REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DE TECHNOLOGIE



Département de génie des procédés et environnement

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Génie des Procédés Pharmaceutiques

THEME

CONTROLE PHYSICO-CHIMIQUE, MICROBIOLOGIQUE, ET TOXICOLOGIQUE D'UNE SOLUTION INJECTABLE

Présenté par :

HASSANI Warda

LADEK Fatma Zahra

Proposé et encadré par :

Dr SEDDARI Soumia

M^{me} : GUEMANANacira

2019/2020

REMERCIMENT

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

En second lieu, nous tenons à remercier notre promotrice Mme : SEDDARI Soumia et notre co-promotrice Mme GUEMANA pour leurs précieux conseils, leur aide durant toute la période du travail, pour nous avoir fait découvrir et apprécier l'univers de la production et du contrôle des médicaments ; et pour leur patience et compréhension devant nous tout au long de l'élaboration de ce projet de fin d'étude.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner, de juger notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous remercions aussi Mr Mohamed FEHIS pour ton soutien moral et matériel, tes conseils et ta gentillesse sans égale.Vous avez sans cesse cultivé en nous le sens de l'honneur.Permettez-nous de vous exprimer ici notre profond respect et notre considération la plus distinguée.

Nous tenons d'exprimer nos remercîments avec une très grande gratitude à Mr Mostapha, Mr Tayeb, Mr Bachir, Mme Karima, Mme BAKHTIet Mme TorayaVous inspirez le respect par votre humanisme profond et votre estime pour le prochain. Vous avez été présent tout au long de ce travail, toujours à l'écoute et prêt à nous guider ; permettez-nous de vous adresser ici nos remerciements les plus sincères en témoignage de notre admiration scientifique et pédagogique remarquables. Soyez rassuré de toute notre reconnaissance et de notre immense gratitude.

Nous remercions tous le personnel pharmaceutique de l'unité de production des médicaments SAIDAL qui nous ont bien accueillis et faciliter notre travail et pour l'aide incalculable qu'ils nous ont apporté.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loinà la réalisation de ce travail.
Veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude et notre profond respect.

DEDICACE

Je dédie ce travail :

A ma chère mère Hafsa, mon chèr père Salah, mon grand père Ahmed, source de tendresse, de soutien et de motivation.

A mes frères Ali et Abdelrahmen, mes sœurs Zohra et Nacira et à leurs enfants, source de joie et de bonheur.

A toute ma famille qui m'aime vraiment, source d'espoir.

A mes proches amis Amina, Sara et ma binôme fatma zahra, source d'épanouissement

A vous chèr lecteur

HASSANI Warda

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail aux êtres qui me sont les plus chers :

A ma reinema chère maman Dr BOUZIDANI Khadidja

Celle qui a cru en moi dès le premier jour et m'a soutenu dans chaque décision que j'ai prise et m'a toujours accordé sa confiance qui m'a poussé tout le longue de mon chemin maman je te donne ma vie et c'est peu pour toiTu représentes pour moi lesymbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement,

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secourspour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pourexprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'ascessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfanceet même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ta fille Suit le bon chemin dans sa vie et ses études.

J'espère te voir heureuse car c'est mon rêve ultime

A mon très cher père Mr LADEK Allel

Mon idole, et mon héro : Les mots me manquent pour te qualifier car pour moi tu n'as pas ton égal sur terre. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eupourvous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Rien ne puisse exprimer mes sincères sentiments pour ta patience illimitée, ton encouragement continu et ton aide.

Puisse ce travail symboliser le fruit de tes longues années de sacrifice consentis pour mes études et mon éducation. Et que ce dernier soit témoignage de ma reconnaissance et demon amour sincère et fidèle.

A ma sœur unique Anfel LADEK

Tu es ma source de bonheur, de vitalité et la lumière de mon chemin.

Dedicace

Je remercie le bon Dieu de m'avoir donné cette adorable sœur qui a toujours été là pour moi, merci pour Tes sacrifices, ton soutien inconditionnel, ta gentillesse sanségal, et ton encouragement

Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amouret l'affection que je porte pour toi.que Allah nous augmente le degré de l'amour qui nous unit encore d'avantage afin que nous continuions de faire la fierté de notre petite famille.

Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, deréussite et de sérénité.

A ma deuxième maman Zakia BOUZIDANI

Ton soutien moral et matériel, ta gentillesse sanségal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mesétudes. Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travailn'aurait vu le jour, j'espère que tes conseils et enseignements ont porté fruit. Je t'adore

A celui qui m'a toujours considérée sa fille mon deuxièmepapa BOUZIDANI Mohamed Abderaouf

Les mots me manquent pour vous signifier ma gratitude pour votre soutien et affection inestimable que vous avez eu à mon égard, aucun hommage ne pourrait

Être à la hauteur de l'amour dont tu ne cesses de me combler. Que dieu te procure bonne santé et longue vie. Merci pour tout.

A mes grandes mères et grands pères

Je pris le bon Dieu pour que vous ayez une longue vie afin que nous puissions encore bénéficier de vos bons conseils de votre affection et de votre attention si précieuse.Que Dieu veille sur vous et vous garde encore très longtemps.

A mon oncle BENMEHIRIZ Mohamed

Je vous remercie pour votre hospitalité sans égal votre générosité votre aide et votre accueil. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver ett'accorder santé, longue vie et bonheur

Dedicace

A mes petites sœurs aya, Hiba, Ines et mes petits frères Mohamed Adem et Sidali

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux debonheur et de réussite.

A ma copine bien aimée MOUSLI Sohila

Tu es plus qu'une amie, tu es une sœur, une conseillère, un soutien pour moi. Je n'oublierai jamais les moments de galères, de joies que nous avons vécus ensemble. Qu'ALLAH fasse que le lien qui nous lie soit encore plus fort.

A mes chères copines :

Imen, Ahlem, Wafaa, Assia LAMRI, Aya et Amina boucheraet mes amies (FATAYAT ANOUR) Zahra, Amel, Fedoua, Anfal, Asma, Amina, Sihem, Hakima, Ryma,

Maya, Imen, et Walaa.En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs detous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédiece travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et debonheur.

A ma binôme HASSANI Warda

Un remerciement particulier et sincère pour tous vos effortsfournis.

A tous les pharmaciens et les ingénieurs de l'unité de production des médicaments SAIDAL

Nous avons eu le privilège de travailler parmi votre équipe et d'apprécier vos qualités et vos valeurs. Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoirnous ont énormément marqués.

Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuseconsidération et notre profonde admiration pour toutes vosqualités scientifiques et humaines. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoignernotre profonde gratitude.

A Tous ceux que je n'ai pas cité et qui de près ou de loin m'ont épaulé dans la réalisation de ce travail

LADEK Fatma zahra

Résumé

ملخص

عملنا هو عبارة عن دراسة مقارنة لعقارين (ديكسازون من صيدال-الجزائر) و (يونيدكس من يونيماد-تونس), مراقبة الجودة الفيزيائية و الكيميائية و الميكروبيولوجية و السمية لهذين المنتجين النهائيين (محلول قابل للحقن) يظهر امتثالهما للمعايير الدولية التي يتطلبها دستور الأدوية الأوروبي 2017 الطبعة التاسعة.

أعطت جميع التحليلات التي تم اجراؤها على كل من المادة الأولية و المزيج النهائي و المنتج النهائي قيم موافقة للمعيار المستخدم.

يوضح تقييم دراسة الاستقرار في ظل ظروف الاجهاد (70 و 100 درجة مئوية) على المنتجين النهائيين أن يونيدكس أكثر قابيلة للتغيير بمرور الوقت.

أظهرت الاختبارات التي أجريت على الفئران البيضاء أن المنتجين لهما نشاط قوي للغاية كمضاد للالتهابات

كلمات مفتاحية : مراقبة, محلول للحقن, المعيار, الاستقرار.

Résumé

Notre travail est une étude comparative de deux médicaments : DEXASONE (de SAIDAL –Algérie-) et UNIDEX (de UNIMED –Tunisie), le contrôle de qualité physico-chimique, microbiologique et toxicologique de ces deux produits finis (solution injectable) montre leurs conformités aux normes internationales exigées par la pharmacopée européenne 2017, 9ème édition.

Toutes les analyses effectuées sur chacun des paramètres du principe actif, du mélange final, et du produit fini, ont donné des valeurs conformes à la norme utilisée.

Une évaluation d'une étude de stabilité dans des conditions de stress (70 et 100 °C) sur les deux produits finis démontre qu'UNIDEX est plus altérable dans le temps. Les essais in vivo effectuer sur les souris albinos montre que les deux produits ont un activité anti inflammatoire très forte.

Mots clés : contrôle, solution injectable, norme, stabilité

Résumé

Summary

Our work is a comparative study of two drugs : DEXASONE (from SAIDAL – Algeria) and UNIDEX (from UNIMED–Tunisia), the physico-chemical, microbiological and toxicological quality control of these two finished products (injectable solution) shows their compliance to the international standards required by the European Pharmacopoeia 2017, 9th edition.

All the analyzes carried out on each of the parameters of the active principle, of the final mixture, and of the finished product, gave values in accordance with the standard used.

An evaluation of a stability study under stress conditions (70 and 100 ° C) on the two finished products shows that UNIDEX is more alterable over time. The in vivo tests carried out on albino mice show that the two products have a very strong anti-inflammatory activity.

Key word : control, solution for injection, standard, stability.

Table des matières

Liste des abréviations
Liste des tableaux
Liste des figures

Introduction générale 1

Chapitre I : synthèse bibliographque

Introduction 3

.1 Définition d'un médicament 3

.2 Un médicament princeps 3

.3 Un medicament générique 3

.4 Les voix d'administrations et les formes pharmaceutique 4

.4.1 La voie générale [7, 8] 4

4.1.1. La voie parentérale ou voie injectable 4

.4.1.1 La voie entérale: 5

.4.1.2 Autres voies de la voie générale 5

.4.2 La voie locale 6

5. Les préparations injectables 6

5.1. Définition 6

5.2. Les propriétés des préparations injectables 7

II. Qualités des médicaments 7

1. Les bonnes pratiques de fabrication 7

2. Les bonnes pratiques de laboratoire 7

2.1. Contrôle physico-chimique 8

2.2. Contrôle microbiologique 8

2.3. Contrôle toxicologique 8

III. La corticothérapie 8

1. L'inflammation et action des anti-inflammatoire 8

1.1. Définition de l'inflammation 8

1.2. La réactioninflammatoire 9

1.3. Les anti-inflammatoire 10

1.4. L'action des médicaments anti-inflammatoires : 10

2. Les anti-inflammatoire stéroïdiens 11

Table des matières

2.1. Définition 11
2.2. Corticoïdes naturels et stéroïdes de synthèse 11
2.2.1. Les corticoids naturels 11
2.2.2. Les stéroïdes de synthèse 15
2.3. Pharmacologie des corticoïdes 16
2.3.1. Pharmacocinétique 16
2.3.2. Les demi-vies plasmatiques et demi-vie biologique 17
2.3.3. Activité pharmacologiques des corticoïdes 17
2.4. Etudes thérapeutique 20
2.4.1. Principales indications thérapeutiques 20
2.4.2. Effets indésirables 20
2.4.3. Contres indications 21
2.4.4. Interactions médicamenteuses 22
3. La DEXAMETHASONE 22
3.1. Définition 22
3.2. Le nom chimique 23
3.3. Propriétés chimiques [27] 23
3.4. Classe pharmaco-thérapeutique 23
3.5. Pharmacodynamie 23
3.6. Pharmacocinétique 23
3.7. Mode d'action 23
3.8. Indications [26,27] 24
3.8.1. Indications d'utilisation 24
3.8.2. Indications thérapeutiques 24
3.9. DEXAMETHASONE et le Covid-19 : 25
3.10. Posologie et mode d'administration 26
3.11. Contre-indications 27
3.12. Grossesse et allaitement 27
3.12.1. Grossesse 27
3.12.2. Allaitement 28
3.12.3. Interactions avec d'autres médicaments 28
3.13. Effets indésirables 29
3.14. Durée et précautions particulières de conservation 29
3.14.1. Durée de conservation 29

Table des matières

3.14.2. Précautions particulières de conservation 29
Conclusion 30

Chapitre II : matériel et méthode

I. Introduction 31
1. Contrôles physico-chimiques 31
1.1. Principe actif (DEXAMETHASONE phosphate sodique) 31
1.1.1. Aspect 31
1.1.2. Solubilité 31
1.1.3. Identification B 32
1.1.4. Les essais 32
1.1.5. Le pouvoir rotatoire spécifique 32
1.1.6. La teneur en eau 33
1.1.7. Les phosphates inorganiques 34
1.1.8. Le dosage par chromatographie en phase liquide (HPLC) : 34
1.1.9. Les substances apparentées (par HPLC) 35
1.2. Mélange final 37
1.2.1. Détermination du pH 37
1.2.2. Le dosage par HPLC 37
1.3. Le produit fini 38
1.3.1. L'aspect 38
1.3.2. Identification CCM 39
.1.3.3 Volume extractible 40
1.3.4. Détermination du pH 41
.1.3.5 Contaminations particulaire 41
1.3.6. Identification et dosage par HPLC 42
.2 Contrôles microbiologique 43
2.1. Contrôle de stérilité 43
2.2. Contrôle de fertilité 44
3. Contrôle toxicologique 45
3.1. Recherche des endotoxines bactériennes par la méthode Gel-caillot-Test LAL . 45
4. Etudes d'UNIDEX 4 mg/ml 50
5. Evaluation de la stabilité de DEXASONE et UNIDEX 4 mg/ml dans les conditions de stress : 51

Table des matières

.5.1 Mise en point d'une méthode de dosage de la DEXAMETHASONE phosphate sodique par UV-visible 51

5.2. Etude de la cinétique de dégradation de deux produits finis « DEXASONE 4 mg/ml et UNIDEX 4 mg/ml » dans les conditions de stress 53

6. Evaluation de l'activité anti- inflammatoire de DEXASONE et UNIDEX 4 mg/ml in vivo : 55

Chapitre III : résultats et discussions

1. Contrôles physico-chimiques: 59

1.1.1. Aspect : 59

1.1.2. Solubilité : 59

1.1.3. Identification B : 59

1.1.4. Les essais : 59

1.1.5. Le pouvoir rotatoire spécifique: 60

1.1.6. La teneur en eau: 60

1.1.7. Les phosphates inorganiques: 60

1.1.8. Le dosage par HPLC: 60

1.1.9. Les substances apparentées (par HPLC) : 61

1.2. Mélange final : 64

1.2.1. Détermination du pH : 64

1.2.2. Le dosage par HPLC : 64

1.3. Le produit fini : 64

1.3.1. L'aspect : 64

1.3.2. Identification CCM : 64

1.3.3. Volume extractible: 65

1.3.4. Détermination du pH 66

1.3.5. Contaminations particulaire: 66

1.3.6. Identification et dosage par HPLC : 67

.2 Contrôles microbiologiques : 69

2.1. Contrôle de stérilité : 69

2.2. Contrôle de fertilité 70

3. Contrôle toxicologique 70

4. Etudes d'UNIDEX 4 mg/ml: 71

5. Evaluation de la stabilité de DEXASONE et UNIDEX 4 mg/ml dans les conditions de stress : 73

Table des matières

.5.1 Mise en point d'une méthode de dosage de la DEXAMETHASONE phosphate sodique par UV-visible : 73

5.2. Etude de la cinétique de dégradation de deux produits finis « DEXASONE 4 mg/ml et UNIDEX 4 mg/ml » dans les conditions de stress : 76

6. Evaluation de l'activité anti inflammatoire de DEXASONE et UNIDEX 4 mg/ml in vivo : 81

Abréviations et nomonclatures

µl : microlitre

ACTH : AdrenoCorticoTropic Hormone.

AD : l'adrénaline.

C° : degré Celsius

CA : certificat d'analyse

CBG : CorticostéroidBinding Globulin.

CEN : Contrôle de l'Eau Négatif

CEP : Contrôle de l'Eau positif.

CPN : contrôle du produit Négatif.

CPP : Contrôle du Produit Positif.

CRH : Corticotropin Releasing Hormone.

CSE : Contrôle de Standard des endotoxines

DMV: Dilution maximal Valid.

E.coli : Escherichia coli

ERL : eau pour réactif LAL

GC : les glandes corticoïdes.

GCs : les glandes corticosurrénales.

H : heure

HPLC : chromatographie en phase liquide

HTA : hypertension artérielle

IgE : immunoglobuline E.

IM : intramusculaire.

IR : infrarouge

IV : intraveineuse.

KF : Karl Fischer

LAL : lysat d'amoebocyteslimulus

mg : milligramme

min : minute

ml : millilitre

mm : millimètre

NAD : la noradrénaline.

nm : nanomètre

ORL : otorhinolaryngologie

Liste des abreviation

PH : potentiel hydrogène

RAA : rhumatisme articulaire aigu

SCR : substance chimique de référence

SCR : substance chimique de référence

TE : teneur en eau

TEB : teste des endotoxines bactériennes

UE : unité en endotoxines

USP: United States pharmacopea

UV : ultra violet

Vd : vélocité diastolique

Liste des tableaux

Chapitre I : synthèse bibliographque

Tableau 1 : la posologie de la DEXAMETHASONE chez les adultes, les enfants (>35 kg) et les enfants (<35 kg) [30]. 26

Chapitre II : matériel et méthode

Tableau 2 : paramètre de la colonne HPLC [33]. 35
Tableau 3 : paramètre de la colonne HPLC [33]. 36
Tableau 4 : système de gradient [33]....37
Tableau 5 : paramètre de la colonne HPLC. 38
Tableau 6 : Les paramètres du système chromatographique [37]. 40
Tableau 7 : Les quantités de (CSE, ERL, LYSAT) utilisés pour avoir les mélanges réactionnels qui vont être incubés [37]. 47
Tableau 8 : La préparation des solutions A, B, C et D [33]. 49

Chapitre III : résultats et discussions

Tableau 9 : Les résultats des essais. 60
Tableau 10 : les résultats obtenus d'après les chromatogrammes 61
Tableau 11 : identification des substances apparentées 63
Tableau 12 : identification des substances apparentées (suite)....64
Tableau 13 : les résultats des 4 reprises. 66
Tableau 14 : les résultats obtenus d'après les chromatogrammes 69
Tableau 15 : les résultats des contrôles effectués sur UNIDEX 4 mg/ml. 71
Tableau 16 : comparaison des résultats des spectres. 75
Tableau 17 : l'absorbance de DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR dans différentes concentrations. 76
Tableau 18 : les résultats de DEXASONE 4 mg/ml à 70°C. 79
Tableau 19 : les résultats de UNIDEX 4 mg/ml à 70°C 80
Tableau 20 : Diamètre de la patte après injection de la carragénine et traitement par la DEXASONE et le DICLOFENAC. 81
Tableau 21: Diamètre de la patte après injection de la carragénine et traitement par l'UNIDEX et le diclofénac. 84

Liste des figures

Chapitre I : synthèse bibliographque

Figure 1: les signes cardinaux de la réaction inflammatoire [13] 9
Figure 2: schéma qui résume la réaction inflammatoire [14]. 10
Figure 3 : Représentation moléculaire du cortisol $C_{21}H_{30}O_5$ [16]. 12
Figure 4: le fonctionnement des glandes surrénales [18]. 13
Figure 5 : Synthèse du cortisol à partir du cholestérol [19].....13
Figure 6: Axehypothalamo-hypophyso-surrénalien[16]. 14
Figure 7: Molécule de glucocorticoïdes [17]. 15
Figure 8 : Inhibition des médiateurs de l'inflammation par les corticoïdes [24]. 19
Figure 9: dexamethasone solution injectable [26]. 22
Figure 10: la structure chimique de la DEXAMETHASONE [27]. 23
Figure 11: la DEXAMETHASONE et le test de covid-19[30] 26

Chapitre II : matériel et méthode

Figure 12 : Ampoule de DEXASONE 4mg/ml. 39
Figure 13 : prélèvements automatiquement par l'appareil de comptage.....42
Figure 14 : préparation des vases dans une chambre stérile. 44
Figure 15 : les échantillons et les mélanges réactionnels avant l'incubation 49
Figure 16 : solution injectable UNIDEX 4 mg/ml. 51
Figure 17 : Injection de la carragénine au niveau de la patte postérieur gauche d'une sourie. 56
Figure 18 : L'injection intramusculaire de DEXASONE (A) et D'UNIDEX (B).....57
Figure 19 : Photo d'œdème au niveau de la patte gauche de la souris (A) et la mesure du diamètre de l'œdème (B). 57

Chapitre III : résultats et discussions

Figure 20 : Chromatogramme de DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR 60
Figure 21 : Chromatogrammes de DEXAMETHASONE phosphate sodique lot 179/1. ..61
Figure 22 : le chromatogramme de la solution de témoin (a) 62
Figure 23 : le chromatogramme de la solution de témoin (b).....62
Figure 24: le chromatogramme de la solution de témoin (c) 63
Figure 25: les taches d'UNIDEX et DEXAXONE et le standard.....65
Figure 26: mesure de volume de contenant de 5 ampoules. 66
Figure 27: chromatogramme de la solution échantillon (DEXASONE 4 mg/ml) 67
Figure 2 : Chromatogrammede la solution standard (DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR) 68
Figure 29 : contrôle de stérilité de DEXASONE 4 mg/ml et UNIDEX 4 mg/ml. 69
Figure 30 : contrôle de fertilité de DEXASONE 4 mg/ml et UNIDEX 4 mg/ml. 70
Figure 31 : résultat négative, absence de gel. 71
Figure 32 : Résultat positive, présente de gel. 71
Figure 33 : le spectre de solution A et B. 73
Figure 34 : le spectre de la solution C. 74
Figure 35 : le spectre de la solution B et D.....74
Figure 36 : le spectre de la solution E. 75
Figure 37 : courbe d'étalonnage de DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR 76

Figure 38 : l'A^{max} d'UNIDEX 4 mg/ml sous 70 C° pendant 465 min. 77
Figure 39 : l'A^{max}de DEXASONE 4 mg/ml sous 70 C° pendant 465 min. 77
Figure 40 : l'Amaxd'UNIDEX 4 mg/ml sous 100 C° pendant 120 min. 78
Figure 41 : l'AmaxDEXASONE 4 mg/ml sous 100 °C pendant 120 min. 79
Figure 42 : les courbes de dégradation de DEXASONE et UNIDEX à 70 °C. 80
Figure 43 : Pourcentages d'augmentation de l'œdème induit par la carragénine en fonction du temps lors du traitement par la DEXASONE et le DICLOFENAC. 82
Figure 44 : Pourcentage d'inhibition de l'inflammation par la DEXASONE et le DICLOFENAC. 83
Figure 45 : Pourcentages d'augmentation d'œdème, en présence d'UNIDEX et le DICLOFENAC. 85
Figure 46 : Pourcentages d'inhibition de l'œdème par l'UNIDEX et le DICLOFENAC..85

Introduction générale

Le gouvernement Algérien a effectué les plus grands effortsvdans l'industrie pharmaceutique, qui jouent un rôle important sur la santé humaine, il fournit des produits pharmaceutiques et des médicaments utilisés dans la médecine moderne et traditionnelle, qui sont indispensables pour prévenir et traiter les maladies ainsi que pour protéger la santé publique.

Ces produits pharmaceutiques et ces médicaments doivent répondre aux exigences du marché pharmaceutique, ils doivent être efficaces, de bonne qualité et bien sécurisés, ils représentent l'ensemble des médicaments génériques qui doivent être similaires aux médicaments princeps avec un prix plus abordable vu la faiblesse du pouvoir d'achat.

La qualité de ces médicaments génériques doit être s'assurer par un contrôle rigoureux physicochimique, microbiologique et toxicologique des matières premières, des produits intermédiaires et ainsi une étude de stabilité des produits finis.

Le DEXASONE est parmi les médicaments génériques fabriqué par l'unité SAIDAL- MEDEA.C'est un corticoïde qui a un effet anti-inflammatoire et immunosuppresseur, il se présente sous forme d'une solution injectable, administrer par la voie intramusculaire et intraveineuse.

Vu l'importance de ce médicament, nous avons entrepris cette étude afin de contrôler à différents stades de sa fabrication, les paramètres physico-chimiques et microbiologiques pour déterminer sa conformité avec les normes en vigueur.

L'objectif de cette étude a été aussi de faire une comparaison en matière de qualité de deux produits pharmaceutiques équivalents : Le DEXASONE (de SAIDAL- MEDEA) et l'UNIDEX (de UNIMED-TUNISIE) qui ont la même composition qualitative et quantitative en principe actif ainsi que la même forme pharmaceutique «solution injectable ».

Pour ce fait, notre travail est devisé en trois (3) chapitres :

- ✓ Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique sur les médicaments, le contrôle de qualité des médicaments et la corticothérapie.
- ✓ Le deuxième chapitre comprend le matériel et les méthodes utilisés où sont décrit le médicament à étudier et les protocoles expérimentaux utilisés.
- ✓ Le troisième chapitre traitera l'ensemble des résultats obtenus.

