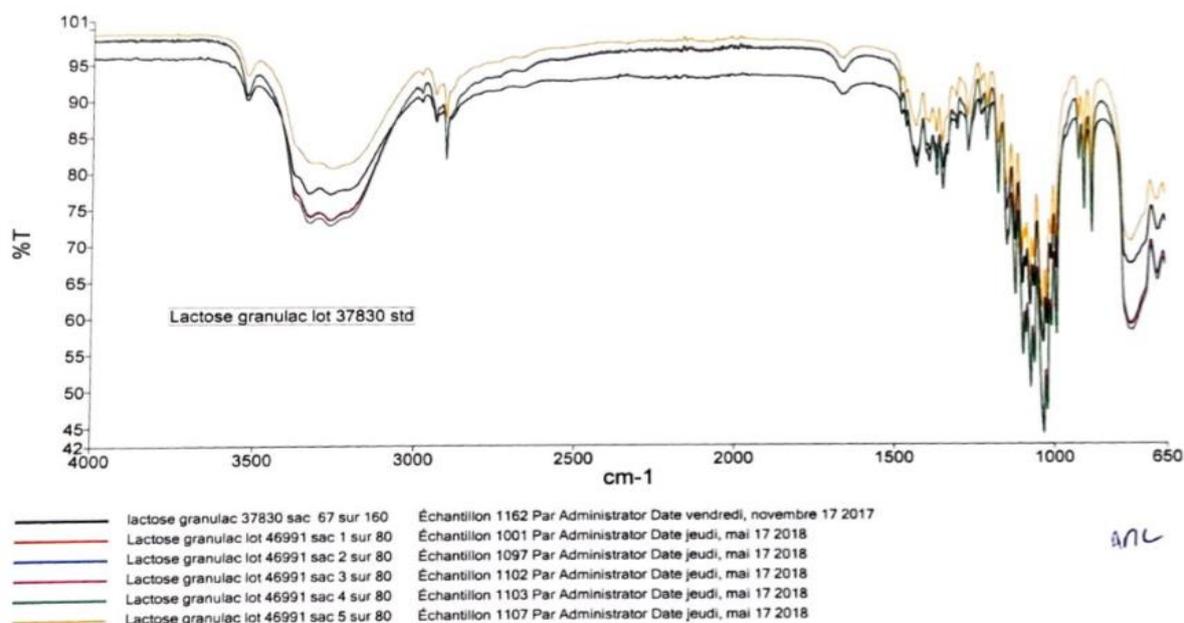


Figure 4. 3 Spectres des échantillons et de standard

L'examen de Tous les spectres des échantillons montre que sont conformes au spectre de standard.

#### 4.2Analyse de Mélange final (blend)

Les résultats de l'apparence, la teneur en celecoxib, uniformité de teneur et la teneur en eau sont présentés dans le tableau 4.4:

Tableau 4.4. Résultats d'analyse correspond au blend

Nom du test	Résultats	Les normes
Apparence	Conforme	Mélange sans contamination visible
Teneur en celecoxib	101,6 %	97,0-103,0 %
Uniformité de teneur	0,3 %	RSD≤5,0%
Teneur en eau	E=1,4 %	4,0 %

- La teneur en celecoxib (UV) :

➤ Le contrôle check =  $\frac{Astd2 \times Mstd1}{Astd1 \times Mstd2} \times 100 = 100,01 \%$

➤ La teneur en celecoxib =  $\frac{As \times 100 \times PF}{RFs \times CX} = \frac{0,8196 \times 100 \times 99,7}{0,8293} = 98,5 \%$

Pour les six échantillons :

$$X_{\text{moy}} = \frac{98,5+98,4+98,1+98,0+99,4+99,2}{6} = 98,6 \%, \quad \text{RSD} = 0,2 \%$$

- L'uniformité :

Les teneurs ne doivent pas dépassé 3% de teneur moyenne.