Notre travail s'achèvera par une conclusion générale.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Introduction

L'industrie pharmaceutique est un secteur industriel chargé de la fabrication, du contrôle qualités, du conditionnement et de la commercialisation des médicaments qui possèdent des effets curatifs ou préventifs vis-à-vis aux maladies humaine ou animales, parmi ces médicaments en trouve les corticoïdes, qu'ils sont connus depuis les années 1948 **[1].**

La découverte de la cortisone a constitué unprogrès thérapeutique important notamment dans les maladies inflammatoireschroniques comme la polyarthrite rhumatoïde.

Le corticoïde le plus puissant est la DEXAMETHASONE (propriété inflammatoire 25 fois celle du cortisol naturel) elle se trouve sous plusieurs formes pharmaceutique (comprimés, gélules, crèmes, forme injectables…) **[2].**

Dans notre étude on s'intéresse par la DEXAMETHASONE phosphate sodique solution injectable.

I. Généralité sur les médicaments

1. Définition d'un médicament

Un médicament est toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives, utilisable chez l'homme ou chez l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques enexerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique **[3].**

Le médicament est un produit de consommation spéciale, il doit démontrer une efficacité, ne pas être (trop) toxique et avoir un intérêt en santé publique.

2. Un médicamentprinceps

On appelle princeps, ou spécialité de référence, le médicament d'origine qui sert de modèle aux médicaments génériques, il est préparé à l'avance, présenté sous un conditionnement particulier, caractérisé par une dénomination spéciale attribué par une société à des fins publicitaires et vendu dans plus d'une officine, il est toujours protégé par un brevet **[4].**

3. Un medicament générique

« Le médicament générique est une notion très encadrée : c'est une copie d'un médicament original, mais pas nécessairement une copie strictement identique. Il doit avoir la même composition qualitative (la même molécule) et quantitative en principe (s) actif (s), la même forme pharmaceutique (à noter, les comprimés et les gélules à action immédiate sont

considérés comme une même forme pharmaceutique) que la spécialité de référence (encore appelée médicament original ou princeps) et démontrer sa bioéquivalence avec cette dernière, c'est-à-dire démontrer qu'il se comporte de la même manière dans l'organisme » **[5].**

4. Les voix d'administrations et les formes pharmaceutique

On appelle une voie d'administration, la façon dont le médicament est administré au malade, elle définit le mode d'acheminement du principe actif à son lieu d'action.

Le choix d'une voie d'administration d'un médicament est fait lors de leur conception, il dépend :

- ✓ De la biodisponibilité du principe actif.
- ✓ De la vitesse d'action désirée, de la durée du traitement et du nombre de prises par jour.
- ✓ Du type de malade, c'est-à-dire de son âge (nourrisson, enfant, adulte, vieillard) et aussi de sa situation (debout ou alité, à domicile ou hospitalisé, traitement ambulatoire ou non) **[6].**

4.1.La voiegénérale [7, 8]

Dans la voie générale ou voie systémique, le principe actif (PA) emprunte la circulation sanguine pour atteindre son site d'action, il regroupe les voies suivantes :

4.1.1. La voie parentérale ou voie injectable

C'est la voie la plus rapide car elle met directement en contact le médicament avec le sang ou les liquides interstitiels et évite le tractus digestif.

Les médicaments administrés par voie parentérale sont les préparations injectables liquides (solutions, émulsions, suspensions) ou solides (implants)**.**

La voie parentérale regroupe tout mode d'administration de médicaments par effraction de la peau.

On distingue:

- ✓ La voie intraveineuse (IV)
- ✓ La voie intramusculaire (IM)
- ✓ La voie sous-cutanée (SC)
- ✓ D'autres voies moins fréquemment utilisées : intradermique, intra-artérielle, intrarachidienne...

Les avantages de cette voie sont :

- ✓ L'effet rapide, surtout après administration intraveineuse.
- ✓ Le passage immédiat dans l'organisme.
- ✓ L'absence de destruction par les enzymes du tube digestif.
- ✓ L'injection au lieu désiré.

Les inconvénients de cette voie sont :

- ✓ L'injection est parfois douloureuse et peut entraîner un risque d'infection.
- ✓ Les difficultés en cas d'injection répétée, car le nombre de points d'injection est limité.
- ✓ Seuls les médicaments liquides peuvent être injectés.
- ✓ L'impossibilité d'injecter des produits irritants pouvant léser la veine.
- ✓ La durée d'action médicamenteuse est généralement courte, surtout après administration intraveineuse. Pour la voie parentérale on distingue : la voie intraveineuse, la voie intramusculaire, la voie sous cutanée, les voies intrarachidienne et épidurale**.**

4.1.1. La voie entérale

La voie entérale ou digestive se fait par l'intermédiaire du tube digestif comprend : la voie perlinguale, la voie orale, la voie rectale.

Les médicaments administrés par voie entérale sont :

- ✓ Les petits comprimés, les solutions aqueuses ou alcooliques, et les granulés sont destinés à la voie perlinguale.
- ✓ Les comprimés, les gélules, les solutions ou suspensions aqueuses sont destinés à la voie orale.
- ✓ Les suppositoires sont destinés à la voie rectale**.**

4.1.2. Autres voies de la voie générale

On distingue :

- ✓ La voie pulmonaire qui est utilisée pour faire absorber les médicaments sous forme gazeuse ou volatile
- ✓ La voie nasale qui est utilisée pour traiter localement les affections de la sphère nasale, les formes pharmaceutiques utilisées sont les poudres, les pommades, les solutions.
- ✓ La voie percutanée qui est utilisée pour une pénétration percutanée d'un médicament qui se fait au niveau de l'appareil pilo-sébacé et dépend de plusieurs facteurs, elle est favorisée par les massages et les frictions.

La voie générale permet par ses différents abords, de répondre à tous les impératifs thérapeutiques (urgence et traitement de fond) avec la meilleure observance possible.

L'inconvénient essentiel est la diffusion dans tout l'organisme du PA pouvant entraîner l'apparition d'effets indésirables dus à l'action pharmacologique sur des cibles non souhaitées.

4.2. La voie locale

Le médicament, directement appliqué sur son lieu d'action, exerce son effet pharmacologique sur le site précis de l'affection.

Le but de la voie locale est de limiter la diffusion du PA à partir de son lieu d'administration permettant un minimum d'effets indésirables.

Les principales formes pharmaceutiques et voies locales utilisées sont les suivantes :

- ✓ Les pommades, les crèmes, les gels, les lotions et les dispositifs transdermiques sont destinée à la voie cutanée.
- ✓ Les liquides pour nébuliseurs, les inhalateurs pressurisés à valve doseuse Solutionset les inhalateurs de poudre sèche sont destinée à la voie nasale et respiratoire.
- ✓ Les collyres, les pommades ophtalmiques et les solutions pour lavage ophtalmique sont destinée à la voie oculaire.
- ✓ Les ovules et les capsules vaginales sont destinés à la voie vaginale.

En théorie, la voie locale présente plus d'avantages que d'inconvénients, car le PA directement en contact avec son lieu d'action, exerce moins d'effets indésirables.

En pratique, peu d'affections tirent bénéfice d'une thérapeutique locale exclusive **[7, 8].**

5. Les préparationsinjectables

5.1. Définition

« Les préparations injectables : solutions, émulsions ou dispersions de principes actifs dans de l'eau ou un liquide non aqueux, ou un mélange des deux.

Les préparations injectables sont en général unidoseset le volume du contenu doit être tel qu'il permette le prélèvement de la dose nominale par une technique normale. Lorsqu'il est nécessaire de présenter une préparation parentérale dans des récipients multi dosesils doivent contenir un ou plusieurs conservateurs antimicrobiens, dont l'efficacité doit être démontrée, choisis de manière à couvrir un large spectre antimicrobien, à moins que la préparation ait des propriétés antimicrobiennes adéquates.

Les précautions à prendre pour l'administration et pour la conservation entre les prélèvements doivent être précisées. » **[6].**

5.2. Les propriétés des preparations injectables

« Les préparations injectables étant destinées à franchir à la suite d'une effraction les barrières protectrices que constituent la peau et les muqueuses, doivent répondre à un certain nombre d'exigences.

Les principaux contrôles concernant la limpidité pour les solutions, le pH qui doit être aussi voisin que possible de la neutralité, la pression osmotique qui doit se rapprocher de celle du plasma, la recherche des substances pyrogènes et enfin la stérilité qui concerne toutes les préparations parentérales.

Ces exigences ne s'appliquent pas intégralement aux produits dérivés du sang humain, aux préparations immunologiques et aux préparations radio pharmaceutiques. » **[6].**

II. Qualités des médicaments

1. Les bonnespratiques de fabrication

« Les bonnes pratiques de fabrication des médicaments constituent un des éléments de la gestion de la qualité qui garantit que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon cohérente, selon les normes de qualité adaptées à leur usage et requises par l'autorisation de mise sur le marché, l'autorisation d'essai clinique ou les spécifications du produit. Les bonnes pratiques de fabrication s'appliquent à la fois à la production et au contrôle de la qualité » **[9].**

2. Les bonnespratiques de laboratoire

« Les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) forment un système de garantie de qualité portant sur le mode d'organisation des études de sécurité non cliniques ayant trait à la santé et à l'environnement et sur les conditions dans lesquelles ces études sont planifiées, réalisées, contrôlées, enregistrées, archivées et diffusées » **[10].**

Contrôle de la qualité :

« Le contrôle de la qualité fait partie des bonnes pratiques de fabrication ; il concerne l'échantillonnage, les spécifications et le contrôle, ainsi que les procédures d'organisation, de documentation et de libération qui garantissent que les analyses nécessaires et appropriées sont réellement effectuées et que les matières premières, les articles de conditionnement et les produits ne sont pas libérés pour l'utilisation, pour la vente ou l'approvisionnement, sans que leur qualité n'ait été jugée satisfaisante. » **[11].**

Les différents types de contrôle de la qualité :

2.1. Contrôle physico-chimique

« La conformité du médicament aux normes et sa validité sont examinées par plusieurs méthodes analytiques qualitatives et quantitatives, telles que les dosages volumétriques, les dosages par spectrophotométrie UV/visible et l'analyse par différentes méthodes chromatographiques en l'occurrence, la technique de chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la spectrophotométrie infrarouge…etc. » **[9].**

« Il aura pour rôle de vérifier la structure de la molécule et d'établir les propriétés physiques et chimiques. Il a pour but ainsi de vérifier de la substance annoncée (analyses qualitatives, réaction d'identification les plus sélectives possibles) et s'assurer de son bon usage » **[3].**

2.2. Contrôle microbiologique

« Les contrôles microbiologiques doivent permettre de garantir une bonne qualité hygiénique et marchande du produit fabriqué, et minimisent les pertes dues aux mauvaises conditions de fabrication. » **[3].**

« Les essais microbiologiques ont été conçus pour le dénombrement des bactéries mésophiles, des moisissures et des levures capables de croître en aérobiose. Ces essais sont en premier lieu destinés à déterminer, si un produit faisant l'objet d'une monographie de la pharmacopée satisfait aux exigences microbiologiques spécifiées dans cette monographie. Le choix de la méthode est déterminé par des facteurs, tels que la nature du produit et le nombre de microorganismes présumé. Quelle que soit la méthode choisie, elle doit être convenablement validée » **[9].**

2.3. Contrôle toxicologique

« Les molécules destinées à la thérapeutique humaine doivent subir avant tout essai clinique des tests de toxicité aiguë et chronique sur les animaux ».

« Les études toxicologiques permettent d'éliminer de très nombreuses molécules dont les risques outrepassent les avantages » **[3].**

III. La corticothérapie

1. L'inflammation et action des anti-inflammatoire

1.1. Définition de l'inflammation

L'inflammation est un phénomène biologique complexe dont la finalité est la défense non spécifique des tissus contre l'agression d'éléments étrangers. Elle intervient de façon

physiologique et transitoire, sous forme d'inflammation aigue, dans la défense de l'organisme contre les agressions locales comme les infections ou les traumatismes (piqûres, chocs…) (figure I.1).

L'inflammation s'exprime aussi de façon pathologique dans des affections inflammatoires chroniques au premier rang desquels se trouvent les maladies rhumatismales inflammatoires (par exemple la polnbyarthrite rhumatoïde) **[12].**



Figure 1: les signes cardinaux de la réaction inflammatoire [13]

1.2. La reaction inflammatoire

La réaction inflammatoire (figure I.2) ou inflammation est une réaction naturelle des tissus vivants à une agression.

L'inflammation est un processus habituellement bénéfique dont le but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les tissus lésés, par fois la réaction inflammatoire peut être exagéré ou néfaste on parle d'inflammation chronique qui est un phénomène pathologique, le rôle des anti-inflammatoire va être de lutter contre ces effets délétères.

La réaction inflammatoire fait intervenir un grand nombre de médiateurs présent dans le sang et les tissus, comme les prostaglandines ou les cytokines, parmi ces médiateurs participant à la réaction inflammatoire, les prostaglandines qui ont un rôle majeur au cours d'une réaction inflammatoire, la synthèse des prostaglandines est stimuler et se fait en deux étapes :

1- Les phospholipides des membranes cellulaires sont hydrolysés par une enzyme la phospholipase A2 en acide arachidonique.

2- L'acidearachidonique est métabolisé en prostaglandines inflammatoire par une autre famille d'enzyme qui sont les cyclo-oxygénases.

Ces prostaglandines inflammatoires ont une action purement locale et ils sont responsables de la douleur de la fièvre et de l'inflammation **[14].**

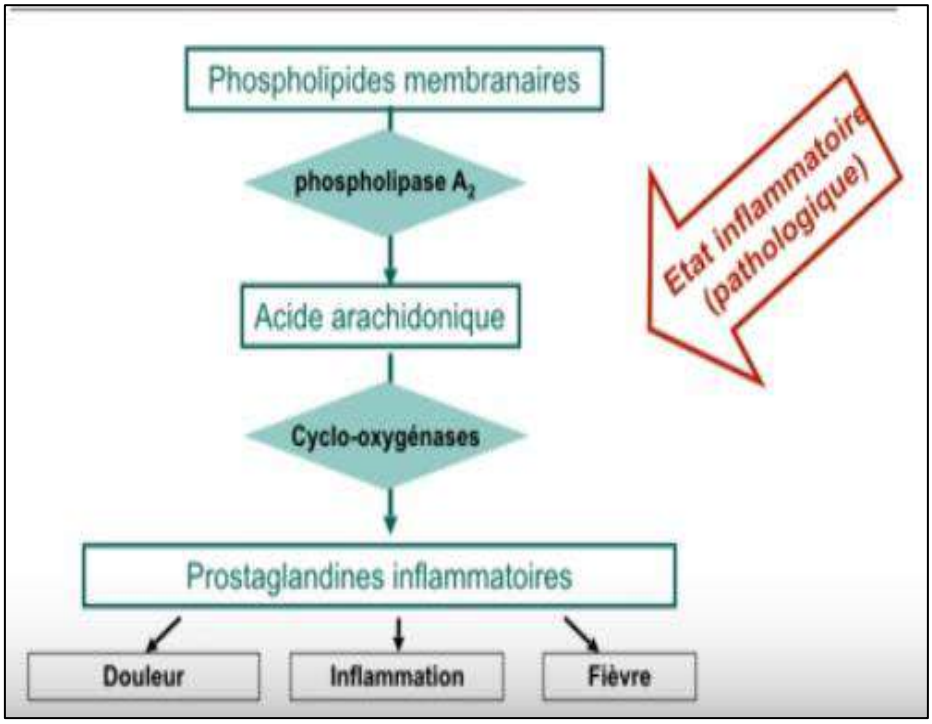


Figure 2: schéma qui résume la réaction inflammatoire [14].

1.3. Les anti-inflammatoire

La réaction inflammatoire est donc un processus naturel mais qui peux être exacerbées dans certain pathologie, les médiateurs principaux de cette réaction sont les prostaglandines qui sont synthétisés au site de l'inflammation.

Les médicaments anti-inflammatoires ont pour but de lutter contre la réaction inflammatoire (anti-inflammatoires stéroïdien et anti-inflammatoires non stéroïdien) [14].

1.4. L'action des médicaments anti-inflammatoires :

La réaction inflammatoire aiguë peut produire des effets gênants (douleur, gonflement, fièvre) voire délétères pour certains organes si elle se prolonge plusieurs jours, il peut être nécessaire d'utiliser des médicaments qui limitent cette réaction inflammatoire sans pour autant limiter le déclenchement des réactions immunitaires détruisant les pathogènes, il s'agit

des médicaments anti-inflammatoires comme par les corticoïdes (la DEXAMETHASONE par exemple) ou les anti-inflammatoires non stéroïdiens (comme l'aspirine ou l'ibuprofène).

Les anti-inflammatoires agissent en inhibant la synthèse des médiateurs chimiques de l'inflammation. Ces molécules ont également une action antalgique, qui diminue la sensation de douleur et certains anti-inflammatoires font également baisser la fièvre **[14].**

2. Les anti-inflammatoires stéroïdiens

2.1. Définition

Les anti-inflammatoires stéroïdiens, aussi appelés corticoïdes ou corticostéroïdes ou glandes corticosurrénales(GCs), voire communément cortisone sont des hormones stéroïdes naturelles bio-synthétisées par les glandes corticosurrénales.

Par extension, on inclut dans cette famille les stéroïdes de synthèse apparentés à ces molécules naturelles et possédant tout ou une partie de leurs propriétés biologiques.

L'usage réserve l'appellation « corticoïdes » aux seuls GCs, et exclus de ce groupe les hormones minéralocorticoïde et androgènes, sécrétées par ces mêmes glandes surrénales.

Pour résumer, un GC ou corticoïde est un stéroïde naturel ou synthétique susceptible d'exercer une activité métabolique et mimant qualitativement l'activité du cortisol, hormone GC physiologique qui est nécessaire à la vie et sert à faire face aux situations de stress (hormone de stress) **[15].**

2.2.Corticoïdes naturels et stéroïdes de synthèse

2.2.1. Les corticoids naturels

Le cortisol(ou hydrocortisone, figure 3), considéré comme la véritable hormone GC de l'espèce humaine, la cortisone et la corticostérone sont les corticoïdes physiologiques.

Ces hormones sont sécrétées par les glandes surrénales et leur synthèse est placée sous le contrôle de l'axe hypothalamo-hypophyso-Cortico-surrénalien **[15].**

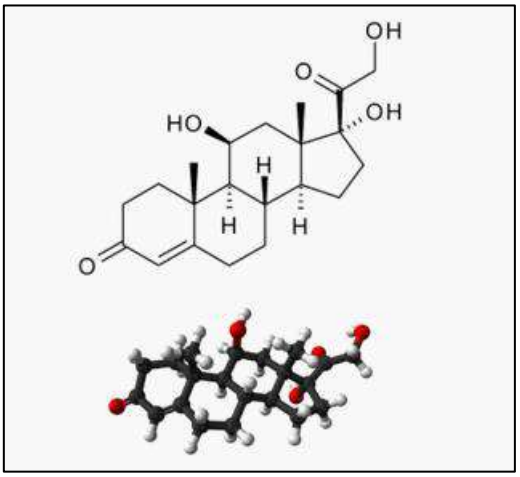


Figure 3 : Représentation moléculaire du cortisol $C_{21}H_{30}O_5$ [16].

2.2.1.1.Les glandes surrénales

Ainsi désignée en raison de sa situation anatomique au-dessus du rein, la glande surrénale (figure I.4) a la forme d'une pyramide un peu irrégulière, les glandes surrénales sont composées de deux unités :

- ✓ La glande interne, la médulla ou médullosurrénale, sécrète des catécholamines : l'adrénaline (AD) et la noradrénaline (NAD).
- ✓ La glande externe, le cortex ou corticosurrénale, sécrète les corticoïdes et les stéroïdes sexuels, le cortex surrénal se compose de trois couches, respectivement en commençant par la partie externe : la zone glomérulée, la zone fasciculée et la zone réticulée.

L'ensemble des hormones sécrétées par le cortex surrénal est synthétisé à partir du cholestérol (figure 5), selon une séquence de réactions catalysées par des enzymes initiées par l'ACTH (AdrenoCorticoTropicHormone) **[17].**

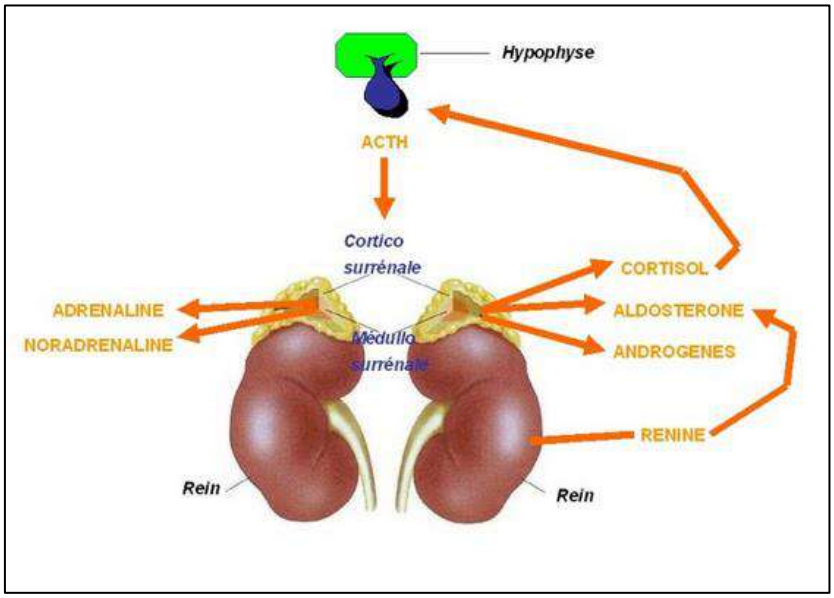


Figure 4: le fonctionnement des glandes surrénales [18].

Cholestérol

↓

Prégnénolone → 17-hydrox Prégnénolone

↓ ↓

Progestérone → 17-hydrox progestérone

↓

11-désoxycortisol

↓

CORTISOL

Figure 5 : Synthèse du cortisol à partir du cholestérol [19].

2.2.1.2.L'axe hypothalamo-hypophyso-Cortico-surrénalien

La régulation de la synthèse de ces hormones se fait sous l'influence de l'axe hypothalamo-hypophyso-Cortico-surrénalien. En effet, la corticolibérine ou CRH (Corticotropin Releasing Hormone) synthétisée au niveau de l'hypothalamus, influence l'antéhypophyse sécrétant l'ACTH, appelée aussi Corticotrophine.

Cette ACTH stimule la biosynthèse et la sécrétion des hormones cortico surrénaliennes. Elle exerce un effet trophique sur les zones fasciculées et réticulées, dont la capacité sécrétoire est maintenue à long terme et la sécrétion stimulée à court terme. Son rythme de

sécrétion est circadien, avec un taux plasmatique maximal entre 5 et 8 heures du matin et minimal à minuit, responsable du cycle de sécrétion parallèle du cortisol.

De plus, l'aldostérone est sous l'influence de deux autres mécanismes : la stimulation par le système rénine-angiotensine II et par l'augmentation de la kaliémie.

La modulation de l'activité sécrétoire du système hypothalamo-hypophysaire se fait, d'une part par un rétrocontrôle négatif du cortisol circulant libre (= cortisolémie), dont la baisse stimule la sécrétion d'ACTH et dont l'élévation la freine et, d'autre part, par des afférentes du système nerveux intégrées au niveau hypothalamique. Ainsi, l'hypoglycémie, le stress, les traumatismes, les anesthésies générales, par exemple, stimulent la sécrétion d'ACTH. La CRH, quant à elle, est soumise à un rétro contrôle court de l'ACTH et par la cortisolémie **[15].**

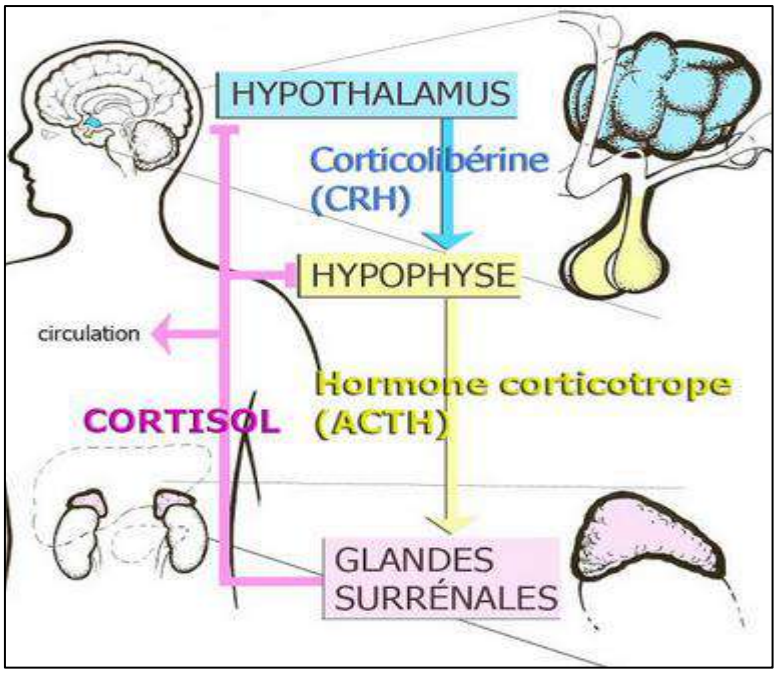


Figure 6: Axehypothalamo-hypophyso-surrénalien [16].

2.2.1.3.Rythme circadien et rôle physiologique du cortisol

On parlera ici seulement du cortisol, principale hormone GC. Sa production moyenne est 15 à 30 mg, soit environ 55 µmol/j chez l'homme et 44 µmol/j chez la femme.

Sa sécrétion est répartie selon un rythme circadien qui n'est que la conséquence de celui de l'ACTH : c'est donc le matin à 8h00 où la cortisolémie est la plus importante, de l'ordre de 15 µg/100ml. On estime à 5 -10 % la quantité de forme active. Le reste étant lié aux protéines plasmatiques.

Parmi les nombreux effets physiologiques du cortisol, on citera son rôle dans le maintien de l'homéostasie métabolique et énergétique ; en réponse à un stress, il permet la mobilisation rapide des glucides, des lipides et des protéines. Il intervient également dans l'équilibre hydro-électrolytique et influence de nombreuses fonctions de l'organisme notamment musculaires, cardiovasculaires, rénales et cérébrales. Ses propriétés sont à l'origine des effets indésirables lors d'une corticothérapie prolongée.

2.2.2. Les stéroïdes de synthèse

Les GCs de synthèse sont des dérivés de corticoïdes naturels, ils ont une durée d'action plus longue, une activité anti-inflammatoire plus importante et des propriétés minéralocorticoïde moindres que la molécule mère afin d'éviter ou d'atténuer tous leurs effets indésirables **[15].**

2.2.2.1.Principales molécules

Les GCs présentent tous une homogénéité de structure (figure I.7), avec sur le noyau pregnane, des fonctions indispensables à l'activité biologique et des fonctions modulant cette activité **[17].**

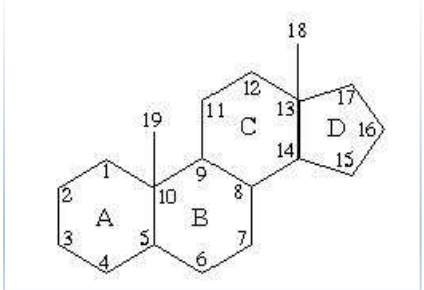


Figure 7: Molécule de glucocorticoïdes [17].

2.2.2.2.Mode d'utilisation des corticoïdes

L'effet désiré ne correspondant pas à des taux plasmatiques codifiés, la dose choisie dépend donc essentiellement de la sévérité de la maladie et des habitudes du thérapeute.

On parlede:

- ✓ Posologie forte : 1mg/ kg/j.
- ✓ Posologie moyenne : 0,5mg/kg/j.
- ✓ Posologie faible : 0,1mg/kg/j.

En pratique il est préférable de débuter par de fortes posologies (action immunodépressive), puis de réduire les doses lorsque l'inflammation est maîtrisée, plutôt que de sous-estimer la posologie initiale **[20].**

Il ne faut pas interrompre un traitement corticoïde brutalement pour deux raisons :

- ✓ Cela favorise les rechutes de la maladie.
- ✓ Il existe un risque dû au sevrage des corticoïdes **[21].**

2.3.Pharmacologie des corticoïdes

2.3.1. Pharmacocinétique

La pharmacocinétique d'un GC dépend de sa résorption, de sa distribution, de sa métabolisation et de son élimination, il existe de grandes variations individuelles dans la sensibilité aux corticoïdes. Elles peuvent être liée sà :

- ✓ Des changements dans la structure de la molécule.
- ✓ L'existence d'interactions médicamenteuses.
- ✓ Des pathologies particulières.
- ✓ Des facteurs physiologiques **[22].**

2.3.1.1. La résorption

Pour les voies IV ou IM, on utilise des esters des différents stéroïdes. Ils sont particulièrement solubles et conviennent donc à la voie IV. Après injection IM, certaines préparations ont des cinétiques d'absorption particulières.

Les acétates sont peu solubles, ils sont résorbés lentement et leur taux plasmatique peut persister à des taux élevés pendant plusieurs semaines **[22].**

2.3.1.2.La distribution

Dans le sang, 96% du cortisol circulant est fixé aux protéines plasmatiques. La liaison estassurée par deuxprotéines:

- ✓ Une protéine de liaison spécifique la Transcortine ou Corticostéroid Binding Globulin (CBG), un alpha globuline qui possède une grande affinité pour lier le cortisol.
- ✓ L'albumine.

Les corticoïdes naturels sont davantage fixés aux protéines plasmatiques que les composés artificiels d'où leur moindre diffusion tissulaire et leur plus faible activité biologique. Seules les formes libres non liées sont biologiquement actives.

A partir du sang, la diffusion des corticoïdes est large (V_d : 1 à 3 L/kg) et homogène dans tous les tissus sans accumulation préférentielle. En regard de leur caractère liposoluble et neutre, leur pénétration intracellulaire est bonne pour une action sur des récepteurs nucléaires. Ils se fixent intensément sur les tissus et se concentrent dans les cellules d'où leur activité biologique au-delà de leur présence dans le sang. Ceci explique les discordances entre les ½

vies plasmatiques et la durée de leurs effets biologiques beaucoup plus longue pour tous les corticoïdes.

Les ½ vies plasmatiques varient de 90 à 300 mn, alors que la durée d'action varie de 12 à 96 h selon les composés **[23].**

2.3.1.3.La métabolisation

Le métabolisme des GCs de synthèse est essentiellement hépatique : 70 % des GCs sont métabolisé au niveau du foie.

Il en est de même pour La métabolisation consiste en une réduction de la double liaison 4-5, ce qui conduit à la formation d'un métabolite inactif : cette étape peut se dérouler au niveau du foie, ou dans un site extra-hépatique.

La plupart des GCs sont actifs sans transformation **[22].**

2.3.1.4.L'élimination

L'élimination se fait par les voies rénale et biliaire sous forme inchangée et sous forme de métabolites.

2.3.2. Les demi-vies plasmatiques et demi-vie biologique

Il convient de différencier la demi-vie plasmatique, temps au bout duquel la concentration plasmatique a diminuée de moitié, de la demi-vie biologique, traduite par exemple par la durée de l'inhibition de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.

La notion de demi-vie plasmatique est importante à considérer mais ne représente qu'un des éléments pouvant expliquer les différences d'effets pharmacologiques des GCs.

En effet, la durée de l'effet dépasse la durée attendue en fonction de la demi-vie plasmatique **[23].**

2.3.3. Activitépharmacologiques des corticoïdes

2.3.3.1.Action sur le métabolisme énergétique

- **Métabolisme glucidique**

Les GCs favorisent la synthèse de glycogène à partir du glucose et du lactate (la glycogénogenèse), mais aussi à partir de composés non glucidiques comme le glycérol, les acides aminés (néoglucogenèse). Cette mise en réserve du glucose est induite par l'activation des GCs sur diverses enzymes hépatiques intervenant dans ces transformations. De plus, les GCs vont inhiber la sécrétion d'insuline, diminuer l'activité de son récepteur et augmenter la sécrétion de glucagon.

- **Métabolisme lipidique**

Les GCs augmentent la lipolyse et inhibent la synthèse des acides gras à longue chaîne. Cela entraine la libération dans le sang d'acides gras libres et de glycérol lequel sera utilisé dans la néoglucogenèse.

- **Métabolisme protéique**

Les GCs vont réduire la synthèse protéique en intervenant dans deux processus. Ils vont diminuer l'incorporation des acides aminés circulants dans les muscles limitant ainsi la synthèse musculaire et vont augmenter la libération de ces acides aminés des tissus. Les acides aminés circulants vont alors être mobilisés vers le foie pour servir à la néoglucogenèse **[24].**

2.3.3.2.Action antiallergique

Lors d'une réaction allergique, l'élément allergène entraîne l'augmentation immunoglobuline E(IgE), anticorps produit par les lymphocytes B, qui va déclencher une cascade de réactions inflammatoires. Cette dernière a pour conséquence finale de libérer dans le sang de l'histamine et autres médiateurs.

Les GCs vont agir de manière très précoce en inhibant le déclencheur de cette cascade de réactions (scission du phosphatidylinositoldiphosphate) et bloquer ainsi le relargage des médiateurs **[24].**

2.3.3.3.Activité anti-inflammatoire

- ✓ Les corticoïdes inhibent (figure I.8) la phospholipase A2 et bloquent ainsi la libération de l'acide arachidonique à partir des fractions phospholipidiques des membranes cellulaires.
- ✓ La synthèse des prostaglandines et des leucotriènes est alors interrompue.
- ✓ Les médiateurs de l'inflammation sont : les prostaglandines et les leucotriènes.

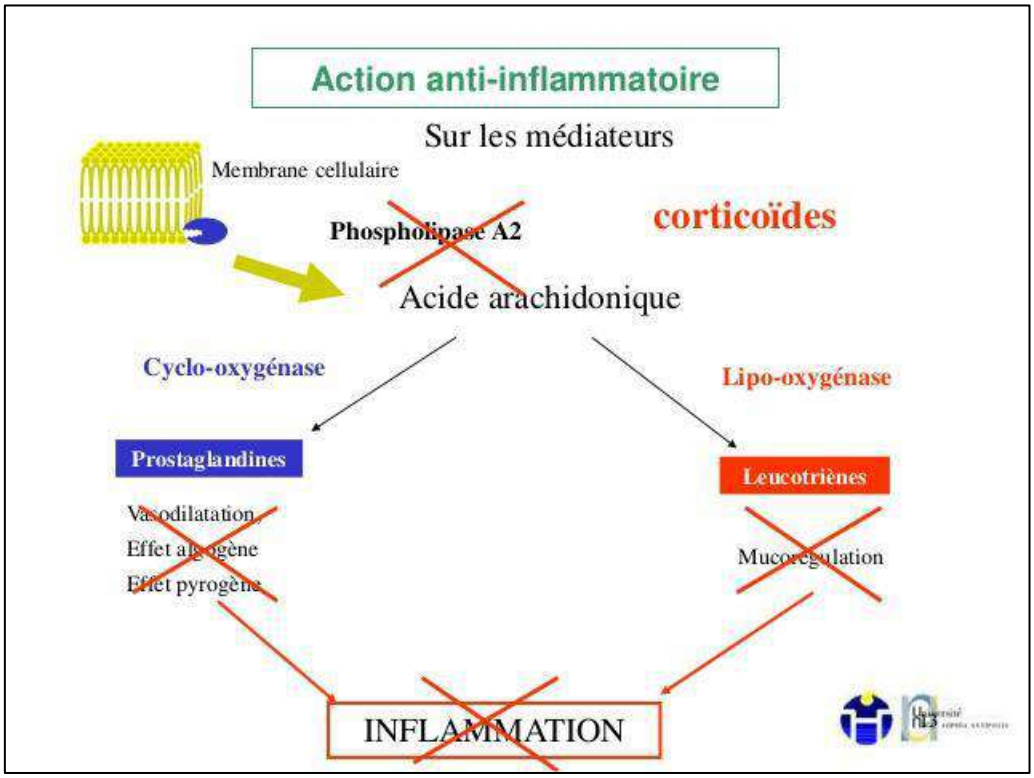


Figure 8 : Inhibition des médiateurs de l'inflammation par les corticoïdes [24].

2.3.3.4. Action immunosuppressive

Les GCs vont intervenir dans les trois étapes successives de la réponse immunitaire, ils vont tout d'abord inhiber la reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes B et les macrophages, étape qui active la libération de lymphocytes T spécifiques.

Ensuite, ils vont perturber l'amplification de la réponse immunitaire, en bloquant la multiplication et l'activation lymphocytaire contre cet antigène. Les GCs vont également avoir un impact indirect sur cette deuxième étape par inhibition de la synthèse ou de l'activité du système des interleukines, responsable de l'activation des cellules immunocompétentes.

Enfin, ils vont inhiber la destruction des agents pathogènes en diminuant notamment le processus de phagocytose et la production de radicaux libres oxygénés **[24].**

2.3.3.5. Action sur le calcium

Les GCs sont impliqués dans la perte osseuse, par un effet direct sur les ostéoblastes responsables de la formation osseuse et indirect sur les ostéoclastes chargés de la résorption osseuse. Ils diminuent la prolifération des précurseurs ostéoblastiques et l'activité des ostéoblastes, avec une baisse de production de collagène.

De plus, les GCs diminuent l'absorption intestinale du calcium qui joue un rôle prépondérant dans la formation osseuse et diminuent également sa réabsorption tubulaire au niveau rénal, ce qui entraîne un bilan calcique négatif et une hyper calciurie **[17].**

2.4.Etudes thérapeutique

2.4.1. Principales indications thérapeutiques

Les corticoïdes constituent une classe dont les actions pharmacologiques sont très variées ils sont principalement utilisés pour l'inflammation, la douleur, l'insuffisance surrénaliennes et certaines maladies du système, ce qui fait qu'ils ont de nombreux emplois en thérapeutique, dans des domaines aussi divers que :

- ✓ La maladie d'Addison et les insuffisances surrénaliennes
- ✓ Les maladies rhumatismales : on les utilise avec succès dans toutes les maladies où l'on observe une réaction inflammatoire articulaire aigue ou RAA, polyarthrite rhumatoïde. Les corticoïdes sont parmi les anti-inflammatoires les plus puissants.
- ✓ Les collagénoses : lupus érythémateux, périarthrite noueuse.
- ✓ Les allergies : asthme, eczéma, etc.
- ✓ Les hémopathies : la cortisone est employée dans le traitement des leucoses aigues et chroniques et dans la maladie de Hodgkin.
- ✓ En cancérologie, on administre également des corticoïdes.
- ✓ Les états septicémiques, les méningites purulentes, la tuberculose, les hépatites virales, sont aussi justiciables des corticoïdes.
- ✓ ORL : otites séreuses **[25].**

2.4.2. Effets indésirables

Les effets secondaires des corticoïdes sont relativement fréquents et ce d'autant plus que le traitement est maintenu longtemps, à des posologies élevées. Certains effets secondaires, comme les modifications du visage ou de la silhouette sont plus gênants que graves (arrondissement du faciès, augmentation du duvet ou de la pilosité) ; d'autres, comme les atteintes osseuses, la cataracte ou le retard de croissance chez l'enfant peuvent être plus sévères et justifient une surveillance particulière et une modification du traitement en cas d'apparition.

- ✓ Modifications de l'apparence et de la peau, acné, vergetures, fragilité de la peau avec des ecchymoses, mauvaises cicatrisation des plaies.
- ✓ Prise de poids, arrondissement du visage et apparition d'un bourrelet de graisse a la nuque.

- ✓ Déminéralisation osseuse (ostéoporose), pouvant se compliquer, après plusieurs années, de fractures ou tassements vertébraux, ostéonécrose : destruction osseuse, en général au voisinage d'une articulation, retard de croissance ou de maturation de l'os chez l'enfant.
- ✓ Cataracte, glaucome.
- ✓ Nervosité, insomnie, irritabilité, euphorie, boulimie, délire, hallucinations (très rare).
- ✓ Diabète.
- ✓ Hypertension artérielle.
- ✓ Fréquence accrue des infections notamment : Candidose, Zona, Herpès.

Insuffisance de la glande surrénale a l'arrêt du traitement **[24].**

2.4.3. Contres indications

Peu d'entre elles sont incontournables et il n'existe pratiquement pas de contre-indications absolues à une corticothérapie d'indication vitale.

Lorsqu'elle est indispensable, elle est toujours utilisable mais son maniement peut être plus difficile et les indications doivent faire l'objet d'une réflexion approfondie.

- **L'ulcère gastroduodénal en poussée**

Cependant il n'existe pas de preuve formelle d'un risque augmenté d'ulcération gastrique sous corticothérapie.

- **Les infections**

Elles représentent une contre-indication quand elles ne sont pas contrôlées par un traitement spécifique, en particulier pour certaines viroses en évolution, notamment l'herpès ou le zona.

D'une façon générale, les infections bien contrôlées par un traitement adapté ne constituent pas une contre-indication absolue à une corticothérapie.

La corticothérapie à forte dose constitue une contre-indication à l'utilisation de vaccin vivant.

- **Le diabète**

L'existence d'un diabète connu ne contre-indique pas une corticothérapie si elle est nécessaire, il faut savoir qu'un traitement par GCs est responsable, chez les diabétiques insulinodépendants, d'un déséquilibre glycémique nécessitant une augmentation des doses d'insuline.

Chez les patients traités, par des hypoglycémiants oraux, le passage à l'insuline est parfois nécessaire en fonction de l'évolution et la surveillance biologique doit être renforcée pendant la durée de la corticothérapie.

- **L'hypertension artérielle**

L'activité minéralocorticoïde des stéroïdes peut conduire à une rétention hydro sodée avec HTA associée, cependant, bien équilibré par un traitement adapté, l'hypertendu peut recevoir une corticothérapie **[22].**

2.4.4. Interactions médicamenteuses

2.4.4.1. Associations déconseillées

Du fait de l'induction d'une hypokaliémie, les corticoïdes sont tous susceptibles de majorer le risque de survenue de torsades de pointes en association avec des produits torsadogènes **[19].**

2.4.4.2.Associations nécessitant des précautions d'emploi

- ✓ En relation avec l'effet hypokaliémiants : diurétiques, laxatifs, majoration de la toxicité des glycosides cardiotoniques.
- ✓ En relation avec les effets hyperglycémiants : Insuline, hypoglycémiants oraux.
- ✓ En relation avec le risque hémorragique de la corticothérapie : Héparine et anticoagulants oraux.
- ✓ Réduction d'efficacité des corticoïdes par les inducteurs enzymatiques hépatiques : Barbituriques, antiépileptiques (Carbamazépine, Phénytoïne), Rifampicine **[19].**

3. La DEXAMETHASONE

3.1.Définition

La DEXAMETHASONE est un stéroïde synthétique disponible sous plusieurs formes, il peutêtre pris en injection, en administration locale sous forme de gel ou de crème, par voie buccale, En pulvérisation nasale en solutions pour soigner les infections de l'œil, ou en pulvérisation pulmonaire.

Dans notre mémoire on s'intéresse par la DEXAMETHASONE, solution injectable 4mg/ml.



Figure 9: dexamethasone solution injectable [26].

3.2.Le nom chimique

9-fluoro-11β, 17,21-trihydroxy-16a-méthylprégna-1,4-diène-3,20-dione **[27].**

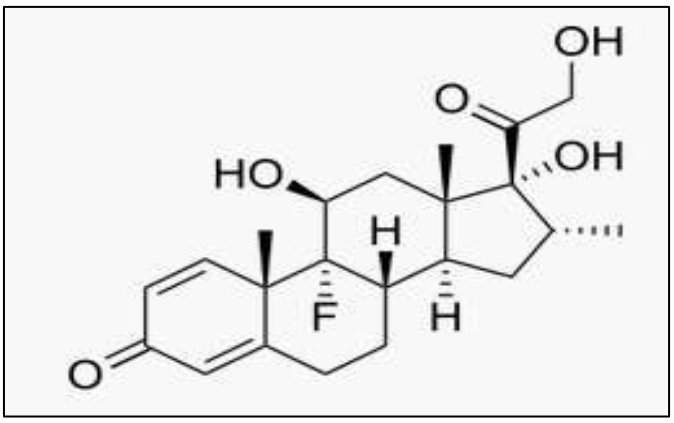


Figure 10: la structure chimique de la DEXAMETHASONE [27].

3.3.Propriétéschimiques [27]

Formule brute : $C_{22}H_{29}FO_5$

Masse molaire : 392,4611 ± 0,0211 g/mol

C 67,33 %, H 7,45 %, F 4,84 %, O 20,38 %,

3.4.Classe pharmaco-thérapeutique

Corticoïdes à usage systémique non associes **[28].**

3.5.Pharmacodynamie

La DEXAMETHASONE est utilisés principalement pour son effet anti-inflammatoire. A forte dose, ils diminuent la réponse immunitaire **[24].**

3.6.Pharmacocinétique

- ✓ La demi-vie plasmatique est supérieure à 300 minutes et
- ✓ La demi-vie biologique est estimée entre 36 et 54 heures.
- ✓ Le métabolisme se fait par voie rénale **[24].**

3.7.Mode d'action

La DEXAMETHASONE est un corticoïde synthétique, autrement dit, il est composé d'hormones produites chimiquement qui sont très semblables au cortisol, naturellement sécrété par les glandes surrénales (au-dessus du rein). Lorsque la DEXAMETHASONE est administrée à un patient, elle agit sur l'organisme en

empêchant lesglobules blancs d'attaquer le tissu sain, ce qui diminue l'inflammation. Dans le détail, elle estcapable de se fixer sur des récepteurs présents sur un certain nombre de protéine impliquée dans la réaction inflammatoire et de moduler leur expression génique. On estime que la DEXAMETHASONE a une puissance anti-inflammatoire 25 fois plus élevée que le cortisol produit naturellement dans l'organisme **[29].**

3.8.Indications [26, 27]

La DEXAMETHASONE est utilisée dans le traitement d'un large éventail de maladies. Certainessontdécrites ci-dessous:

3.8.1. Indications d'utilisation

- ✓ Indication de la corticothérapie générale
- ✓ Oedème de Quincke sévère
- ✓ Choc anaphylactique
- ✓ Fièvre typhoïde sévère
- ✓ Laryngite sous-glottique
- ✓ Œdème cérébral des tumeurs
- ✓ Œdème cérébral lié à un abcès de toxoplasmose
- ✓ Dyspnée laryngée
- ✓ Cicatrice chéloïde
- ✓ Tendinite
- ✓ Bursite
- ✓ Talalgie
- ✓ Syndrome du canal carpien
- ✓ Maladie de Dupuytren

3.8.2. Indications thérapeutiques

Les indications sont celles de la corticothérapie générale per os, lorsque la voie parentérale est nécessaire en cas d'impossibilité de la voie orale (vomissements, aspiration gastrique, troubles de la conscience), les affections nécessitant un effet thérapeutique rapide :

- **Allergiques**

- ✓ Œdème de Quincke sévère en complément des antihistaminiques.
- ✓ Choc anaphylactique en complément de l'adrénaline.

- **Infectieuses**

- ✓ Fièvre typhoïde sévère, en particulier avec confusion mentale, choc, coma.
- ✓ laryngite striduleuse (laryngite sous-glottique) chez l'enfant.

- **Neurologiques**

- ✓ Œdème cérébral (tumeurs, abcès à toxoplasme...)

- **ORL**

- ✓ dyspnée laryngée.

- **Autre indication**

- ✓ La DEXAMETHASONE et d'autres stéroïdes, en particulier la prednisone, la prednisolone et la méthylprednisolone sont utilisés de plusieurs façons dans le traitement du cancer.
- ✓ La DEXAMETHASONE peut également altérer les réponses normales du système immunitaire, elle est donc très utile dans le traitement des conditions affectant le système immunitaire.
- ✓ La DEXAMETHASONE est utile dans le traitement des troubles sanguins et des tumeurs comme le myélome multiple. Elle semble provoquer la mort cellulaire programmée, plus connue sous le nom d'apoptose, cela signifie que des stéroïdes comme la DEXAMETHASONE peuvent déclencher la destruction de cellules myélomateuses.

3.9.DEXAMETHASONE et le Covid-19

Mené par des chercheurs britanniques sur 6 400 patients au Royaume-Uni**,** l'essai clinique Recovery**,** dont les premiers résultats ont été publiés le mardi 16 juin 2020, a montré que l'utilisation de DEXAMETHASONE pouvait réduire significativement la mortalité chezles malades gravement atteints de Covid-19, pour parvenir à cette conclusion, les chercheurs ont administré de la DEXAMETHASONE à 2 104 malades pendant 10 jours et ont comparé leur état de santé avec un autre groupe de 4 321 patients, qui eux, n'avaient pas reçu de traitement. Au terme de leur analyse, ils ont constaté que :

- ✓ La mortalité des malades les plus affectés - ceux sous ventilation artificielle - était réduite d'untiers**.**
- ✓ La mortalité des malades à qui on administrait de l'oxygène par masque, sans les intuber, était réduite d'un cinquième**.**
- ✓ Aucun bénéfice pour les patients malades qui ne recevait aucune assistance respiratoire.

Selon les responsables de l'essai, "une mort sur huit pourrait être évitée *grâce à ce traitement chez les patients placés sous ventilation artificielle*", indiquent-ils dans un communiqué **[29]**



Figure 11: la DEXAMETHASONE et le test de covid-19[30]

3.10. Posologie et mode d'administration

- ✓ La posologie est variable en fonction du diagnostic, de la sévérité de l'affection, du pronostic, de la réponse du patient et de la tolérance au traitement.
- ✓ Cette solution peut être diluée dans une solution de chlorure de sodium ou de glucose.
- ✓ Lorsqu'il est associé à une solution à perfuser, le mélange doit être utilisé dans les 24 heures.
- ✓ La posologie initiale peut varier de 2 à 20 mg/j, selon le type de maladie à traiter.
- ✓ L'éventail de posologie par voie parentérale est habituellement de 1/3 à 1/2 des doses orales administrées toutes les 12 heures.