Tableau 4.5 : Résultats de teneur et de l'uniformité

La teneur= 98,6	Normes : [97 -103] %	Conforme
Uniformité	≤3,0 %	Conforme

### 4.3 Analyse de produit fini

Les résultats d'analyse obtenus sont les suivants

Tableau 4.6 : différentes résultats de produit finis

Nom d'essai		Résultats	Normes
Apparence		Conforme	-blister (alu/pvc) de 10 gélules taille #2opaque, blanche à blanc cassé. -deux bandes blanches. -date de péremption et numéro de lot lisibles.
La teneur en eau		3,33%	≤5,0 %
Identification de dioxyde de titanium		Conforme	Couleur orangé-rouge
Dosage par HPLC	Taux de dissolution	99,5 %	96,5 - 103,5 %
	Produits de dégradation	Absence	Max 0.05%
Uniformité de teneur	La teneur	99,6 %	85,0 – 115,5 %
	RSD %	1,5 %	≤ 6,0 %
Désintégration		3,0 min	Max : 15 min
Dissolution	Taux de dissolution	100,21 %	≥ 85,0 %
Variation de masse sur 20 gélules		Conforme	-maximum 2 gélules +/- 7,5% masse moyenne -aucune gélule +/-15% de masse moyenne

- Dosage par HPLC :

Après la terminaison du scan et l'obtention des courbes, on commence les calculs.

- Calcul d'RSD des aires, temps de rétention, résolution et facteur de symétrie.

Tableau 4.7 : l'écart type relatif de différents échantillons

Injection n°	Temps de rétention	Les airs	Facteur de symétrie	Ntan
1	12,3	18692675	0,8	6975,4
2	12,3	18719978	0,8	6966,1
3	12,3	18772667	0,8	6947,9
4	12,3	18748721	0,8	6910,0
5	12,3	18785840	0,8	6902,3
6	12,3	18729820	0,8	6886,3
Moy	12,3	18741617	0,8	9631
% RSD	0,0	0,2	0,0	0,5
RSD ≤ 1,5			Conforme	

- Le contrôle check :

Tableau 4.8 : Calcul de contrôle check

Désignation	L'air de pic
STD1 inj4	18748721
STD1 inj5	18785840
STD1 inj6	18729820
STD2 inj1	18692059
STD2 inj2	18697873
STD2 inj3	18702849
Contrôle check	99,7

Donc le contrôle check est dans les normes.

- Correction de l'air de pic Hs :

C'est la moyenne des deux airs d'injection 7 et 8, Hs est égal à 18795819.

- Pourcentage recovery :

%recovery= 103,74	Normes : 60 -140,0 %	Conforme
-------------------	----------------------	----------

- Taux de dissolution en % :

On calcule d'abord la correction de l'air de pic du standard hs :

$$H_s = \frac{h \times 25,0}{w}$$

## Chapitre 4 : Résultats et discussions

Puis le taux de dissolution :

$$\% \text{ éch} = \frac{h \times p}{Hs \times 2}$$

H : l'air de pic.

W : masse du standard.

P : pureté du standard de Celecoxib.

Les résultats sont écrits dans le tableau ci-dessous :

Tableau 4.9 : Détermination de l'écart type

Désignation	L'air de pic	Teneur	Masse (mg)
Ech1	18725717	99,43	330,76
Ech2	18657578	99,07	327,38
Ech3	18808567	99,87	330,44
Moyenne		99,5	
RSD %		0,40	

Normes :

Teneur	96,5 – 103,5 %	Conforme
--------	----------------	----------

- Les impuretés et les produits de dégradation :
  - premièrement dans le chromatogramme, on cherche la présence des impuretés connue comme sc-58762, le temps de rétention de leur pic est donné t= 10,3. Donc on remarque que le pic de sc-58762 chromatogramme est existé.
  - pour la recherche des matières de dégradation supérieur à 0.05, on prend chaque pic dans le chromatogramme et on calcul leur RRT par la formule suivante :

$$RRT = \frac{\text{airdepicobservé}}{\text{airdepicprincipal}} \times 100$$

Équation 4. 1

$$\text{Exemple : } RRT = \frac{2373}{18742984} \times 100 = 0,01 < 0.05 \%$$

On n'a pas trouvé des matières de dégradation supérieures à 0,05%

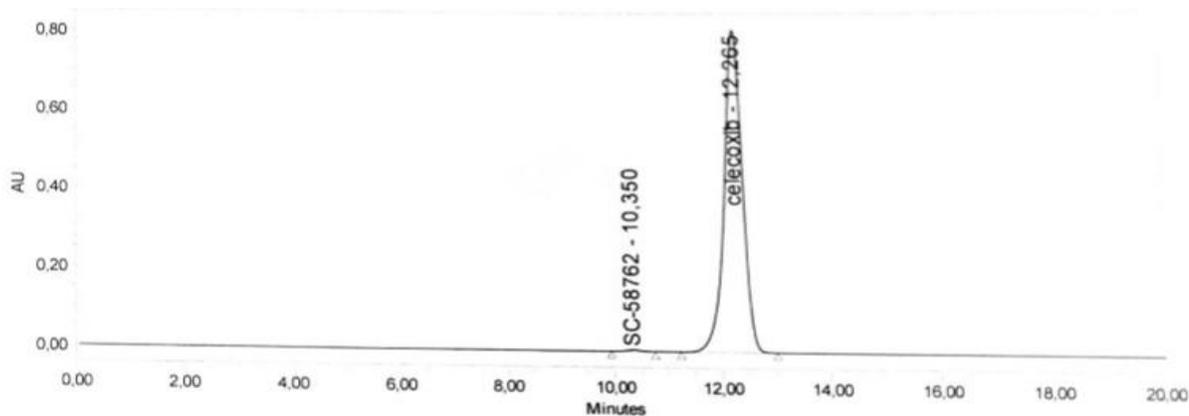


Figure 4. 4 Chromatogramme représente le pic d'échantillon et des impuretés

➤ On calcul d'abord le contrôle check :

$$\text{Contrôle check} = \frac{A_{std2} \times M_{std1}}{A_{std1} \times M_{std2}} \times 100 = 99,99 \%$$

$$RFs1=0,7192 \text{ et } RFs2=0,7206$$

➤ Donc label claim est égale à :

$$\% \text{LBL CL} = \frac{A \times 100 \times RF}{RFs \times Cm} = \frac{0,7327 \times 100 \times 0,997}{0,7192} = 101,57 \%$$

Les résultats de calcul de teneur sont dans le tableau 4.10

Tableau 4.10 : calculs de teneur

E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	Moy	RSD %
101,6	97,3	100,1	100,0	101,1	101,6	98,9	98,4	98,0	99,0	99,6	1,5
Normes :										85,0 – 115 %	RSD ≤ 6%
										conforme	conforme

- Dissolution (HPLC) :

Les calculs sont les suivants

Chapitre 4 : Résultats et discussions

➤ Contrôle check =  $\frac{Airstd2 \times Mstd1}{Airstd1 \times Mstd2} \times 100 = 99,0 \%$

Contrôle check= 99,0 %	98 - 102 %	Conforme
------------------------	------------	----------

➤ Le taux de dissolution et l'uniformité :

$$\% \text{ Ech} = \frac{H \times p}{Hs \times 2} = 101,21\%$$

$$\text{RSD \%} = 0,1$$

Taux de disso= 101,21 %	≥85,0 %	Conform
-------------------------	---------	---------

• La masse moyenne et la variation de la masse:

- On pèse 20 gélules aléatoirement vide et remplie et on calcul la moyenne de la différence.
- La variation de masse :

La variation est calculé par :  $\frac{\|x_{moy} - x_{max}\|}{x_{moy}}$

Xmoy	X max	X min	Xmoy-xmin	Xmoy-xmax	Variation
268,18	273,10	264,00	4,18	-4,92 (plus grand écart)	0,98

## **Conclusion :**

J'ai effectué mon stage de fin d'étude de la Licence Professionnelle en contrôle de qualité au sein de l'entreprise Pfizer. Lors de ce stage de 6 semaines, j'ai pu mettre en pratique mes connaissances théoriques acquises durant ma formation.