En cas d'œdème cerebral :

- ✓ D'abord 10 mg (2,5 ml) en I.V. puis 4 mg (1 ml) en I.M., toutes les 6 heures jusqu'à régression de la symptomatologie de l'œdème cérébral. On obtient habituellement un résultat thérapeutique en 12 à 24 heures.
- ✓ Des doses élevées sont recommandées pour débuter un traitement intensif à court terme dans le cas d'œdème cérébral aigu mettant en danger la vie du malade **[31].**

Schéma posologique recommandé à fortes doses dans l'œdème cérébral :

Tableau 1 : la posologie de la DEXAMETHASONE chez les adultes, les enfants (>35 kg) et les enfants (<35 kg) [30].

Voie I.V.	Posologie initiale	J1 à J3	J4	J5 à J8	En suite diminuer de
Adultes	50 mg	8 mg/2h	4 mg/2h	4 mg/4h	4 mg/jour
Enfants(>35 kg)	25 mg	4 mg/2h	4 mg/4h	4 mg/6h	2 mg/jour

Enfants(<35 kg)	20 mg	4 mg/3h	4 mg/6h	2 mg/6h	1 mg/jour

3.11. Contre-indications

Les médicaments à base de DEXAMETHASONE ne doivent pas être utilisés en dehorsd'une prescription médicale. Les personnes diabétiques risquent de déséquilibrer leur diabète s'ils modifient la quantité ou le rythme de la prise de corticoïdes sans avis médical. Les personnes ayant des antécédents de tuberculose, d'ulcère de l'estomac ou du duodénum, les personnes souffrant d'insuffisance rénale, de colite ulcéreuse, d'hypertension artérielle, d'ostéoporose, de myasthénie grave doivent faire l'objet d'une prise en charge médicale particulière.

Ces médicaments sont contre-indiqués en cas de :

- ✓ **Mycose ou infection** non contrôlée par un traitement adapté.
- ✓ **Maladie virale en évolution** (hépatite, herpès, zona, varicelle)
- ✓ Psychose ou maladie mentale non contrôlée par un traitement adapté.
- ✓ Vaccination par des vaccins vivants.
- ✓ Antécédents d'allergie à l'un des constituants.
- ✓ Troubles de la coagulation ou de prise d'un traitement anticoagulant, en cas d'injection intramusculaire **[29].**

3.12. Grossesse et allaitement

3.12.1. Grossesse

- ✓ Chez l'animal, l'expérimentation met en évidence un effet tératogène variable selon les espèces.
- ✓ L'administration de corticostéroïdes à des animaux gravides peut causer des anomalies du développement fœtal, incluant une fente palatine, un retard de croissance intra-utérin et des effets sur la croissance et le développement du cerveau. Il n'existe aucune preuve que les corticostéroïdes entraînent une augmentation de la fréquence des anomalies congénitales.
- ✓ Dans l'espèce humaine, il existe un passage Trans placentaire, cependant, les études épidémiologiques n'ont décelé aucun risque malformatif lié à la prise de corticoïdes lors du premier trimestre.

- ✓ Lors de maladies chroniques nécessitant un traitement tout au long de la grossesse, un léger retard de croissance intra-utérin est possible. Une insuffisance surrénale néonatale a été exceptionnellement observée après corticothérapie à doses élevées.
- ✓ Il est justifié d'observer une période de surveillance clinique (poids, diurèse) et biologique du nouveau-né.
- ✓ En conséquence, les corticoïdes peuvent être prescrits pendant la grossesse si besoin **[28].**

3.12.2. Allaitement

En cas de traitement à doses importantes et de façon chronique, l'allaitement est déconseillé **[28].**

3.12.3. Interactions avec d'autresmédicaments

Les interactions avec d'autres médicaments sont tout à fait possibles. Les risques d'interaction entre les médicaments augmentent avec les médications multiples. Voila ci-dessous une liste (non exhaustive) des médications et classes de médications pouvant interagir avec la DEXAMETHASONE. Ces interactions peuvent augmenter ou réduire les effets des médicaments. Les médicaments pouvant interagir avec la DEXAMETHASONE et les corticostéroïdes.

- ✓ L'amphotéricine B et les diurétiques qui influent sur les taux de potassium comme, la spironolactone et le triamtérène.
- ✓ Les antibiotiques comme l'érythromycine, la clarithromycine, la rifampicine et l'azithromycine.
- ✓ Les anticoagulants comme la warfarine et l'aspirine.
- ✓ Les barbituriques comme l'amobarbital, le butalbital, le pentobarbital et le sécobarbital.
- ✓ Les médicaments contre le diabète comme l'insuline, le glibenclamide et la metformine.
- ✓ La Ciclosporine.
- ✓ Les digitaliques.
- ✓ L'éphédrine qui l'on retrouve souvent dans les produits de régime.
- ✓ Les médicaments à base d'oestrogène, y compris les contraceptifs oraux et les produits d'hormonothérapie substitutive.
- ✓ Les anti-inflammatoires non stéroïdiens, dont l'aspirine, l'ibuprofène, l'indométhacine et le naproxène.
- ✓ La phénytoïne **[32].**

3.13. Effets indésirables

Comme tout médicament, la DEXAMETHASONE peut provoquer des effets indésirables, peu de patients, voire aucun, ne ressentent tous ces effets secondaires. Certains patients ne ressentent aucun effet secondaire au cours de leur traitement à la DEXAMETHASONE.

Pris sur le long terme, les médicaments à base de DEXAMETHASONE peuvent diminuer les défenses immunitaires et être responsables d'effets secondaires, réversibles ou non.

Lors d'un traitement prolongé et à forte dose, ils peuvent entraîner une rétention d'eau et de sel, une hypertension artérielle, une baisse du taux de potassium, un gonflement du visage et du buste, l'apparition de poils ou taches cutanées violacées, une acné, des troubles du sommeil,une faiblesse puis une fonte musculaire, de l'ostéoporose, des troubleshormonaux et métaboliques, un diabète (réversible), l'arrêt de la croissance chez l'enfant, des troubles des règles, des troubles digestifs (gastrite, ulcère)et certaines formes de glaucome**[29].**

3.14. Durée et précautions particulières de conservation

3.14.1. Durée de conservation

24mois, Après ouverture/reconstitution/dilution : le produit doit être utilisé immédiatement **[31].**

3.14.2. Précautions particulières de conservation

- ✓ A conserver à une température inférieure à 25°C.
- ✓ En l'absence d'études de compatibilité, ce médicament ne doit pas être mélangé avec d'autres médicaments à l'exception de ceux mentionnés dans la rubrique Posologie et mode d'administration.
- ✓ Cette solution peut être diluée dans une solution de chlorure de sodium ou de glucose **[31]**

Conclusion

Les corticoïdes quant à eux sont des dérivés synthétiques des hormones naturelles dont ils se distinguent par des propriétés anti-inflammatoire, antiallergique et immunosuppressive, leurs effets indésirables sont principalement des complications métaboliques osseuses et infectieuse.

La DEXAMETHASONE doit être utiliser pour des traitements les plus courtes possible, en cas d'utilisation prolongée des mesure d'accompagnement comme un régime, des compliments alimentaires et des médicaments doivent être associer.

Chapitre II:Matériel et méthode

I. Introduction

Notre étude est menée sur la qualité de deux médicaments génériques : DEXASONE (de SAIDAL- MEDEA) et l'UNIDEX (de UNIMED-TUNISIE). Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de contrôle de qualité de l'unité ANTIBIOTICAL de groupe « SAIDAL » de MEDEA durant une période de deux semaines.

Nous avons respecté les règles internes du laboratoire en suivant les normes utilisées par ce dernier (les modes opératoires spécifiques).

Dans ce chapitre, nous définirons dans un premier temps les produits chimiques utilisés. Puis, nous présenterons les méthodes mises en œuvre pour effectuer le contrôle physico-chimique, microbiologique et pharmacotoxicologie du principe actif, des deux médicaments étudiés.

1. Contrôles physico-chimiques

1.1. Principe actif (DEXAMETHASONE phosphate sodique)

Pour que le contrôle de la qualité physico-chimique du principe actif «DEXAMETHASONE phosphate sodique » soit assurer, plusieurs essais sont exigés par la pharmacopée européenne tel que : les essais liés à la nature et dosage du principe actif, les essais d'identification, le dosage de diverses impuretés et les essais pharmaco techniques (pH, la teneur en eau, …etc.).

Le contrôle physico-chimique du principe actif (DEXAMETHASONE phosphate sodique) a été effectué sur un lot en l'occurrence : 179/1

1.1.1. Aspect

L'aspect de la poudre (DEXAMETHASONE phosphate sodique) est estimé à l'œil nu.

1.1.2. Solubilité

- **Principe**

La solubilité est la capacité d'une substance dans une solution de formé un liquide homogène.

- **Mode opératoire**

On pèse des quantités différentes de DEXAMETHASONE phosphate sodique et on met dans :

- ✓ Le tube 1 :1 g de principe actif dans 1 ml d'eau distillé.
- ✓ Le tube 2 :1 mg de principe actif dans 1 ml de d'éthanol à 96.
- ✓ Le tube 3 : 10mg de principe actif dans 5 ml de chlorure de méthylène **[33].**

1.1.3. Identification B

C'est la spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge :

- **Principe**

« L'adsorption d'un rayonnement infrarouge correspond à une interaction des photons avec la molécule ou avec les groupements fonctionnels de la molécule » **[34].**

- **Mode opératoire**

Nous avons effectué la spectrophotométrie d'adsorption dans l'infrarouge (IR) sur DEXAMETHASONE phosphate sodique.

- ✓ On met petite quantité de matière première dans l'appareil de l'infrarouge.
- ✓ On compare le spectre obtenu avec un spectre étalon de DEXAMETHASONE phosphate sodique (SCR) pour l''identification des pic.

1.1.4. Les essais

« Une solution de la substance à examiner, appelée « Solution S », est préparée lorsque la même solution est utilisée dans plusieurs essais (et/ou identifications) » **[35].**

1.1.1.1.Préparation de la solution S

Dissolvez 1 g de DEXAMETHASONE phosphate sodique dans l'eau exempte de dioxyde de carbone R et complétez à 20 ml avec le même solvant.

1.1.1.2.Vérification de l'aspect de la solution S

L'aspect de la solution est estimé visuellement.

1.1.1.3.Vérification du pH

- **Le principe**

Le potentiel hydrogène (pH) permet de mesurer la concentration en ions oxonium H_3O^+ dans la solution.

Si le pH est supérieur à 7 la solution est basique, si le pH est égal à 7 la solution est neutre et si le pH est inférieur à 7 la solution est acide.

- **Le mode opératoire**

Prélevez 1 ml de la solution S et complétez à 5 ml avec l'eau exempte de dioxyde de carbone R **[33].**

1.1.5. Le pouvoir rotatoire spécifique

- **Principe**

La molécule chirale a une propriété de faire dévier le plan de polarisation d'une lumière incidente polarisée.

Si tel est le cas, l'angle pour lequel l'extinction est obtenue correspond à l'angle de rotation approprié de la molécule chirale.

Ainsi, la mesure de cet angle est une propriété distinctive de la molécule.

- **Mode opératoire**

✓ Dissolvez 0.25 g de DEXAMETHASSONE phosphate sodique dans l'eau R et complétez à 25 ml avec le même solvant.

✓ Allumez le polarimètre, il faut d'attendre 5 minutes que la lampe soit chaude.

✓ Placez le blanc, c'est le solvant (l'eau).

✓ Etalonnez l'appareil.

✓ Placez le tube qui contienne l'échantillon.

✓ Mesurez l'angle de rotation$\propto$

✓ Calculez par rapport à l'anhydride et exempte d'éthanol, le pouvoir rotatoire spécifique de + 75 à +83 par la loi de Biot :

$$PS = \frac{\propto}{L.C} \text{.....(1)}$$

$\propto$: l'angle de rotation.

L : *la longueur de la cuve en dm.*

C : *la concentration de la solution en* $\frac{g}{ml}$.

PS : le pouvoir rotatoire spécifique en $\frac{\text{ml}}{\text{g. dm}}$.

1.1.6. La teneur en eau

La méthode de Karl Fischer (KF) est une méthode chimique qui consiste à mesurer la teneur en eau d'un échantillon par semi-microdosage, elle est considérée comme la plus efficace pour la détermination de la teneur en eau.

- **Principe**

Le principe de base de la méthode de KF est la réaction de l'iode avec l'eau en solution alcoolique en présence d'acide sulfureux et d'une base.

- **Mode opératoire**

On peut déterminez la teneur en eau qui ne peut pas dépassée le 10% par l'introduction de 200 mg de DEXAMETHASONE phosphate sodique dans le titrateur KF **[33].**

La teneur en eau est calculée selon l'équation suivante :

$$teneureneau(\%)(TE) = \frac{V \times F \times 100}{P} \text{.....(2)}$$

V : volume de la solution Karl Ficher

F : facteur de la solution de dosage Karl Ficher mg/ml

P: pesée de l'échantillon.

1.1.7. Les phosphates inorganiques

- **Principe**

La coloration jaune d'une solution à examiner ne doit pas être plus intense que le témoin.

- **Mode opératoire**

A. La solution à examiner :

- ✓ Dissolvez 50 g de DEXAMETHASONE phosphate sodique dans de l'eau R et complétez à 100 ml avec le même solvant.
- ✓ A 10 ml de cette solution, ajoutez 5 ml de réactif molydovnadique et mélangez
- ✓ Laissez reposer pendant 5 minutes **[33].**

B. La solution témoin

Préparez le témoin simultanément et dans les mêmes conditions avec 10 ml de solution à 5 ppm de phosphate (PO_4) R **[33].**

1.1.8. Le dosage par chromatographie en phase liquide (HPLC) :

- **Principe**

La chromatographie liquide haute performance est la méthode analytique la plus utilisée dans le domaine pharmaceutique, son large champ d'application est due à sa capacité de séparer des échantillons peu ou pas volatiles, des molécules volumineuses, des solutés thermolabiles et même ioniques, ces composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant, Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

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

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

En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme **» [36].**

- **Mode opératoire :**

Avant de lancer L'HPLC, une phase mobile et deux solutions ont été préparées comme suit :

A. Préparation de la phase mobile

Mélangez 520 ml d'eau avec 2 ml d'acide phosphorique R, ajustez la température à 20°C puis le pH à 2.6 avec de l'hydroxyde de sodium R, mélangez cette solution avec 36 ml de tétrahydrofurane R et 364 ml de méthanol R**.**

B. Préparation de la solution à examiner :

Dissolvez 30 mg de DEXAMETHASONE phosphate sodique dans la phase mobile et complétez à 50 ml avec le même solvant, prélevez 5 ml de cette solution, complétez à 50 ml avec la phase mobile.

C. Préparation de la solution témoin (b) :

Dissolvez 30 mg de DEXAMETHASONE phosphate sodique dans la phase mobile et complétez à 50 ml avec le même solvant, prélevez 5 ml de cette solution, complétez à 50 ml avec la phase mobile **[33].**

Lesvialesont été remplies avec les trois solutions puis placées dans le carrousel d'HPLC afin de les analyser.

Les paramètres de la colonne utilisée pour HPLC sont illustrés dans le tableau 2 :

Tableau 2: paramètre de la colonne HPLC [33].

Dimension	L =0.15m, D =4.6mm
Débit	1.5ml /min
Injection	20 µl
Détection	spectrophotomètre à 254nm

1.1.9. Les substances apparentées (par HPLC)

- **Le principe**

Le principe est le même de la méthode précédente (1.1.8. Dosage par HPLC)

- **Mode opératoire**

Avant de lancer L'HPLC, deux phases mobiles et quatre solutions ont été préparées comme suit :

A. Préparation de la solution A

Dissolvez 7 g de d'acétate d'ammonium R dans 1000 ml d'eau R.

B. Préparation de la phase mobile A

Mélangez 300 ml de la solution A avec 350 ml de l'eau R, ajustez le pH à 3.8 avec de l'acide acétique R puis ajoutez 350 ml de méthanol R.

C. Préparation de la phase mobile B

Prélevez 300 ml de la solution A et ajustez le pH à 4 avec de l'acide acétique R puis ajoutez 700 ml de méthanol R.

D. **Préparation de la solution à examiner**

Dissolvez 10 mg de DEXAMETHASONE phosphate sodique dans la phase mobile A et complétez à 10 ml avec le même solvant.

E. Préparation de témoin (a)

Dissolvez 2 mg de BETAMETHASONE phosphate sodique SCR (impureté B) et 2 mg DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR dans la phase mobile A puis complétez à 100 ml avec le même solvant.

F. Préparation de témoin (b)

Dissolvez 2 mg de DEXAMETHASONE phosphate sodique pour identification des pics (impureté A, C, E, F et G) dans la phase mobile A puis complétez à 2 ml avec le même solvant.

G. Préparation de témoin (c)

Prélevez 1 ml de la solution à examiner et complétez à 100 ml avec la phase mobile A puis prélevez 1 ml de cette solution et complétez à 10 ml avec le même solvant **[33].**

Les paramètres de la colonne utilisée pour HPLC sont illustrés dans le tableau 3 et le système de gradient a été validé selon les conditions de mode opératoire spécifique dans le tableau 4.

Tableau 3 : paramètre de la colonne HPLC [33].

Dimension	L =0.125m, D =4.6mm
Température	30°C
Débit	1ml /min
Injection	20 µl
Détection	spectrophotomètre à 254nm

Tableau 4: système de gradient [33].

Intervalle (min)	Phase mobile A (%)	Phase mobile B (%)
0 – 3.5	90	10
3.5 – 23.5	90 -60	10 – 40
23.5 -34.5	60 -5	40 – 95
34.5 – 50	5	95

1.2. Mélange final

1.2.1. Détermination du pH

- **Le principe**

Le même principe utilisé dans la méthode précédente (1.1.4.2. Vérification du pH de la solution S)

- **Le mode opératoire**

On prend un certain volume du mélange final et on introduit l'électrode du pH-mètre pour indiquer directement le pH.

1.2.2. Le dosage par HPLC

- **Le principe**

Le même principe utilisé dans la méthode précédente (dosage par HPLC du principe actif)

- **Le mode opératoire**

Avant de lancer L'HPLC, une phase mobile et deux solutions ont été préparées comme suit :

A. Préparation de la phase mobile

Une solution de phosphate de potassium monobasique à 0,01 M dans un mélange de méthanol et d'eau distillée (1 :1).

B. Préparation de solution échantillon

L'équivalent de 0,08 mg/ml de DEXAMETHASONE phosphate de mélange final dans la phase mobile.

C. Préparation de solution standard

Préparer une solution à 0,09 mg/ml de DEXAMETHASONE phosphate de sodium SCR dans la phase mobile fraichement préparée.

Les paramètres de la colonne utilisée pour HPLC sont illustrés dans le tableau 5 :

Tableau 5: paramètre de la colonne HPLC.

Dimension	L =30 cm, D =4mm
Débit	1.6 ml /min
Injection	20 µl
Détection	spectrophotomètre à 254nm

On peut calculer Teneur de la DEXAMETHASONE phosphate en mg/ampoule $C_{22}H_{30}FO_8P$ dans la portion de la solution injectable prise selon la formule suivante :

$$T\left(\frac{\text{mg}}{\text{Ampoule}}\right) = \frac{\text{Se} \times \text{Cst} \times \text{De} \times \text{Mr1} \times \text{Vm} \times \text{P}}{\text{Sst} \times \text{Ve} \times \text{Mr2}} \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (3)$$

Avec

- ✓ T : Teneur de la DEXAMETHASONE phosphate en mg/ml.
- ✓ S_e : Surface de la solution échantillon.
- ✓ S_{st} : surface de la solution standard.
- ✓ C_{st} : Concentration de DEXAMETHASONE phosphate de sodium RS dans la solution standard en mg/ml.
- ✓ V_e : Volume de 'échantillon prélevé en ml.
- ✓ D_e : Dilution de l'échantillon en ml
- ✓ M_{r1} : masse moléculaire de DEXAMETHASONE phosphate : 472.44.
- ✓ M_{r2} : masse moléculaire de DEXAMETHASONE phosphate de sodium : 516.40.
- ✓ P : puissance de la DEXAMETHASONE phosphate sodique en mg/mg
- ✓ V_m : Volume moyen en ml. (37)

1.3. Le produit fini

1.3.1. L'aspect

L'aspect de la solution de DEXASONE 4mg/ml est estimé visuellement, L'ampoule en verre transparent contenant un liquide limpide, inodore **[37].**



Figure 12 : Ampoule de DEXASONE 4mg/ml.

1.3.2. Identification CCM

- **Le principe**

« La chromatographie sur couche mince est une technique dans laquelle une phase stationnaire est répandue en une couche mince et uniforme sur un support (Plaque en verre ou métal), des solutions d'analyse sont appliquées sur la plaque avant la migration. La séparation repose sur les mécanismes d'adsorption, de partage ou d'échange d'ions ou sur la combinaison de ces mécanismes, elle s'effectue par la migration de soluté dans un solvant ou mélange de solvants appropriés à travers la couche mince. » **[34].**

- **Le mode opératoire**

Avant de lancer le CCM, une phase mobile et quatre solutions ont été préparées comme suit :

A. Solution A

Mélanger 3.1g d'acide borique avec 500 ml d'eau distillée dans une fiole de 1 litre, ajouter 21 ml d'hydroxyde de sodium 1 Net 10 ml de chlorure de Magnésium 0,1 M puis dilué au volume avec de l'eau distillée.

B. Solution B

Préparer une solution de l'enzyme phosphatase alcaline dans la solution A à l mg/ml (33).

C. Solution standard

Préparer une solution de DEXAMETHASONE SCR dans le chlorure de méthylène à 300 µg/ml.

D. Solution échantillon

Prélevez un volume de la solution injectable à examiner équivalent à 10 mg de DEXAMETHASONE phosphate sodique dans une fiole de 100 ml, ajoutez de l'eau et portez

au volume puis agitez, transférez 5 ml de cette solution dans une ampoule à décanter de 125 ml puis lavez à l'aide de 2 portions de 10 ml de chlorure de méthylène préalablement lavé avec de l'eau, rejetez les solutions de lavage, transférez la solution dans un cylindre de 50 ml muni d'un bouchon, ajoutez 5 ml d'une solution B, laissez à 37 °C pendant 45 min puis extraire avec 25 ml de chlorure de méthylène, évaporez 15 ml de l'extrait de chlorure de méthylène sur bain marie au sec, dissolvez le résidu dans un 1 ml de chlorure de méthylène **[37].**

Les paramètres du système chromatographique utilisé pour CCM sont illustrés dans le tableau 6.

Tableau 6: Les paramètres du système chromatographique [37].

Adsorbant	plaque de 20 x 20 cm recouverte d'une couche de 0.25 mm d'un mélange de gel de silice.
Volume applicable	5 µl d'échantillon à analyser.
Phase de migration	chloroforme50 % , acétone%50 et eau distillée%1 de volume.
Pulvérisateur	acide sulfurique dilué (1 dans 2).

- **Analyse**

✓ Déposer 5 µl de la solution échantillon et 5 µl de la solution standard.

✓ Laisser les spotsse sécher, puis développer les chromatogrammes en utilisant la phase de migration indiquée, dans une cuve CCM complètement bordé avec du papier filtre Jusqu'à déplacement du front de solvant au 3/4 de la longueur de la plaque.

✓ Enlever la plaque de la cuve, marquer le front de solvant et laisser les spots se sécher.

✓ Pulvériser la plaque avec l'acide sulfurique dilué.

✓ Chauffer à105 °C jusqu'à apparition de taches marrons ou noires.

- **Critères d'acceptation** :

La valeur de référence du spot principal de la solution échantillon doit correspondre à celle de la solution standard **[37].**

1.3.3. Volume extractible

- **Le principe**

Le principe consiste à prélever le contenu de chaque récipient individuellement, à l'aide d'une seringue sèche (n'excédant pas 3 fois le volume à mesurer) et évacuer le contenu de la seringue dans une éprouvette sèche qui ne doit être pas inferieure au volume nominal.

- ✓ **Volume nominal 10 ml** : prélever 1 récipient.
- ✓ **3 ml < Volume nominal < 10 ml** : 3 récipients.
- ✓ **Volume nominal 3 ml :** prélever 5 récipients (notre cas).

- **Le mode opératoire**

Le contenu d'un nombre de 5 récipients est mélangé afin d'obtenir le volume requis pour la mesure en utilisant une seringue montée sèche différente pour chaque récipient, chassez les éventuelles bulles d'aire de la seringue et de l'aiguille, puis évacuez le contenu de la seringue dans une éprouvette sèche graduée **[37].**

1.3.4. Détermination du pH

- **Le principe**

Le même principe utilisé dans la méthode précédente (1.1.4.2. Vérification du pH de la solution S)

- **Le mode opératoire**

Cette mesure a été effectuée directement dans la solution de DEXASONE 4 mg/ml telle quelle à l'aide du pH mètre.

1.3.5. Contaminations particulaire

- **Le principe**

Il sert à un comptage des particules par un compteur qui déterminent le nombre et la dimension des particules présentes dans un échantillon et les attribuent à des catégories de taille prédéfinies.

- **Le mode opératoire**

✓ Videz le contenu de 25 ampoules dans un récipientpréalablementnettoyé, de façon à obtenir un volume de 25ml au minimum.

✓ Eliminer les bulles de gaz en laissant reposer la solution pendant 2min.

✓ A l'aide de compteur des particules procéder au comptage, une quantité de 5ml de préparation à examiner est prélevée automatiquement par l'appareil en 4 reprise (figure 13)

✓ Le premier prélèvement sert au rinçage de l'appareil, les 3 autres servent pour le comptage des particules de taille supérieur ou égal à 10µm et à 25 µm, dont une moyenne est Calculée par le logiciel de l'appareil de comptage **[37].**



Figure 13: prélèvements automatiquement par l'appareil de comptage.

1.3.6. Identification et dosage par HPLC

- **Le principe :**

Le même principe utilisé dans la méthode précédente (Identification et dosage du principe actif).

- **Le mode opératoire**

Avant de lancer L'HPLC, une phase mobile et deux solutions ont été préparées comme suit :

A. Préparation de la phase mobile :

Une solution de phosphate de potassium monobasique à 0,01 M dans un mélange de méthanol et d'eau distillée (1 :1).

B. **Préparation de solution échantillon :**

L'équivalent de 0,08 mg/ml de DEXAMETHASONE phosphate de produit fini dans la phase mobile.

C. **Préparation de solution standard :**

Préparer une solution à 0,09 mg/ml de DEXAMETHASONE phosphate de sodium SCR dans la phase mobile fraichement préparée.

Les paramètres de la colonne utilisée pour HPLC sont les mêmes conditions illustrées dans le tableau 5 **[37].**

2. Contrôles microbiologique

2.1. Contrôle de stérilité

- **Le principe**

Le test de stérilité permette de contrôler le non contamination des solutions injectable lors de leur conservation.

Le principe consiste à faire la filtration sur membrane en ester de cellulose (0,20 ou 0,22 µm) puis Incubation pendant 14 jours dans 2 milieux de culture :

- ✓ Thioglycolate de sodium : bactéries aérobies et anaérobies, à 30-35°C.
- ✓ Hydrolysat de caséine de soja : bactéries aérobies, levures et moisissures, à 20-25°C

Le produit est stérile s'il y'a aucune pousse de microorganismes.

- **Le mode opératoire**

- ✓ Placer le stéritest dans la pompe péristaltique selon le mode opératoire de l'utilisation du Stéritest (pompe péristaltique).
- ✓ Caser l'ampoule par la lime casse ampoule.
- ✓ Aspirer le contenu de 20 ampoules par la pompe péristaltique qui va le faire passer à travers les filtres 0.45 micron de l'unité stéritest.
- ✓ Rincer les filtres avec le liquide de rinçage (eau peptonée), le volume est déterminé pour chaque produit selon la validation de l'essai de stérilité pour des poudres et solutions injectables.
- ✓ Placer les bouchons jaunes en dessous de l'unitéstéritest.
- ✓ Introduire les deux milieux de culture dans les deux vases de filtration de l'unité Stéritest.
- ✓ Placer les clamps d'entrée de l'unité.
- ✓ Couper les tubulures à l'aide de ciseau.
- ✓ Fixer les dans les filtres évent des vases
- ✓ Identifier et inscrire sur les deux vases : le numéro de lot, le nom du produit et la date d'analyse.



Figure 14: préparation des vases dans une chambre stérile.

✓ Incuber les milieux de culture pendant 14 jours à différente température de 20°C à 25°C pour soja bouillon et de 30°C à 35°C pour thioglycolate.

Lecture :

Observer quotidiennement au cours de la durée d'incubation les milieux de cultures pour déceler des signes macroscopiques de prolifération microbienne, qui se manifestent par une turbidité du milieu.

Si le produit à examiner induit une turbidité qui rend difficile l'observation d'une contamination microbienne, prélever l ml de chaque milieu et le transférer dans de nouveaux flacons contenant le même milieu puis les incuber aux même températures pendant minimum4jours.

S'il n'est pas observé des signes de croissances microbiennes, le produit à examiner est déclaré conforme.

Si une croissance microbienne est observée le produit ne satisfait pas à l'essai.

L'essai du produit à examiner est déclaré non valable si une ou plusieurs conditions citées ci-dessous sont réunies

- Les résultats de l'air et surfaces ainsi que des équipements (hotte et/ ou pompe péristaltique) sont non conformes.
- Une croissance microbienne est observée pour le témoin négatif.

Apres identification des microorganismes, il apparait que cette (cette) espèce (s) peut être attribuée au matériel ou à la technique utilisé **[37].**

2.2.Contrôle de fertilité

- **Le principe**

Le principe consiste à ensemencer le milieu avec une suspension bactérienne de référence (ATCC) de concentration connue de façon à retrouver environ 100 colonies sur le milieu.

L'absence de culture ou un résultat < 30 colonies traduit un problème de fertilité.

- **Le mode opératoire**

A la fin de la période d'incubation et après la lecture des résultats :

✓ Ensemencer les milieux de culture par des germes de références en utilisant au moins une souche aérobie et une souche anaérobie et une levure ou moisissure, la quantité injectée doit être 100UFC/ml environ.

✓ Incuber le milieu de thioglycolate à 30°C-35°C pendant 48 heures pour les bactéries.

✓ Incuber le milieu au bouillon de soja à 20°C-25°C pendant 48 heures pour les levures et moisissure.

Lecture :

L'essai de stérilité n'est pas valide si l'un ou les deux milieux de culture restent Stériles (absence de croissance) au de-delà des 48ème heures, car il y'a présence de substances à activité antimicrobienne qui n'a pas été éliminée, ce qui implique une répétition de l'essai en respectant les étapes de la méthode de validation **[37].**

3. Contrôle toxicologique

3.1.Recherche des endotoxines bactériennes par la méthode Gel-caillot-Test LAL

- **Le principe**

L'essai des endotoxines bactériennes est destiné à la détection ou la quantification des endotoxines produites par des bactéries Gram-négatives, au moyen d'un lysat d'amoebocytes de limules (LAL).

Ce mode opératoire a pour but d'établir les lignes directrices pour la recherche des endotoxines bactérienne.

- **Le mode opératoire**

✓ Nettoyer et dépyrogéner dans un four à air chaud, par une méthode validée, toute la verrerie pendant 30 minutes à 250'C.

✓ L'absence de contamination détectable dans le matérielutilisé dans le teste des endotoxines bactériennes (TEB) doit être établie.

✓ Transférer toutes la verrerie dépyrogénées dans la salle pour TEB.

- ✓ Allumer l'interrupteur du bloc incubateur en appuyant sur "ON". La température doit être réglée à 37°C±1°C.

A. Calcule de la dilution maximale valide DMV

La DMV pour l'échantillon à tester peut être calculée par la formule suivante :

$$DMV = \frac{\text{limite en endotoxine} \times \text{Puissance du Produit}}{\text{sensibilité marquée } \lambda} \dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots (4)$$

- ✓ Diluer l'échantillon à $^1/_4$ DMV dans des fioles dépyrogénées avec l'eau pour réactif LAL(ERL) et mélanger au vortex prudent 3 minutes
- ✓ Il est prudent de mesurer le Ph parce que la réaction LAL-endotoxine est optimale à la neutralité.
- ✓ Idéalement, neutraliser avec un tampon approprié ou des quantités prédéterminées d'acide HCl0.1 N pour TEB ou de base NaOH 0.1N pour TEB.
- ✓ Mesurer le PH du mélange de parts-égales de LAL et d'échantillon quand les conditions sous-optimales sont suspectes.

B. Echantillonnage et test pour l'eau pour dilution des échantillons

- ✓ Recueillir l'eau pour dilution des échantillons, dans des flacons oufiolesdépyrogénées, par le pland'échantillonnage.
- ✓ L'analyse de l'eau pour dilutions des échantillonsdoit être faite selon la méthode d'analyse test LAL.

C. Préparation de commande standard (CSE)

- ✓ Reconstituer le CSEen ERL en suivant attentivement lesinstructionsdu fabricant prévues sur le flacon et le CA adjoint.
- ✓ Mélanger au vortexVigoureusement pendant 5 minutes avant l'autre dilution.
- ✓ Utiliser le CSE dans les 4 semaines après reconstitution.
- ✓ Préparer une dilution CSE dans ERL pour obtenir une unité en endotoxines par millilitre (1EU/ml) et mélanger la dilution sur vortex pendant 3 minutes.
- ✓ Préparer un 4λ en diluant, dans ERL, un volume qui est équivalent a une concentration 4λ à partir de 1EU/ml.
- ✓ Mélanger la dilution sur le vortex pendant 3 minutes. (4λ est de retour calculé à partir de la concentration λ).
- ✓ Les solutions des dilutions d'endotoxine doivent être faites quotidiennement à moins que les conditions et les périodes de stockage, soient validés.

D. Reconstitution du LYSAT LAL

- ✓ Recueillir la poudre du lysat dans le fond du flacon en tapotant sur une surface dure.
- ✓ Ouvrir la bague en aluminium du lysat à l'aide d'une lame stérile.
- ✓ Selon les instructions du fabricant, réhydrater avec la quantité d'eau indiquée pour le réactif LAL juste avant l'utilisation.
- ✓ Enlever le bouchon et pipeter ERL, ou une solution tampon directement dans le flacon.
- ✓ Remplacer le bouchon immédiatement ou bien ouvrir le flacon avec une surface sans endotoxine ou avec l'intérieur d'un carré de para film lorsqu'il n'est pas utilisé.
- ✓ Mélanger LAL doucement jusqu'à ce qu'il dissolve.
- ✓ Eviter la contamination par touche lors de la fermeture du flacon.
- ✓ Jeter si l'étanchéité n'est pas respectée ou si la couleur ou l'opacité est présente après réhydratation.

E. Confirmation de la sensibilité marquée du LYSAT

- ✓ Confirmer la sensibilité marquée λ en 4 répétitions exprimées en UE/ml ou UI/ml, de la solution de LYSAT avant de l'utiliser dans l'essai.
- ✓ La confirmation de la sensibilité du LYASE doit être effectué lorsqu'un nouveau lot de LYASE est utiliser ou quand il y'a un changement dans les conditions expérimentales qui peuvent influer sur le résultat du test.
- ✓ Préparer une série de dilution du standard CSE à partir d'une solution à 4λ : effectuer de cette dernière au moins 4 concentrations équivalentes à 2 λ, λ, 0.5λ, 0.25λ, avec de l'eau pour les TEB ou ERL.
- ✓ Prendre dix des tubes à essai dépyrogénés.
- ✓ Numéroter les tubes et organiser les en 4 exemplaires dans un portoir.
- ✓ Procéder comme dans le tableau ci-dessous :

Tableau 7: Les quantités de (CSE, ERL, LYSAT) utilisés pour avoir les mélanges réactionnels qui vont être incubés [37].

Echantillon	Dilution du CSE utilisé	ERL	LYSAT en ml	N° des répétitions
2λ	0.1ml de 2λ	-	0.1ml	4
Λ	0.1 ml de λ	-	0.1ml	4
0.5λ	0.1 ml de 0.5λ	-	0.1ml	4
0.25λ	0.1 ml de 0.25λ	-	0.1ml	4

CPN	-	0.1ml	0.1ml	4

- ✓ Pipeter 0.1 ml d'une dilution CSE soit à 2 λ, λ, 0.5λ, 0.25λ séparément dans des tubes à essai (10 mm*75 mm) dépyrogénés et étiquetés.
- ✓ Utiliser 0.1 ml de LYSAT reconstitué dans chaque tube et mélanger délicatement.
- ✓ Incuber le mélange réactionnel pendant une période constante à 37°C± 1°C pour (60±2) minutes, en évitant les vibrations.
- ✓ Utiliser un chronomètre régler à 60 min.

Lecture :

Apres incubation, prenez chaque tube et le tourné directement, à partir du l'incubateur et l'inversé d'environ 180° en un seul mouvement fluide.

Si le gel formé est ferme et reste en place lors de l'inversion, enregistrer le résultat comme positif.

Un résultat négatif est caractérisé par l'absence de formation de gel ou par la formation d'une masse visqueuse qui ne tient pas lorsque le tube est inversé.

Le test n'est valide que si la plus faible concentration des solutions étalons montre un résultat négatif dans tous les essais répétés.

Le point d'extrémité est le résultat positif dans la dernière série de concentration décroissante de l'endotoxine.

Calculer la valeur moyenne des logarithmes des concentrations de point final, puis l'anti logarithme de la valeur moyenne à l'aide de l'expression suivante :

Moyenne géométrique du point final –point de concentration =antilog $\sum e/f$

$\sum e$=somme de l'extrémité log – points de concentration des séries de dilution utilisés

f=nombre de répétition

La moyenne géométrique de point final est la concentration mesurée de la sensibilité de la solution du LYSAT, si ce n'est pas moins de 0.5λ et d'au plus 2λ, la sensibilité marquée est confirmée et elle est utilisé dans des essais effectués avec ce LYSAT **[37].**



Figure 15: les échantillons et les mélanges réactionnels avant l'incubation

F. Détermination de l'endotoxine d'un échantillon inconnu

- ✓ Tester en série de deux dilutions de l'échantillon jusqu'à ce qu'un point final soit atteint.
- ✓ La concentration d'endotoxine (E) dans échantillon est calculée en multipliant la sensibilité marquée du LAL (λ) par l'inverse de la dilution un qui représente le point final.
- ✓ Alternativement, le taux d'endotoxines peut être calculé en divisant la sensibilité marquée du LAL λ par la moyenne géométrique du point final **[37].**

G. Essai pour le contrôle des échantillons

Préparer des solutions A, B, Cet D comme indique dans le tableau ci-dessous :

Tableau 8 : La préparation des solutions A, B, C et D [33].

Solution	Description de la solution	ERL en ml	4λ CES en ml	Produit à MVD/4 en ml	LYSAT en ml	N° de répétitions
A	Contrôle négatif du produit (CPN)	0.05	-	0.05	0.1	2
B	Contrôle positif du produit (CPP)	-	0.05	0.05	0.1	2
C	Contrôle positif de	0.05	0.05	-	0.1	2

	l'eau (CEP)					
D	Contrôle négatif de l'eau (CEN)	0.1	-	-	0.1	2

- ✓ Prendre 8 tubes essai dépyrogénés et numérotés, les disposer dans une position opposé à l'autre, soit 1et 2 pour CNP, 3et 4 pour CPP, 5et6 pour CPE, 7et 8 pour CEN.
- ✓ Ajouter 0.05 ml de l'ERL de CPN et CEP, et 0.1 ml dans CNE.
- ✓ Immédiatement, ajouter 0.05 ml de l'échantillon, dilué, à DMV/4, dans CPN et CPP, après, ajouter 0.05 ml du SCE dilué à 4λ dans le CPP et le CEP.
- ✓ Mélanger la dilution 4λ au vortex pendant 1 minute pour éviter le phénomène d'adsorption sur les parois du tube à essai.
- ✓ Les échantillons doivent être testés le plus rapidement possible après le prélèvement.
- ✓ Enfin, ajouter 0.1 ml du LYSAT dans tous les tubes, mélanger les tubes à essai manuellement et incuber dans un bloc de chauffage, quand la température est maintenue à 37°C ±1°C pour (60±2) minutes
- ✓ Le temps de la réaction de LAL avec les endotoxines est très critique.
- ✓ Si un grand nombre d'échantillon son à tester en parallèle, les réactions doivent commencer à des intervalles de (2 à 4) minutes pour permettre la lecture de chaque test dans le délai cité, car la réaction de LAL est sensible à la température.
- ✓ Le bloc de chauffage doit être étroitement surveillé.
- ✓ Egalement, la réaction de formation de gel est fragile et peut être modifié de façon irréversible si les tubes sont perturbés au cours de la période d'incubation **[37].**

4. Etudes d'UNIDEX 4 mg/ml

On a fait les contrôles physico-chimiques microbiologiques et toxicologiques sur notre médicament UNIDEX 4 mg/ml (figure 16) de numéro de lot 377 par les mêmes protocoles utilisés pour les contrôles du DEXASONE 4 mg/ml.



Figure 16 : solution injectable UNIDEX 4 mg/ml.

5. Evaluation de la stabilité de DEXASONE et UNIDEX 4 mg/ml dans les conditions de stress :

5.1. Mise en point d'une méthode de dosage de la DEXAMETHASONE phosphate sodique par UV-visible

- **Principe**

L'absorption du rayonnement électromagnétique peut être utilisée pour les essais de pureté, dans le cadre d'essais limites portant sur certaines impuretés. Le cas type est celui des impuretés qui absorbent le rayonnement dans une région où la substance elle-même est transparente. On mesure alors l'absorbance d'une solution de la substance à examiner, soit :

- ✓ Par mesure directe sur la solution ; une absorbance maximale à une longueur d'onde donnée ou sur un intervalle de longueurs d'onde donné est alors prescrite,
- ✓ Après une réaction chimique conduisant à la formation, à partir de l'impureté, d'un produit de réaction absorbant à une longueur d'onde où la substance à examiner est transparente ; une absorbance maximale à cette longueur d'onde est alors prescrite **[35].**

- **Le mode opératoire**

A. Vérification de l'absorbance maximal (A_{max}) et la longueur d'onde maximale (λ_{max}) de chaque solution

Solution A : solution standard de DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR de 0.004mg/ml

- ✓ Avec la balance peser 10mg de DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR.

- ✓ Mettre dans une fiole de 50 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Avec une pipette prélevé 1 ml de solution qu'a été préparer.
- ✓ Mettre dans une fiole de 50 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Faire la lecture par UV-visible.
- ✓ Faire un balayage de 200 à 700 nm.

SolutionB : solution échantillon de DEXASONE de 0.004 mg/ml**.**

- ✓ Avec une pipette prélevé 1 ml de DEXASONE 4 mg/ml.
- ✓ Mettre dans une fiole de 100 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Avec une pipette prélevé 5 ml de solution qu'a été préparer.
- ✓ Mettre dans une fiole de 50 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Faire la lecture par UV-visible.

Solution C : solution échantillon d'UNIDEX de 0.004 mg/ml.

- ✓ Avec une pipette prélevé 1 ml d'UNIDEX 4 mg/ml.
- ✓ Mettre dans une fiole de 100 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Avec une pipette prélevé 5 ml de solution qu'a été préparer.
- ✓ Mettre dans une fiole de 50 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Faire la lecture par UV-visible.

Solution D : solution de placebo pour DEXASONE.

- ✓ Avec une spatule prendre des quantités de citrate de sodium tribasique et méthabisulfate de sodium.
- ✓ Mettre dans une fiole de 100 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Faire la lecture par UV-visible.

Solution E : solution de placebo pour UNIDEX.

- ✓ Avec une spatule prendre une quantité EDTA.
- ✓ Avec une pipette prélevé 1 ml de glycérol.
- ✓ Mettre dans une fiole de 100 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Faire la lecture par UV-visible.

B. Réalisation d'une courbe d'étalonnage de DEXAMETHASONE phosphate sodique

- **Le principe**

« Des solutions de référence aqueuses à différentes concentrations, échelonnées sur l'intervalle d'étalonnage, sont préparées et analysées »

« Le nombre de concentrations à utiliser dépend du modèle d'étalonnage employé. Pour démontrer l'applicabilité du modèle de régression linéaire, il convient de préparer des solutions de référence à 4 concentrations au moins. L'emploi d'une courbe de régression parabolique requiert également 4 concentrations au moins. Ces concentrations sont de préférence réparties de façon uniforme sur l'intervalle d'étalonnage. ».

« Tracer un graphique des absorbances mesurées en fonction de la concentration, ainsi qu'une courbe représentant la fonction d'étalonnage et les intervalles de confiance correspondants. Cettecourbedoitprésenter un bon ajustement aux données. » **[35].**

- **Le mode opératoire**

A. Préparation de solution mère de 0.016 mg/ml

- ✓ Avec la balance peser 40mg de DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR.
- ✓ Mettre dans une fiole de 50 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Avec une pipette prélevé 1 ml de solution qu'a été préparer.
- ✓ Mettre dans une fiole de 50 ml compléter avec l'eau distillée.

B. Préparation de solution filles de 0.008/0.004/0.002/0.001 mg/ml

- ✓ Avec une pipette prélevé 10 ml de solution qu'a été préparer.
- ✓ Mettre dans une fiole de 20 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Faire la lecture par UV-visible.

5.2.Etude de la cinétique de dégradation de deux produits finis « DEXASONE 4 mg/ml et UNIDEX 4 mg/ml » dans les conditions de stress

- **Le principe**

L'étude de stabilité est définie comme une série d'analyses permettant de connaître l'évolution dans le temps de la qualité des PA et des produits finis sous l'influence de différents facteurs dont la température, l'humidité, la lumière …etc., et qui constituent des conditions de stockage.

On lance l'étude de stabilité du produit fini pour :

- ✓ Choisir une formulation et un système récipient fermeture satisfaisant
- ✓ Détermination de la durée de validité
- ✓ Prépositions des recommandations de stockage jusqu'à péremption ainsi qu'après ouverture du contenant ou reconstitution de la forme galénique.
- ✓ Identifier les produits de dégradation provenant de l'interaction des différents composants de la formule, déterminer leur cinétique d'apparition ainsi que les méthodes d'analyse.

- ✓ Vérifier qu'aucun changement susceptible d'avoir un effet défavorable sur la stabilité du produit n'a été apporté à la formulation, au procédé de fabrication, ou au matériau de conditionnement **[38].**

Dans ce travail, on fait une étude de stabilité par un facteur externe 'la température' qui accélère et favorise toutes les réactions chimiques ou biologiques, elle peut provoquer des changements d'état physique.

- **Le mode opératoire**

On expose 10 échantillons de deux produits DEXASONE 4 mg/ml et UNIDEX 4 mg/ml à la température de 70 ℃ et100℃.

A $t = 0\ min$ on prépare 3 solutions :

A. Solution A : solution standard de DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR.

- ✓ Avec la balance peser 40mg de DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR.
- ✓ Mettre dans une fiole de 100 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Avec une pipette prélevé 1 ml de solution qu'a été préparer.
- ✓ Mettre dans une fiole de 100 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Faire la lecture par UV-visible.

B. Solution B : solution échantillon de DEXASONE 4 mg/ml.

- ✓ Avec une pipette prélevé 1 ml de DEXASONE 4 mg/ml.
- ✓ Mettre dans une fiole de 100 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Avec une pipette prélevé 5 ml de solution qu'a été préparer.
- ✓ Mettre dans une fiole de 50 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Faire la lecture par UV-visible.

C. Solution C : solution échantillon d'UNIDEX 4 mg/ml.

- ✓ Avec une pipette prélevé 1 ml d'UNIDEX 4 mg/ml.
- ✓ Mettre dans une fiole de 100 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Avec une pipette prélevé 5 ml de solution qu'a été préparer.
- ✓ Mettre dans une fiole de 50 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Faire la lecture par UV-visible.

A t (min) on prépare 2 solutions échantillons :

En prélève deux échantillons de l'étuve de chaque produit :

A. Solution D : solution échantillon de DEXASONE 4 mg/ml.

- ✓ Avec une pipette prélevé 1 ml de DEXASONE 4 mg/ml.

- ✓ Mettre dans une fiole de 100 ml compléter avec l'eau distillée
- ✓ Avec une pipette prélevé 5 ml de solution qu'a été préparer
- ✓ Mettre dans une fiole de 50 ml compléter avec l'eau distillée
- ✓ Faire la lecture par UV-visible.

B. Solution E : solution échantillon d'UNIDEX 4 mg/ml.

- ✓ Avec une pipette prélevé 1 ml d'UNIDEX 4 mg/ml.
- ✓ Mettre dans une fiole de 100 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Avec une pipette prélevé 5 ml de solution qu'a été préparer.
- ✓ Mettre dans une fiole de 50 ml compléter avec l'eau distillée.
- ✓ Faire la lecture par UV-visible.

Après la lecture par UV-visible, on utilise l'équation de la courbe d'étalonnage pour calculer la concentration de chaque échantillon, puis on calcule le pourcentage de leur dégradation et on trace les courbes de dégradation pour faire la comparaison.

6. Evaluation de l'activité anti- inflammatoire de DEXASONE et UNIDEX 4 mg/ml in vivo

L'activité anti-inflammatoire de DEXASONE et d'UNIDEX, a été étudiée selon la méthode de Winter et ses Collaborateurs, en provoquant un œdème aigu par injection d'une solution de carragénine préparée dans de l'eau physiologique au niveau de la région sub-plantaire de la patte gauche postérieur de toutes les souris (figure 17), le diamètre de la patte a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse électronique avant et après l' injection de la carragénine pour évaluer l'augmentation et la réduction du diamètre **[39].**



Figure 17 : Injection de la carragénine au niveau de la patte postérieur gauche d'une sourie.

Les souris ont été réparties en 4 groupes (lot) d'une souris chaque un.