Après ma rapide intégration dans l'équipe, j'ai eu l'occasion de réaliser plusieurs tâches qui ont constitué une mission de stage globale.

J'ai pu effectuer tous les analyses de contrôle de qualité disponibles, commençons par les principaux analyses comme l'uniformité de teneur en celecoxib, le dosage et la dissolution par HPLC, ainsi que les analyses des matières premières et l'analyse du blend. Les résultats sont conformes selon normes européennes qui sont très strictes car le secteur dépend directement de la santé humaine.

Je pense que cette expérience en entreprise m'a offert une bonne préparation à mon insertion professionnel, pour moi une expérience enrichissante et complète qui conforte mon désir d'exercer mon futur métier dans le domaine pharmaceutique.

Enfin, je tiens à exprimer ma satisfaction d'avoir pu travailler dans de bonnes conditions matérielles et un environnement agréable.

## Références

[1] Article L5121-1 du code de la santé publique.

[2] PARMENTIER, Léa, et al. (2015, février 19). Aspartame. Consulté le février 21, 2015, sur skyrock.com: <http://aspartametpe.skyrock.com/>

[3] pharmacopée européenne, édition 4, 2.2.7 Pouvoir rotatoire, pp.26.

[4] Khetrapal, A. (2016, Aout 18). chromatographie liquide de haut performance (HPLC). Consulté le Mai 31, 2018, sur [www.news-medical.net: www.news-medical.net/life-sciences/High-Performance-Liquide-Chromatography-\(HPLC\)-\(French\).aspx](http://www.news-medical.net/life-sciences/High-Performance-Liquide-Chromatography-(HPLC)-(French).aspx).

[5] Technique C 143.0, Identification, teneur et produits de dégradation du celecoxib dans les gélules celebrex 100 et 200mg par HPLC, 14/04/2008.

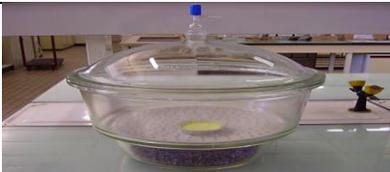
[6] Technique U 3.731, Uniformité de teneur de celecoxib dans les gélules celebrex 200 mg par UV, 02/04/2017.

[7] Technique C 30.92, Dissolution du celecoxib dans les gélules celebrex 100 mg et 200 mg par HPLC, 18/05/2017.

# Annexe 1 : Chromatogramme HPLC

<p>Dosage phase mobile</p>	<p>Dosage résolution</p>
<p>Dosage std 1</p>	<p>Dosage std 2</p>
<p>Dosage ech1</p>	<p>Dissolution- phase mobile</p>
<p>Dissolution std1</p>	<p>Dissolution ech1</p>

## Annexe 2 : Appareils et dispositifs

		
<p><b>Balance</b></p>	<p><b>Spectroscopie IR</b></p>	<p><b>Plaque chauffante</b></p>
		
<p><b>agitateur-vortex</b></p>	<p><b>Centrifugeuse</b></p>	<p><b>pH-mètre</b></p>
		
<p><b>Four à moufle</b></p>	<p><b>Etuve à vide</b></p>	<p><b>Etuve à convection</b></p>
		
<p><b>Ultrason</b></p>	<p><b>Dessiccateur</b></p>	<p><b>Désintégrateur</b></p>
		
<p><b>Dissolutest</b></p>	<p><b>Spectroscopie UV</b></p>	<p><b>HPLC</b></p>