- ✓ **Le lot contrôle négatif (Témoin)** a rien reçu.
- ✓ **Le lot de contrôle positif (Standard)** a reçu une injection de DICLOFENAC de sodium à une dose de 0.25mg/ml/kg.
- ✓ **Le lot traité par DEXASONE** a reçu une injection de DEXASONE de 0.04 mg/ml/kg (figure 18).
- ✓ **Le lot traité 2 par UNIDEX** a reçu une injection D'UNIDEX de 0.04 mg/ml/kg (figure 18).



(A) (B)

Figure 18: L'injection intramusculaire de DEXASONE (A) et D'UNIDEX (B)

Le diamètre de chaque patte a été alors mesuré à 0h avant injection de la carragénine et 1, 2, 3, 4 et 5h après, à l'aide d'un pied à coulisse électronique (figure 19).



(A) (B)

Figure 19 : Photo d'œdème au niveau de la patte gauche de la souris (A) et la mesure du diamètre de l'œdème (B).

L'importance de l'évolution de l'œdème a été estimée par la détermination des pourcentages d'augmentation moyens de l'œdème qui a été calculé pour chaque heure selon l'équation suivante :

% d'œdème= $(Dn-D_0)/D_0) \times 100$

D_1 : diamètre de la patte de chaque heure après injection de la carragénine.

D_0 : diamètre de la patte avant l'injection de la carragénine [39].

L'activité anti-inflammatoire des solutions testées a été estimée par la détermination du pourcentage d'inhibition de l'œdème q' il a été calculé en fonction du témoin selon la formule suivante :

% d'inhibition = [(%d'œdème (témoin) - %d'œdème (extrait)) /%d'œdème (témoin)]×100[39]

Chapitre III:Résultats et discussions

1. Contrôles physico-chimiques

La comparaison de tous nos résultats s'est faite avec la norme de la pharmacopée Européenne 2017, 9^{éme} édition.

1.1. Principe actif (DEXAMETHASONE phosphate sodique)

1.1.1. Aspect

L'observation visuelle du principe actif est répondue aux spécifications décrites dans le mode opératoire spécifique, c'est que le principe actif est une poudre blanche ou sensiblement blanche, très hygroscopique

1.1.2. Solubilité

Les résultats de test de solubilité sont comme suit, dans :

- ✓ L'eau : facilement soluble
- ✓ L'éthanol : peu soluble
- ✓ Le chlorure de méthylène : pratiquement insoluble

Ces résultats obtenus montrent la solubilité de principe actif DEXAMETHASONE phosphate sodique et dépend de leur affinité dans chaque solvant et on peut dire que ces résultats sont conformes aux spécifications décrites dans le mode opératoire spécifique.

1.1.3. Identification B

La spectrophotométrie d'adsorption dans l'infrarouge s'effectue seulement sur un seul échantillon de principe actif DEXAMETHASONE phosphate sodique.

Le spectre deDEXAMETHASONEphosphate sodique identifié par infrarouge a été comparé avec le spectre du Standard de contrôle et de référence SCR.

Les deux résultats obtenus montrent que les spectres sont superposables, ce qui prouve que le principe actif DEXAMETHASONE phosphate sodique est pur et conforme aux normes.

1.1.4. Les essais

1. **Vérification de l'aspect de la solution S**

L'observation visuelle de la solution S est répondue aux spécifications décrites dans la pharmacopée européenne c'est que la solution est limpide.

2. **Vérification du pH de la solution S**

Le PH de la solution S est 8.19 c'est un pH basique qui se trouve dans l'intervalle exigé par la pharmacopée (de 7.5 à 9.5) ce qui donne leur conformité.

1.1.5. Le pouvoir rotatoire spécifique

Le pouvoir rotatoire spécifique de notre échantillon est 80.13° *en spa* qui se trouve dans l'intervalle exigé par lemode opératoire spécifique, ce qui donne leur conformité.

1.1.6. La teneur en eau:

On fait deux essais et les résultats sont résumés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Les résultats des essais.

	V (ml)	F (mg/ml)	P (mg)	TE (%)
Essai 1	02.35	04.067	206.2	04.6350
Essai 2	02.36	04.067	206.3	04.6525

D'après les résultats obtenus on trouve que le TE moyen est de 04.64%qui se trouve dans l'intervalle exigé par la pharmacopée ce qui donne leur conformité.

1.1.7. Les phosphates inorganiques:

La coloration jaune de la solution échantillon n'est pas plus intense de celle de la solution témoin ce qui implique leur conformité.

1.1.8. Le dosage par HPLC:

Après l'exécution on obtient deux chromatogrammes (figure 20 et 21) :

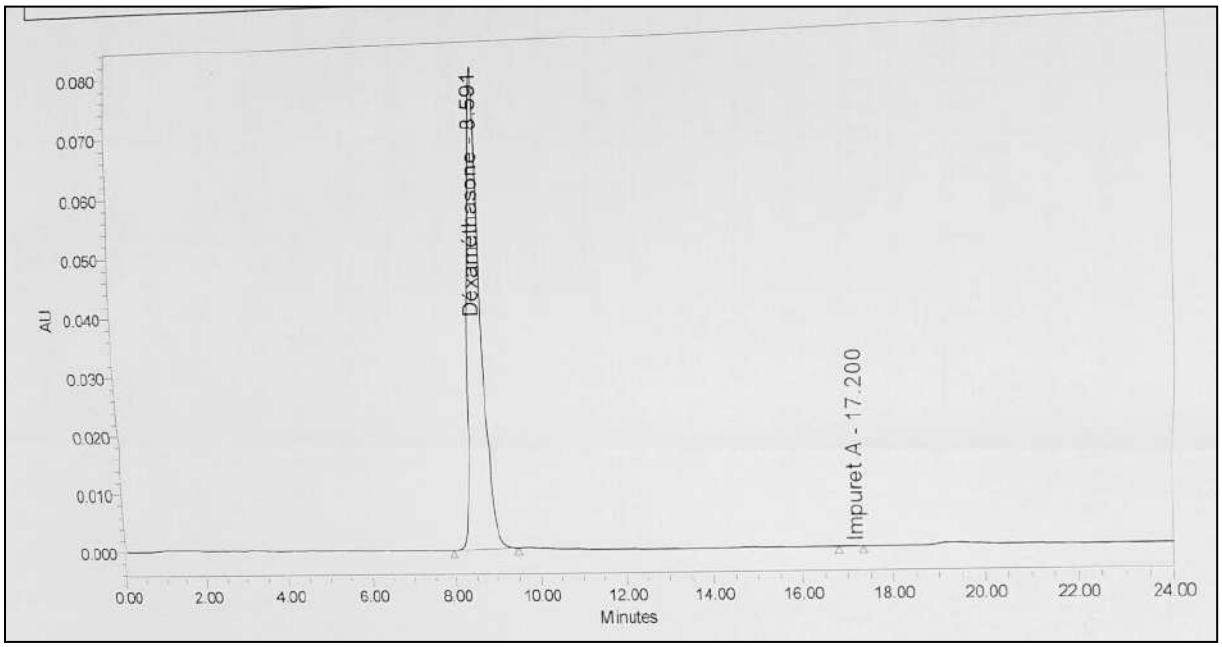


Figure 20 : Chromatogramme de DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR

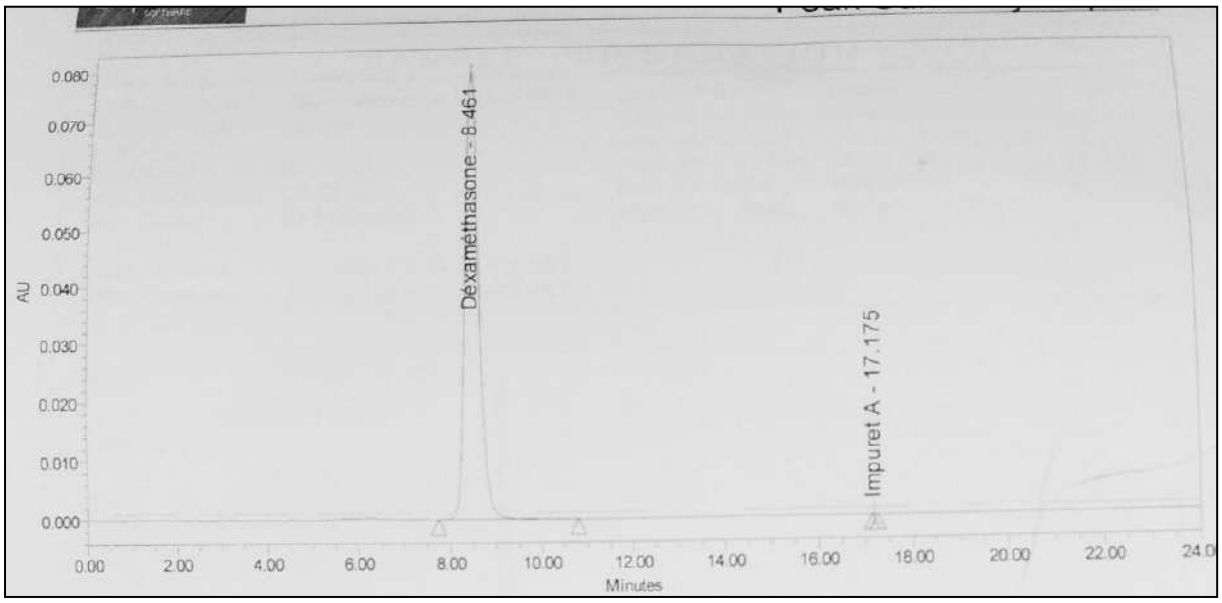


Figure 21: Chromatogrammes de DEXAMETHASONE phosphate sodique lot 179/1.

Le chromatogramme de DEXAMETHASONE phosphate sodique identifié par HPLC a été comparé avec le chromatogramme SCR.

Les deux résultats obtenus montrent que les pics principaux ont presque le même temps de rétention (TR=8.461min), ce qui prouve que le principe actif DEXAMETHASONE phosphate sodique est conforme est on peut calculer leur dosage à l'aide du tableau 10 :

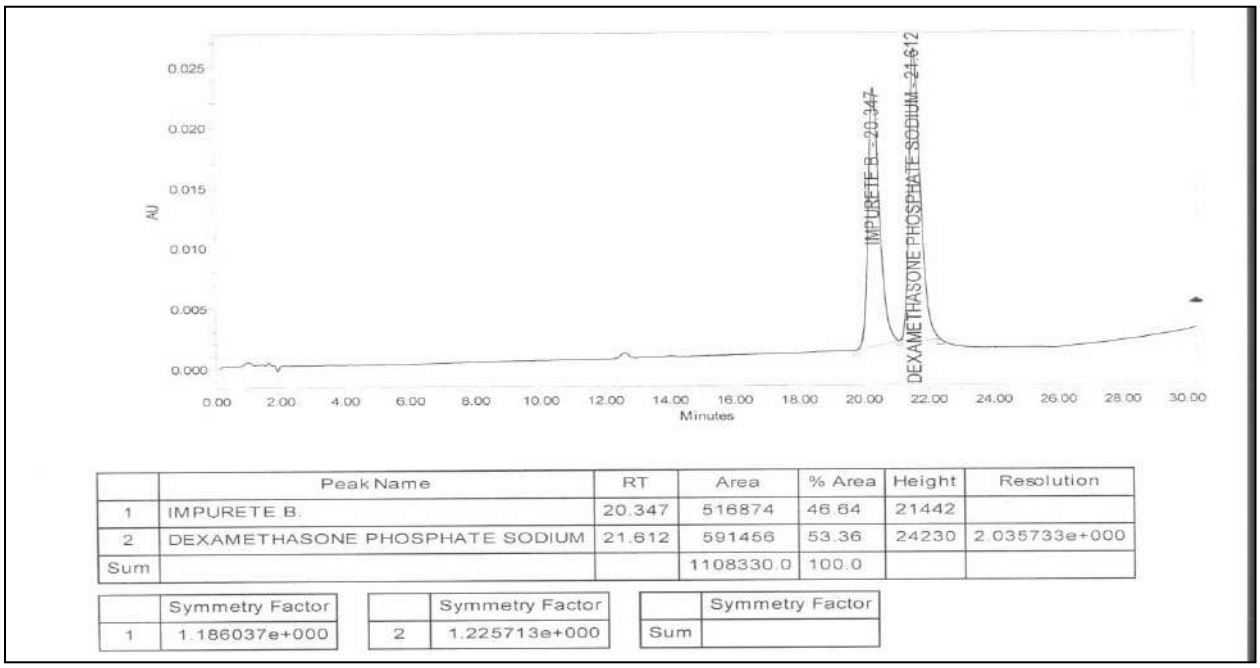
Tableau 10: les résultats obtenus d'après les chromatogrammes

	DEXAMETHASONE phosphate sodique	**DEXAMETHASONE phosphate sodiqueSCR**
TR (min)	8.591	8.468
Aire ()	1628049	1614049.4

D'après ces résultats on trouve que le dosage de DEXAMETHASONE phosphate sodique est égal*e* 98.48% *enspa*, ainsi que leur pureté égale 92.80% ce qui prouve que le principe actif DEXAMETHASONE phosphate sodique répond aux normes exigées par la pharmacopée respectivement (97 à 102) % en Sba.

1.1.9. Les substances apparentées (par HPLC) :

Après l'exécution on obtient trois chromatogrammes 22, 23, et 24 :



	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Resolution
1	IMPURETE B.	20.347	516874	46.64	21442	
2	DEXAMETHASONE PHOSPHATE SODIUM	21.612	591456	53.36	24230	2.035733e+000
Sum			1108330.0	100.0		

	Symmetry Factor
1	1.186037e+000

	Symmetry Factor
2	1.225713e+000

	Symmetry Factor
Sum	

Figure 22 : le chromatogramme de la solution de témoin (a)

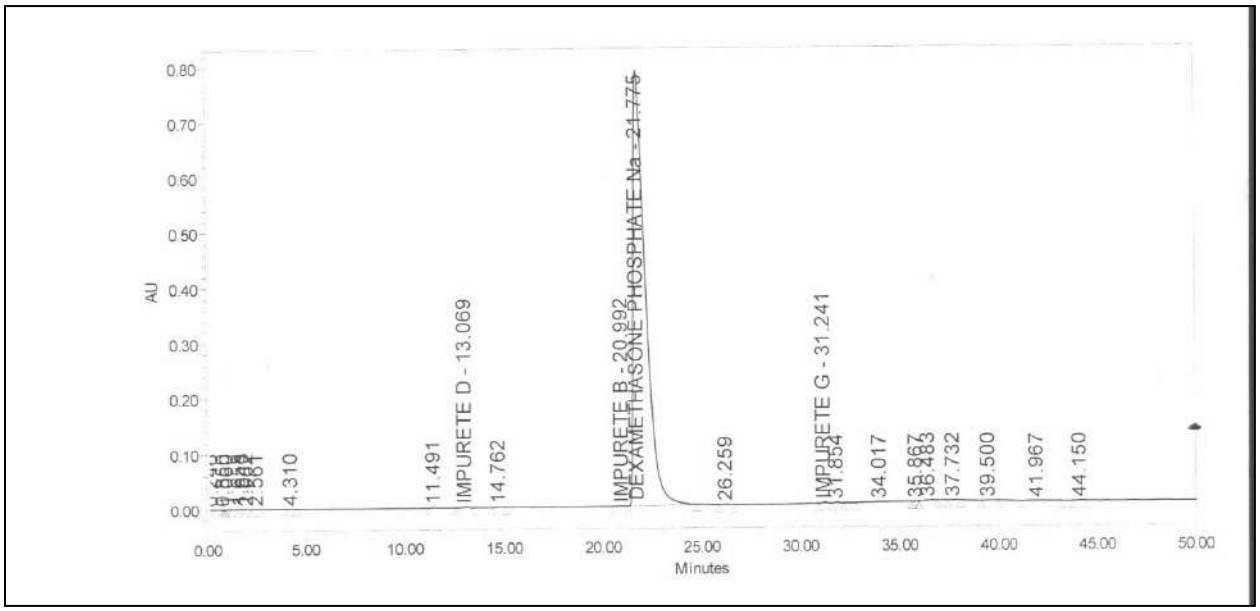
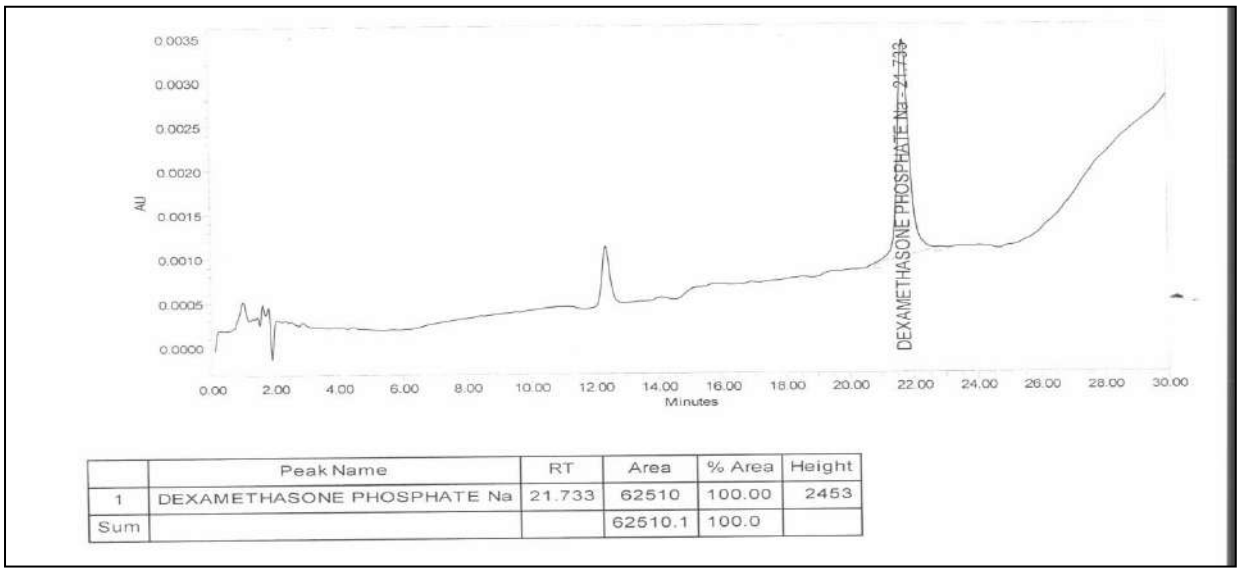


Figure 23 : le chromatogramme de la solution de témoin (b)



	Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1	DEXAMETHASONE PHOSPHATE Na	21.733	62510	100.00	2453
Sum			62510.1	100.0	

Figure 24: le chromatogramme de la solution de témoin (c)

Les limites d'exclusion des pics est 0.5 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (0.05 pour cent) ont été éliminés selon les spécifications mentionnées dans le mode opératoire spécifique.

Le temps de rétention relatif pour chaque impureté (A, B, et D) a été déterminé (Annexe) et les résultats de l'identification des substances apparentées sont résumés dans les tableaux 11 et 12.

Le temps de rétention de DEXAMETHASONE phosphate sodique d'après le chromatogramme de la solution à examiner (c) égale à 22.363 min et suite aux rapports à des temps de rétention relative TR au pic du principe actif, on trouve les résultats suivantes :

Tableau 11: identification des substances apparentées

Impureté	**C**	**D**	**E**	**F**	**B**	**A**	**G**	**Non spécifiques**
TR (min)	11.954	13.485	16.225	19.629	21.547	29.633	32.6	25.25
Pourcentage	0.5345	0.6030	0.7268	0.8877	0.9635	1.325	1.4577	//
Limites	0.5	0.6	0.8	0.92	0.95	1.37	1.41	0.1
Conformité	Conforme							

D'après le chromatogramme obtenu par la solution témoin (c), l'air de principe actif égal à 30416 et le temps de rétention égale à 21.733 min.

Tableau 12 : identification des substances apparentées (suite)

Impureté	***A***	***G***	***B***	***C***	***D***	***E***	***F***	***Non spécifiques***	***Totale***
Air	19334	5290	14505	8471	30468	35085	3189	24129	109016
teneur%	0.064	0.02	0.05	0.03	0.1	0.12	0.01	0.08	0.36
limite≤	0.5	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1
Conformité	Conforme								

Les résultats obtenus confirment que les aires des différentes impuretés dans le principe actif pour ce lot testé sont conformes à la norme du mode opératoire spécifique.

1.2.Mélange final

1.2.1. Détermination du pH

Le pH du mélange final est 7.72 c'est un pH neutre qui se trouve dans l'intervalle (de 7.5 à 9.5) exigé par le mode opératoire spécifique, ce qui donne leur conformité.

1.2.2. Le dosage par HPLC

La teneur de la DEXAMETHASONE phosphate est 4.11 mg/ml qui se trouve dans l'intervalle (de 3,6 à 4,6) exigé par lemode opératoire spécifique, ce qui donne leur conformité.

1.3.Le produit fini

1.3.1. L'aspect

L'observation visuelle des ampoules de DEXASONE 4mg/ml est répondue aux spécifications décrites dans le mode opératoire spécifique, c'est que les ampoules en verre transparent contenant un liquide limpide, inodore.

1.3.2. Identification CCM

La tache sur la plaque correspondante à celui du standard de référence donc notre médicament contient le principe actif.

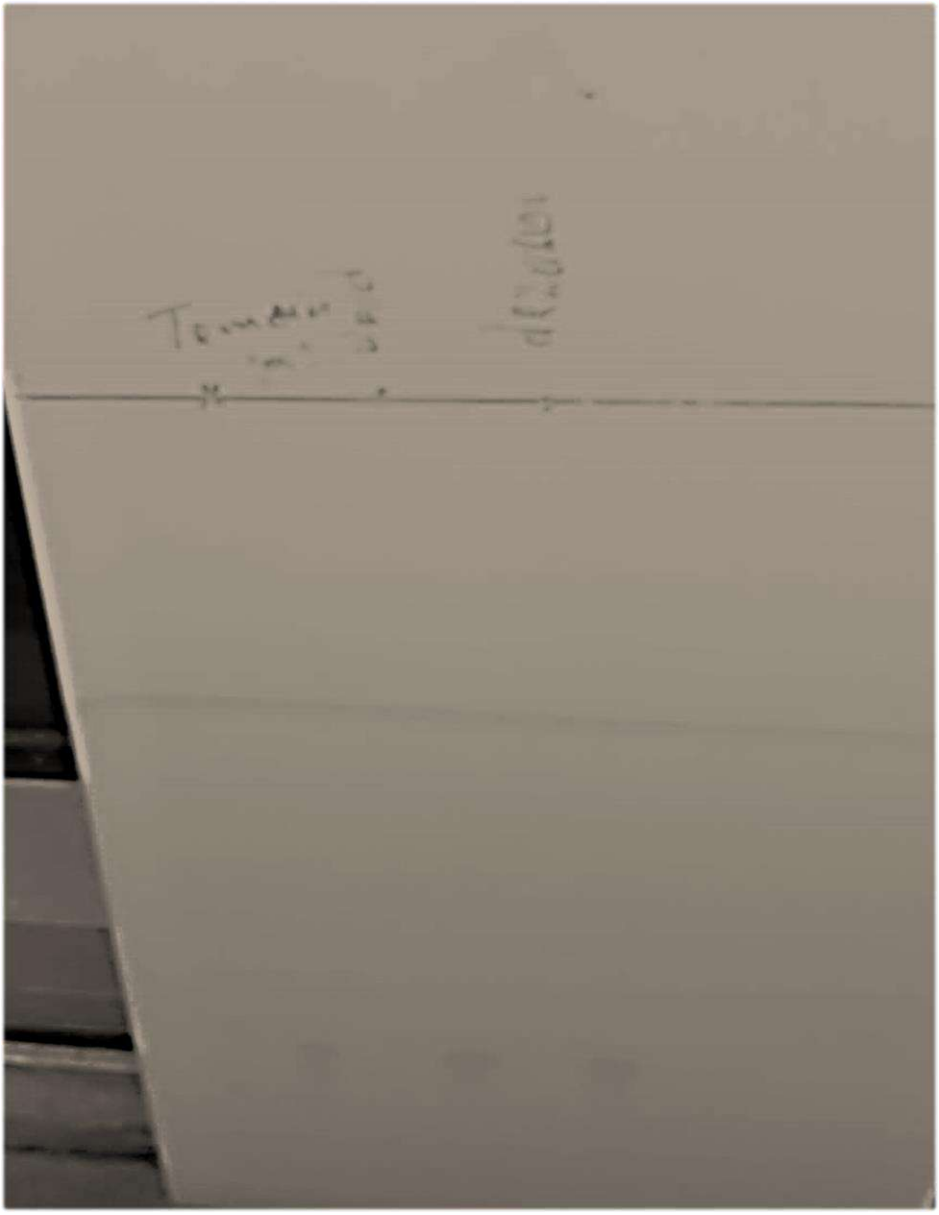


Figure 25: les taches d'UNIDEX et DEXAXONE et le standard.

1.3.3. Volume extractible

Le volume moyen de ces ampoules est 5.30 ml (figure 26) qui se trouve dans l'intervalle (de 5 à 5.5 ml) exigé par le mode opératoire spécifique, ce qui donne leur conformité



Figure 26: mesure de volume de contenant de 5 ampoules.

1.3.4. Détermination du pH

Le pH de la solution DEXASONE 4 mg/ml est 7.6 à 19.4 °C c'est un pH neutre qui se trouve dans l'intervalle exigé par le mode opératoire spécifique (de 7 à 8.0) ce qui donne leur conformité.

1.3.5. Contaminations particulaire

Apres l'exécution du programme on trouve 1301.6 particules de diamètre 10 µm et 24.8 particules de diamètre 25 µm (tableau 13) ce qui prouve que le produit fini DEXASONE 4 mg/ml est répond aux normes exigées par le mode opératoire spécifique respectivement (de 0 à 6000 particules par récipient) et (de 0 à 600 particules par récipient).

Tableau 13 : les résultats des 4 reprises.

N° d'exécution	*Taille de la particule (µm)*	*Compte cumulatif*	*Particules par récipient*
Exécuter 1	10	4290	1716
	25	210	84
Exécuter 2	10	3204	1281.6
	25	78	31.2
Exécuter 3	10	3402	1360.8
	25	54	21.6
Exécuter 4	10	3156	1262.40
	25	54	21.60
Moyenne	10	3254	1301.6

	25	62	24.8

1.3.6. Identification et dosage par HPLC

Après l'exécution on obtient deux chromatogrammes suivant :

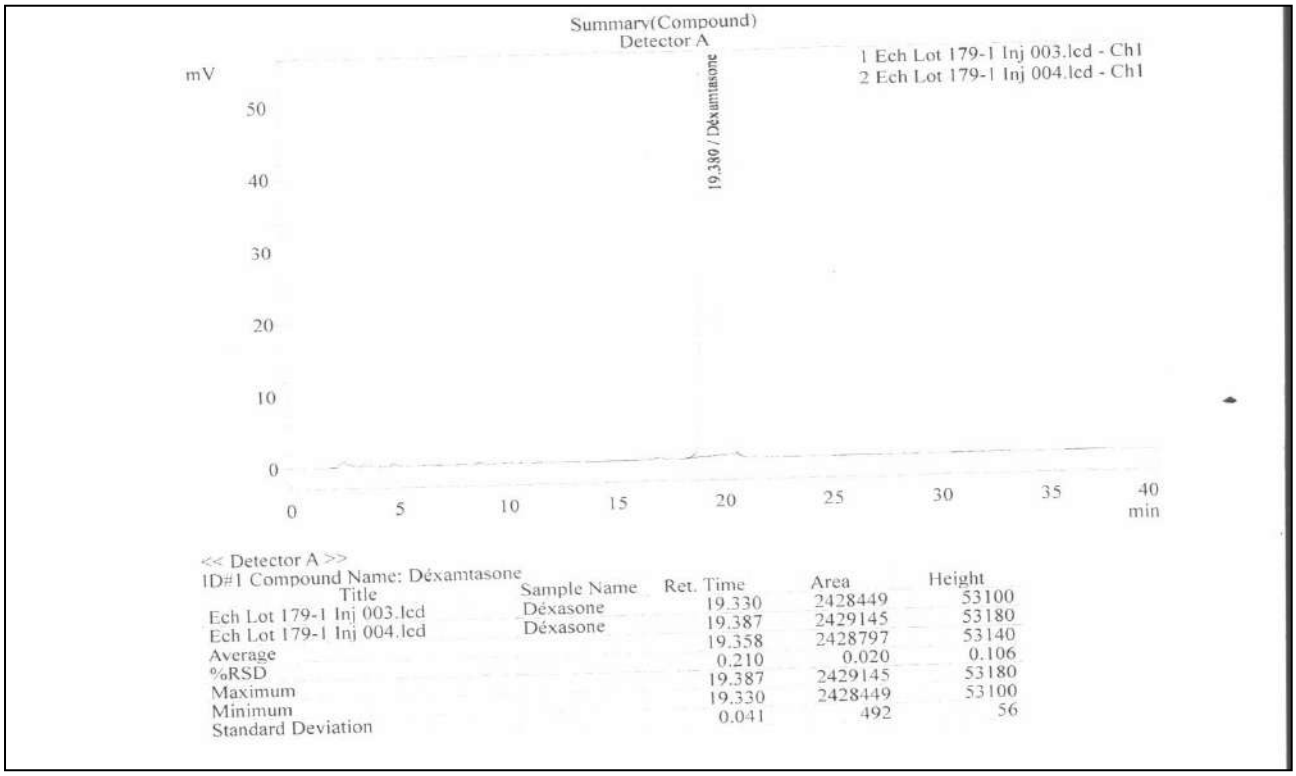


Figure 27: chromatogramme de la solution échantillon (DEXASONE 4 mg/ml)

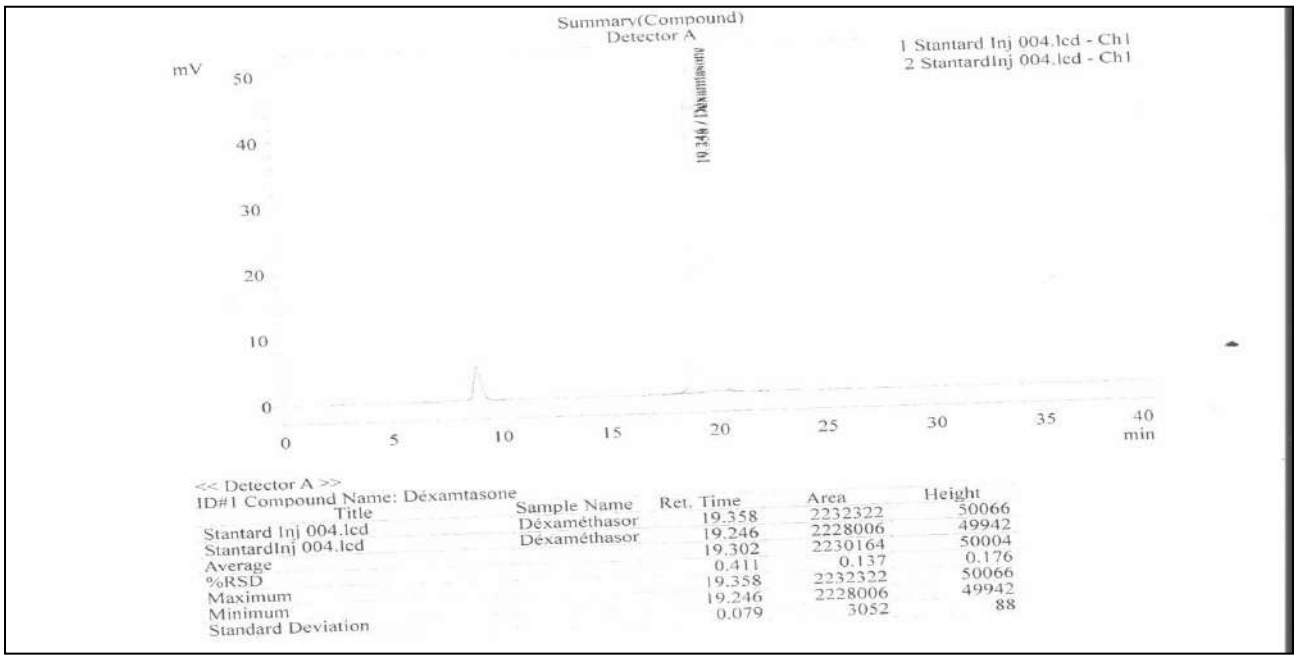


Figure 28: Chromatogrammede la solution standard (DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR)

Le chromatogramme de la solution échantillon identifié par HPLC (figure 27) a été comparé avec le chromatogramme de la solution standard (figure 28).

Les deux résultats obtenus montrent que les pics principaux ont presque le même temps de rétention (TR=19.3min), ce qui prouve que le produit fini DEXASONE 4 mg/ml est conforme est on peut calculer leur teneur en mg/ml dans la portion de la solution injectable prise selon la formule suivante :

$$T\left(\frac{\text{mg}}{\text{Ampoule}}\right) = \frac{\text{Se} \times \text{Cst} \times \text{De} \times \text{Mr1} \times \text{Vm} \times \text{P}}{\text{Sst} \times \text{Ve} \times \text{Mr2}} \dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots\dots (1)$$

Avec

- ✓ T : Teneur de la DEXAMETHASONE phosphate en mg/ml.
- ✓ S_e : Surface de la solution échantillon.
- ✓ S_{st} : surface de la solution standard.
- ✓ C_{st} : Concentration de DEXAMETHASONE phosphate de sodium RS dans la solution standard en mg/ml.
- ✓ V_e : Volume de 'échantillon prélevé en ml.
- ✓ D_e : Dilution de l'échantillon en ml
- ✓ M_{r1} : masse moléculaire de DEXAMETHASONE phosphate : 472.44.
- ✓ M_{r2} : masse moléculaire de DEXAMETHASONE phosphate de sodium : 516.40.
- ✓ P : puissance de la DEXAMETHASONE phosphate sodique en mg/mg

✓ V_m : Volume moyen en ml.

Tableau 14 : les résultats obtenus d'après les chromatogrammes

	Solution échantillon	***Solution standard***
TR (min)	19.330	19.358
Aire ()	1628049	1521174

D'après ces résultats on trouve que le dosage de DEXASONE4 mg/ml est 3.95mg/ml cette valeur représente 98.84% du déclaré, ainsi que leur pureté égale 93.08% ce qui prouve que le produit fini DEXASONE 4 mg/ml est répond aux normes exigées par le mode opératoire spécifique respectivement (3,6 à 4,6) mg/ml et (90,0% à115, 0%) du déclaré.

2. Contrôles microbiologiques

2.1.Contrôle de stérilité

L'observation quotidiennement au cours de la durée d'incubation des milieux de cultures (figure 29) ne déceler aucune signes macroscopiques de prolifération ou bien croissance microbienne dans les deux unités stéritest, qui se manifestent par une turbidité du milieu et changement de couleur ce qui nous donne un résultat satisfaisant, conformes à la norme.

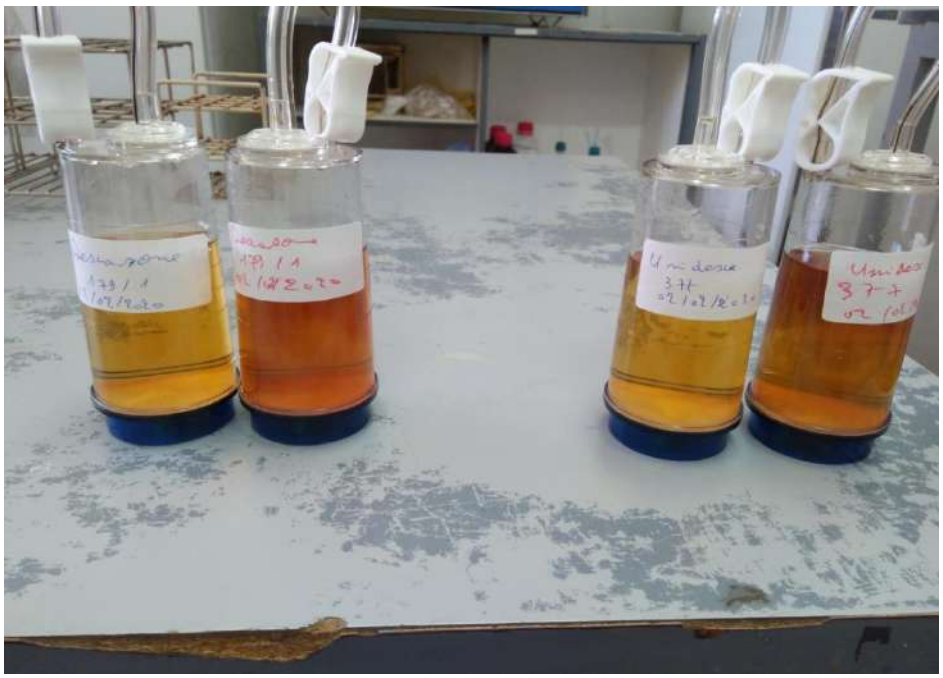


Figure 29 : contrôle de stérilité de DEXASONE 4 mg/ml et UNIDEX 4 mg/ml.

2.2.Contrôle de fertilité

Après 48 heures d'incubation, on a observé un trouble et un changement de couleur (figure 30) dans les deux unités stéritest ensemencées par rapport aux témoins, ce ci nous permet de dire que les deux médicaments DEXASONE 4 mg/ml et UNIDEX 4 mg/ml sont totalement disparu avec les rinçages dans l'unité steritest.

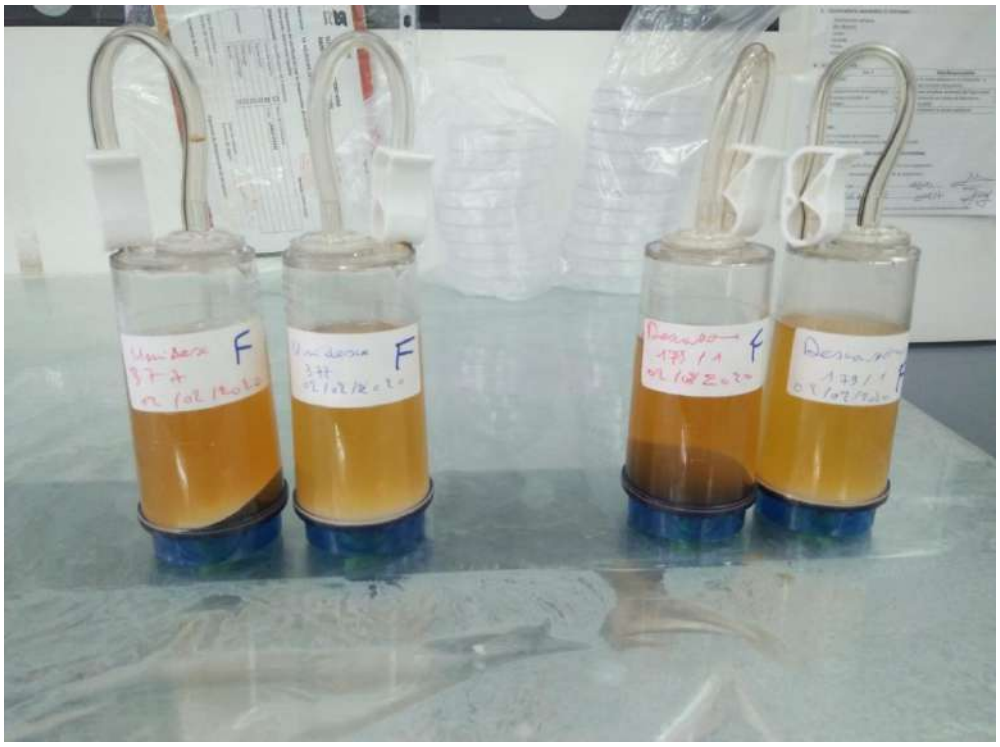


Figure 30 : contrôle de fertilité de DEXASONE 4 mg/ml et UNIDEX 4 mg/ml.

3. Contrôle toxicologique

Après 1h d'incubation des tubes au bain marie sec, on a prélevé et tourne chacun de ces tubes d'une façon incline d'où on a observé que :

Dans les tubes numérotés 1, 2, 7 et 8 : il n'ya pas formation de gel (figure 31) alors : résultats négatifs ce qui nous indique qu'il a absence d'Endotoxines.

Le tube 3, 4, 5 et 6 : il y a formation de gel (figure 32) alors résultat positif ce qui explique la présence d'endotoxines.



Figure 31: résultat négative, absence de gel.



Figure 32: Résultat positive, présente de gel.

4. Etudes d'UNIDEX 4 mg/ml

On a fait les contrôles physico-chimiques microbiologiques par les mêmes protocoles utilisés pour les contrôles du DEXASONE 4 mg/ml et les résultats sont illustrés dans le tableau 15 :

Tableau 15 : les résultats des contrôles effectués sur UNIDEX 4 mg/ml.

Test	***Résultat***
Aspect	Ampoule en plastique transparent contenant

	un liquide limpide, inodore.
Identification (CCM)	La tache correspondante à celuide standard de référence
Volume extractible (ml)	V=1.12 ml / limites (de 1 à 1.1)ml N'est pas conforme
Aspect de la solution	Une solution claire
Ph	7.5à 21 °C / limites (de 7.0 à 8.5) conforme
Identification par HPLC	Conforme
Contamination particulaire	205.0 particules de diamètre 10µm limites ≤6000 particules 1.9 particules de diamètre 25 µm limites ≤600 particules
Dosage par HPLC	4.2110 mg/ml
Contrôle microbiologique	Le produit est stérile (absence de contamination bactérienne et fongique)
Contrôle toxicologique	Le produit ne contient pas des endotoxines bactériennes

Les résultats de contrôle physico-chimique, microbiologique et toxicologique d'UNIDEX 4 mg/ml et de DEXASONE 4 mg/ml obtenus sont conforme à la norme de dossier pharmaceutique (monographie interne de SAIDAL), ce qui conforme encore une fois la bonne qualité des matières et la bonne pratique des méthodes de la fabrication et que le produit est prêt à être mis dans le marché et à être utilisés par le consommateur.

5. Evaluation de la stabilité de DEXASONE et UNIDEX 4 mg/ml dans les conditions de stress

5.1. Mise en point d'une méthode de dosage de la DEXAMETHASONE phosphate sodique par UV-visible

A. Vérification de l'absorbance maximal (A_{max}) et la longueur d'onde maximale (λ_{max}) de chaque solution

Après la lecture par UV-visible on obtient les spectres représentés sur les figures 33, 34, 35 et 36.

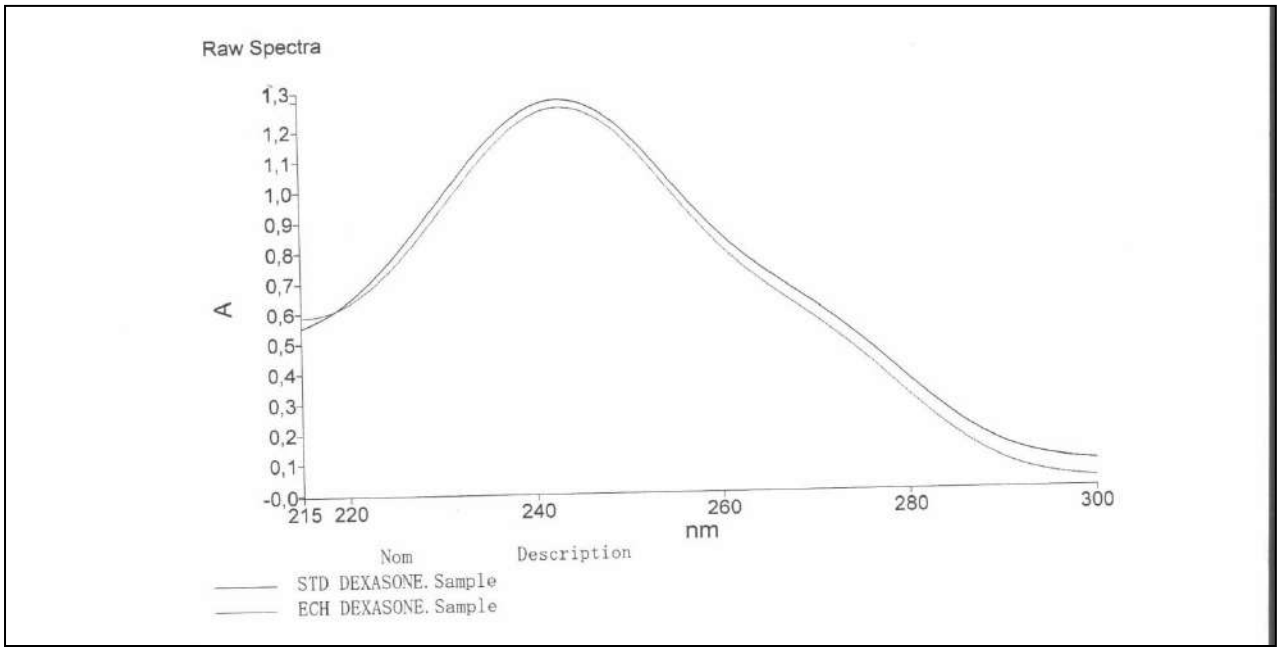


Figure 33: le spectre de solution A et B.

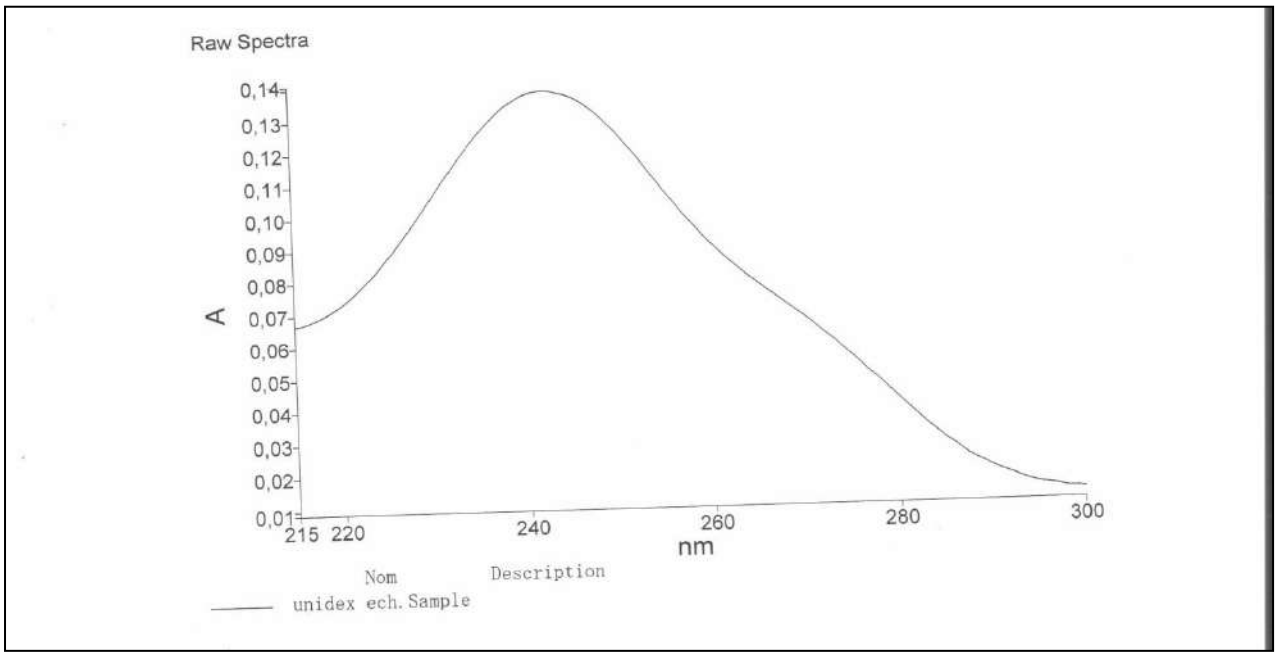


Figure 34: le spectre de la solution C.

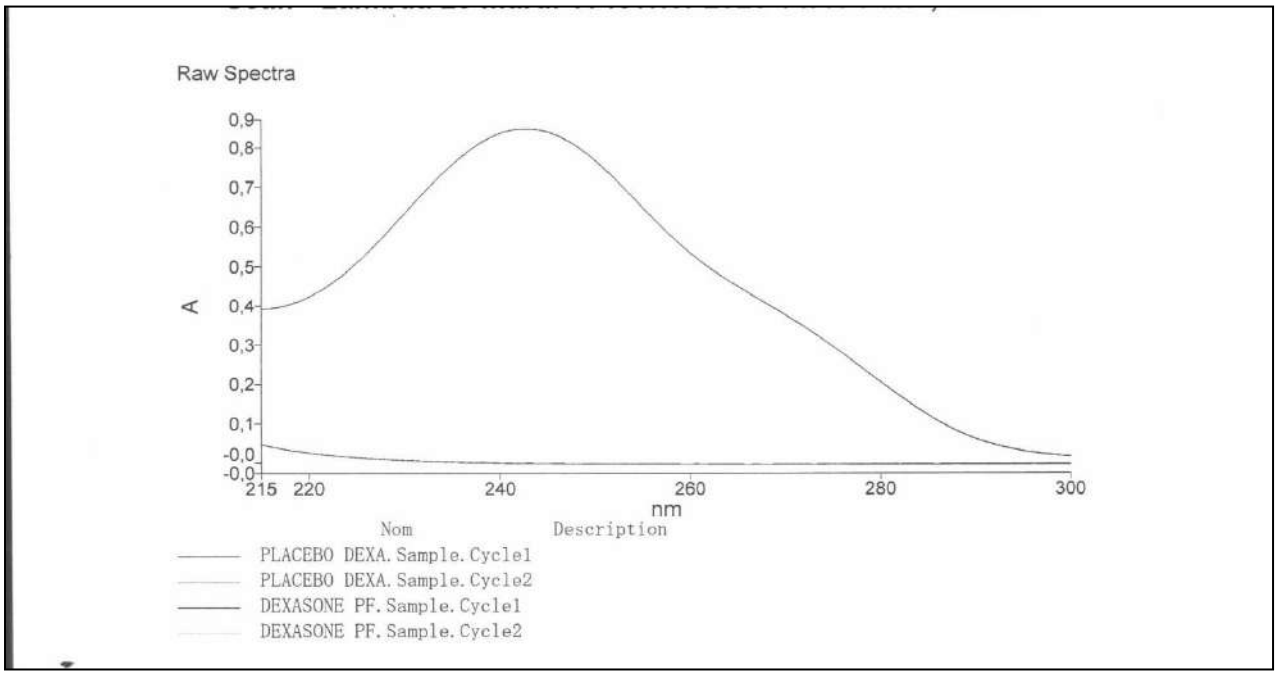


Figure 35 : le spectre de la solution B et D.

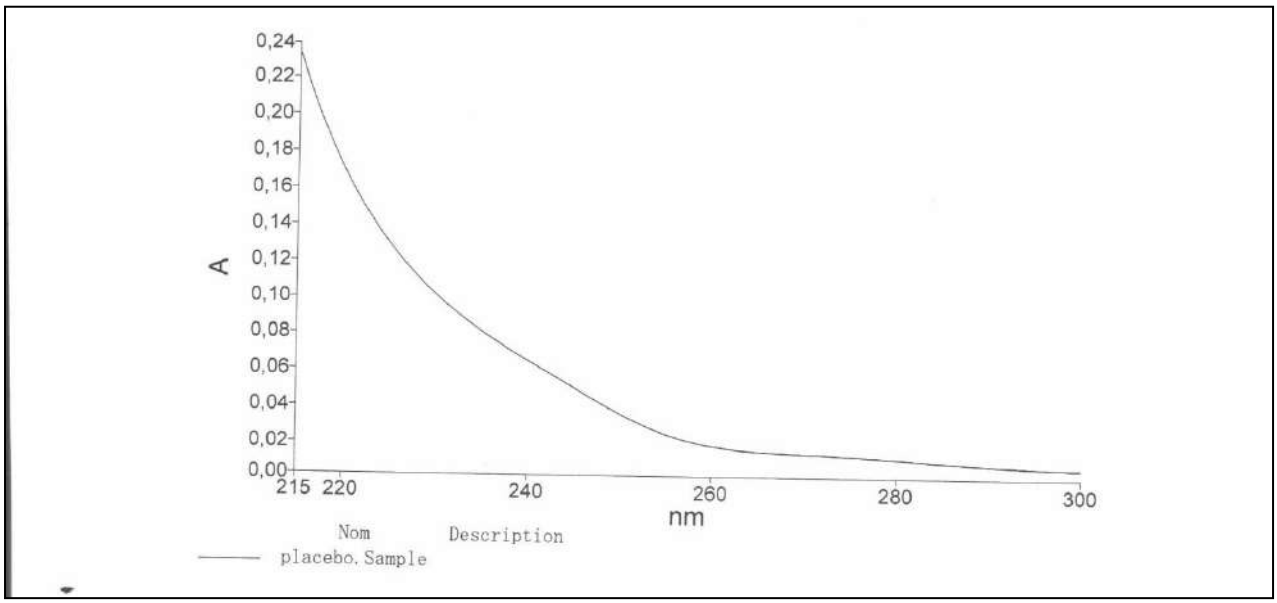


Figure 36: le spectre de la solution E.

Les spectres des solutions B (échantillon de DEXASONE) et C (échantillon d'UNIDEX) ont été comparé avec le spectre de la solution A (standard de DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR), ainsi que le spectre de la solution D (placebo pour DEXASONE) a été comparé avec le spectre de la solution B et le spectre de la solution E (placebo pour UNIDEX) a été comparé avec le spectre de la solution C dans le tableau 16.

Tableau 16 : comparaison des résultats des spectres.

Solution	***A***	***B***	***C***	***D***	***E***
A_{max}	0.110	0.120	0.140	Pas d'absorbance	Pas d'absorbance
λ_{max}**(nm)**	242.26	242.28	242.55	242	242

Les résultats obtenus montrent que les solutions principales ont presque le même absorbance maximale (A_{max}=0.1) dans le même longueur d'onde (λ_{max}=242 nm) ainsi que les solution des placebo n'ont pas aucune absorbance dans le même longueur d'onde, ce qui prouve que les excipients et les impuretés n'absorbent pas dans cette longueur d'onde, alors on peut réaliser une courbe d'étalonnage.

B. Réalisation d'une courbe d'étalonnage de DEXAMETHASONE phosphate sodique

Après la lecture on fait une courbe d'étalonnage des résultats suivants :

Tableau 17 : l'absorbance de DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR dans différentes concentrations.

C (mg/ml)	0.016	0.008	0.004	0.002	0.001
A	0.4481	0.2363	0.1269	0.0728	0.0408

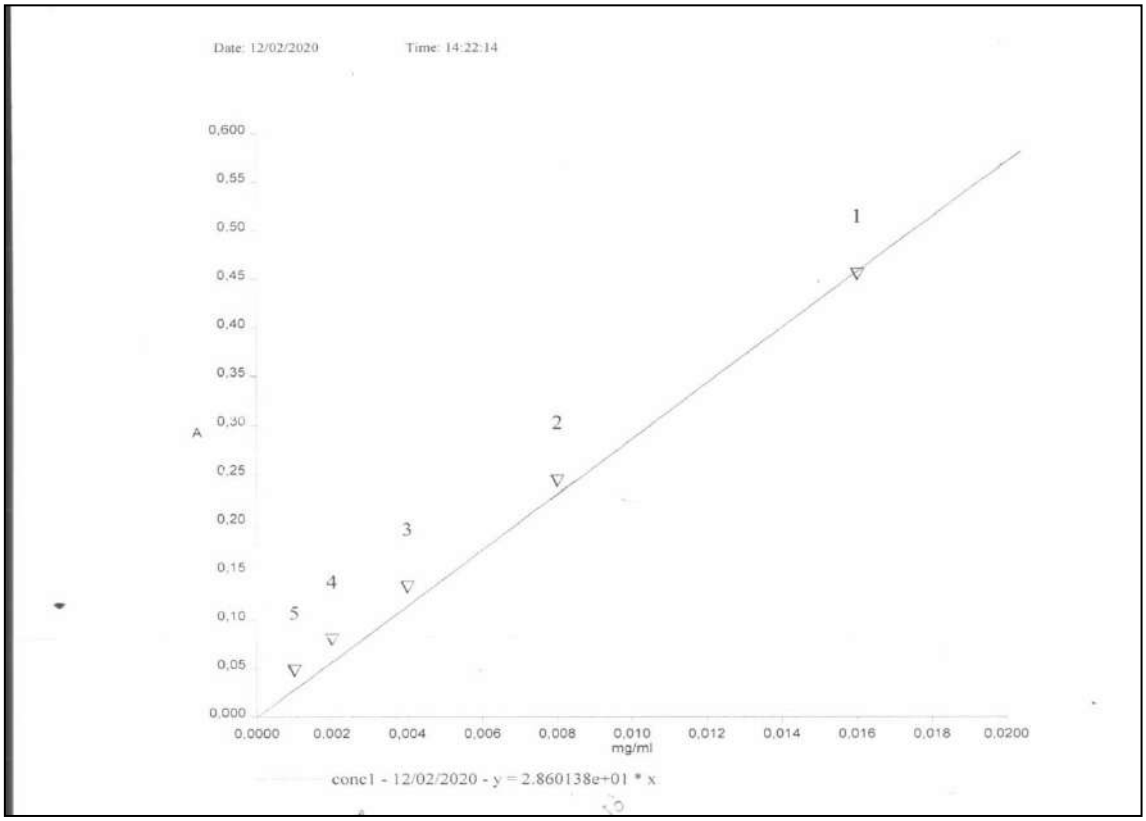


Figure 37: courbe d'étalonnage de DEXAMETHASONE phosphate sodique SCR

L'équation de cette courbe est $Y = 2.860138e + 01 \times X$, de coefficient de corrélation égale à 0.996789.

5.2.Etude de la cinétique de dégradation de deux produits finis « DEXASONE 4 mg/ml et UNIDEX 4 mg/ml » dans les conditions de stress

Après la lecture par UV-visible on obtient les spectres suivants :

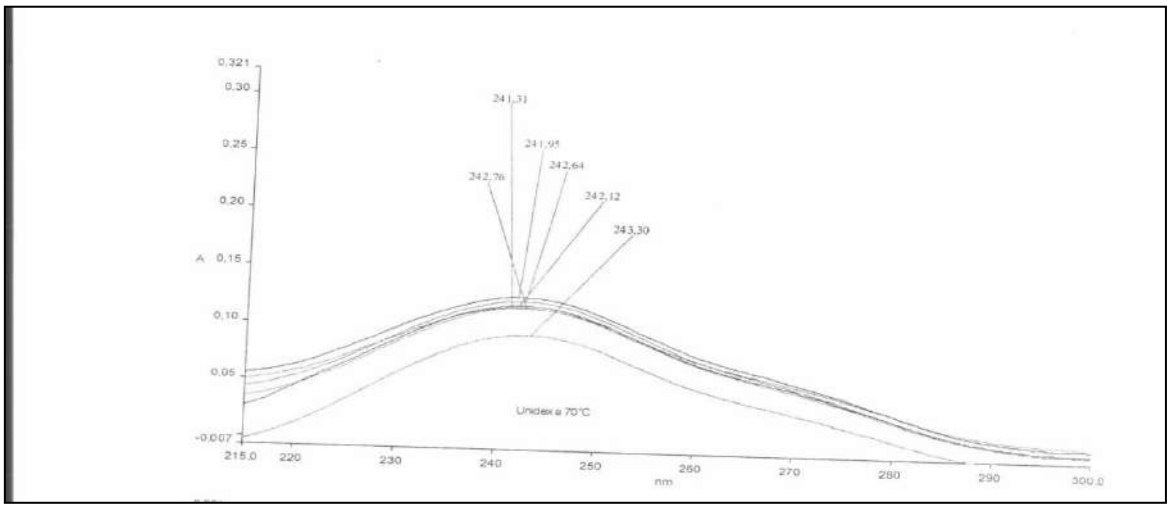


Figure 38: l'A^{max} d'UNIDEX 4 mg/ml sous 70 C° pendant 465 min.

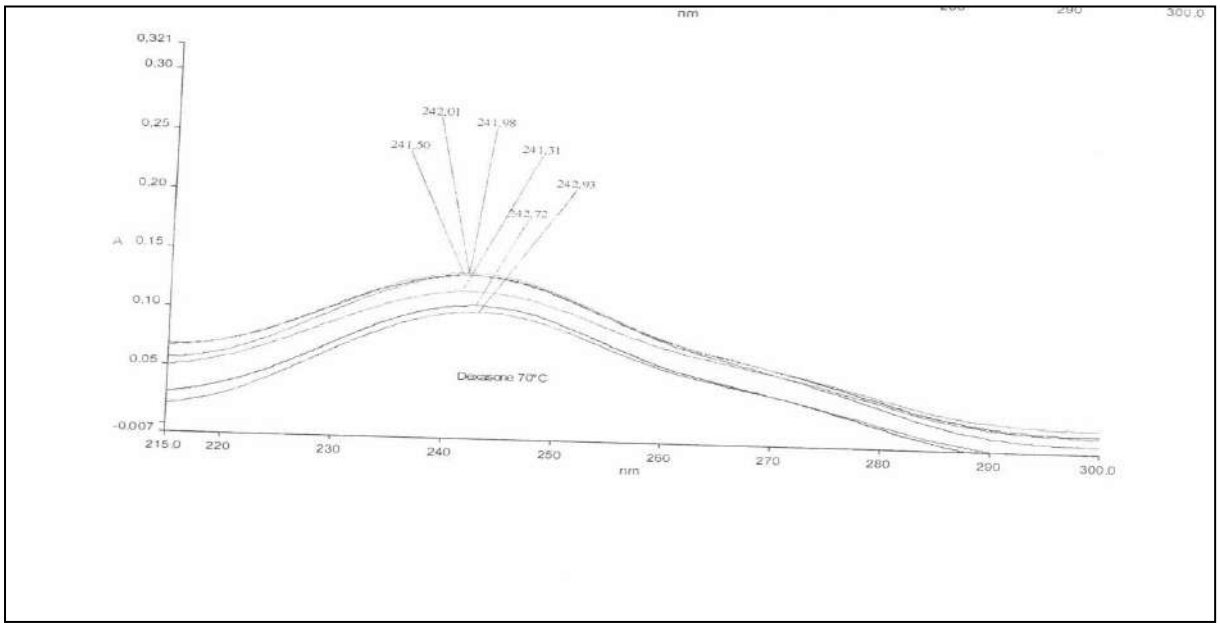


Figure 39: l'A^{max}de DEXASONE 4 mg/ml sous 70 C° pendant 465 min.

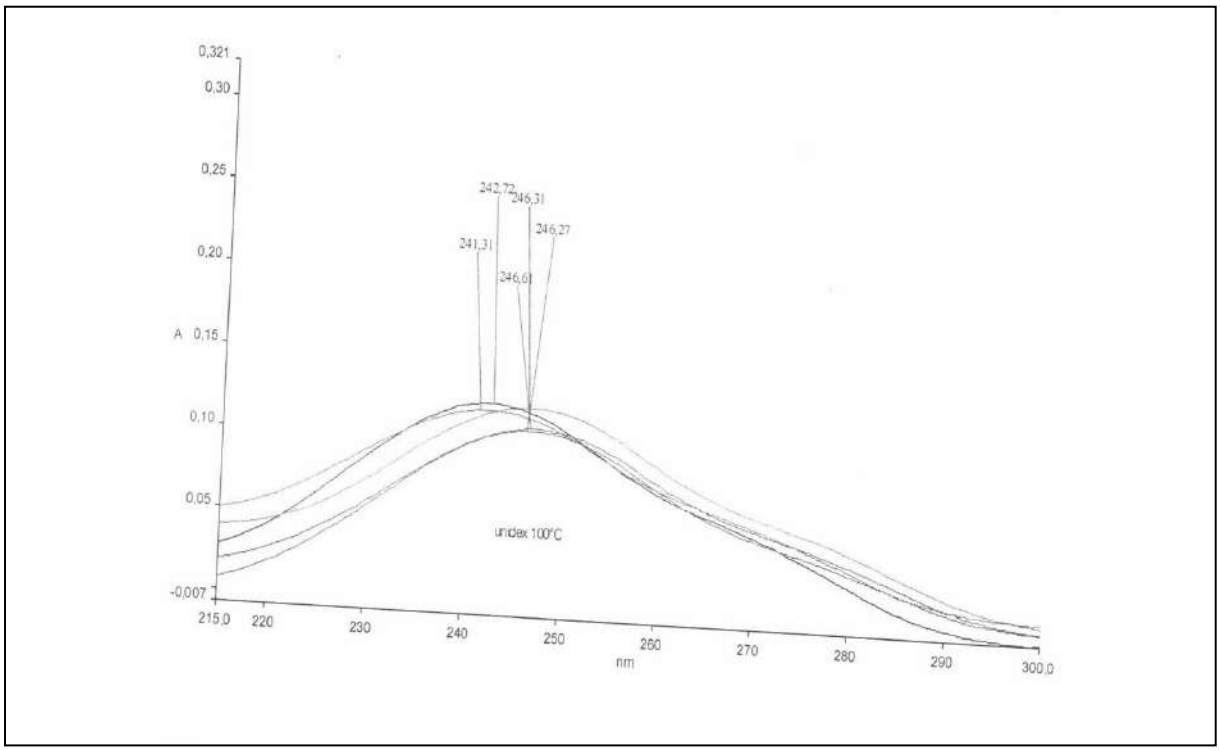


Figure 40: l'Amaxd'UNIDEX 4 mg/ml sous 100 C° pendant 120 min.

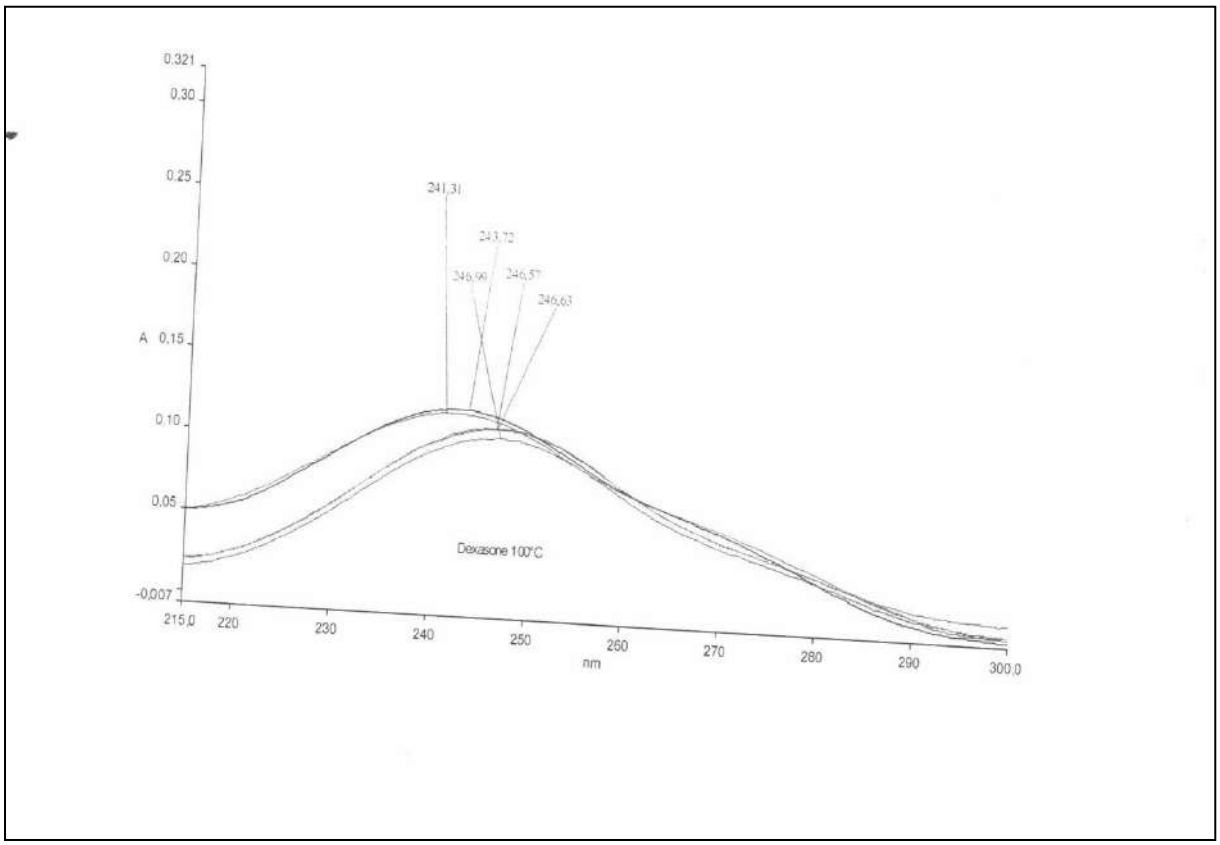


Figure 41: l'AmaxDEXASONE 4 mg/ml sous 100 °C pendant 120 min.

D'après les spectres de 70 °C (figure 38 et 39), on obtient l'absorbance de chaque échantillon dans la même longueur d'onde, alors on peut calculer la concentration de chaque solution à partir de l'équation de courbe d'étalonnage précédent (tableau 18 et 19) mais dans les spectres de 100 °C (figure 40 et 41), on obtient l'absorbance de chaque échantillon dans déférente longueur d'onde, alors on ne peut pas calculer la concentration de chaque solution à partir de l'équation de courbe d'étalonnage précédent car il est complètement dégradé.

Tableau 18 : les résultats de DEXASONE 4 mg/ml à 70°C.

Tps (min)	***0***	***15***	***45***	***105***	***225***	***465***
A	0.1356	0.1313	0.1310	0.1330	0.1002	0.0984
C (× 10^ − 3)mg/ml	4.7410	4.5906	4.5801	4.6501	3.5003	3.4403
Degré de dégradation (%)	0	3,1702	0,2287	0,8858	23,8919	25,6902

Tableau 19 : les résultats de UNIDEX 4 mg/ml à 70℃

Tps (min)	0	15	45	105	225	465
A	0.1303	0.1225	0.1262	0.1169	0.0931	0.0988
C (× 10^ − 3) mg/ml	4.5557	4.2830	4.4123	4.0872	3.2551	3.4543
Degré de dégradation (%)	0	3,1477	6,0781	10,6497	26,1346	31,9013

Après les calcules, on trace les courbes de dégradation (figure 42) pour les deux médicaments DEXASONE et UNIDEX à 70 ℃ :

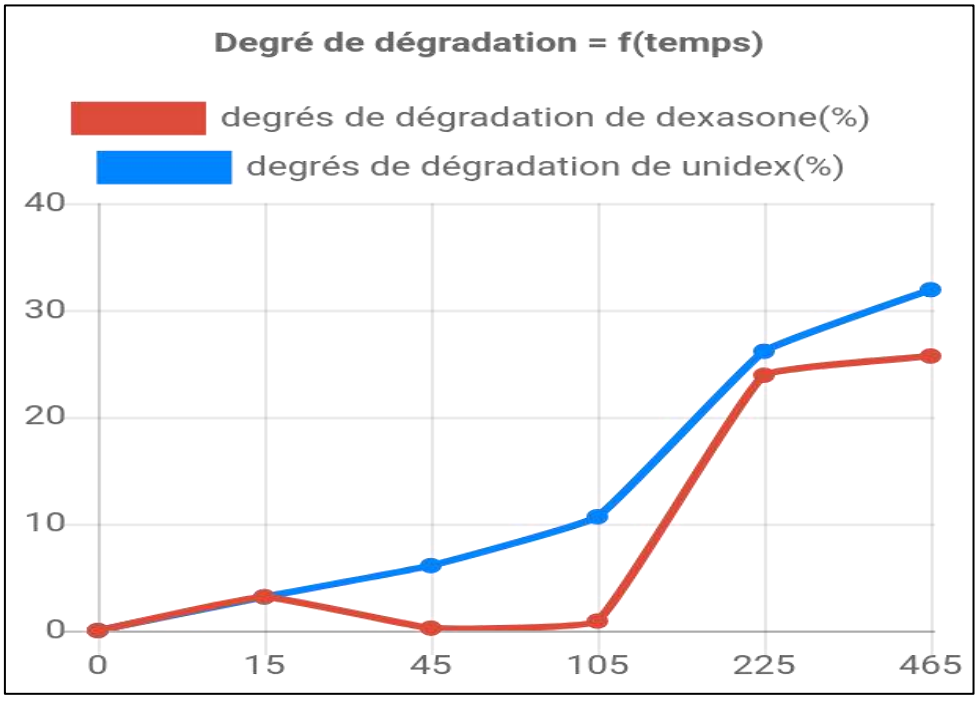


Figure 42: les courbes de dégradation de DEXASONE et UNIDEX à 70 °C.

D'après ces courbes, on trouve que la dégradation d'UNIDEX est plus rapide que la dégradation de DEXASONE dans le temps, cette dégradation est due à l'altération de principe actif ''DEXAMETHASONE phosphate sodique'' et ça peut être à cause des articles de conditionnement alors le verre de tube 1 est plus résistant que le plastique pharmaceutique.

6. Evaluation de l'activité anti inflammatoire de DEXASONE et UNIDEX 4 mg/ml in vivo

6.1.L'Activité anti-inflammatoire

Cette étude a pour but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire de DEXASONE et d'UNIDEX et faire la comparaison entre les deux produits injectables.

Réalisant le modèle de l'inflammation aigüe de la patte de souris induite par la carragénine, et pour cela nous avons testé sur ce modèle la solution de DEXASONE et la solution d'UNIDEX à une dose de 0,04 mg/ml/kg administré par voie intramusculaire, et les résultats obtenus ont été comparés à ceux du DICLOFENAC utilisé comme référence.

6.2.DEXASONE

L'injection d'un volume de carraguénine préparé dans une solution saline isotonique (NaCl, 0,9%), sous l'aponévrose postérieur gauche des souris albinos, induit la formation d'un œdème visible à l'œil nu.

L'œdème a été déterminé par une augmentation progressive du diamètre de la patte (Tableau 20) et caractérisé par un pourcentage d'augmentation qui est plus important chez la souris témoin, et est significativement diminué en présence de DEXASONE et du DICLOFENAC. L'activité anti-inflammatoire des solutions de traitement a été évaluée par la détermination du pourcentage d'inhibition de l'œdème caractéristique de chaque substance testée.

Tableau 20 : Diamètre de la patte après injection de la carragénine et traitement par la DEXASONE et le DICLOFENAC.

Temps (h) et le diamètre de la patte (mm)	**Etat initial T=0**	**30 min après l'Injection de carragénine T=1/2h**	**30 min après l'injection de DEXASONE et Diclofénac sodique T=1h**	**T=2 h**	**T=3 h**	**T=4 h**	**T=5 h**	**T=6 h**	**T=7 h**
1- la Sourie	1.55	2.59	2.60	2.65	2.82	3.08	3.12	3.13	3.07

témoin									
2- la Sourie standard	1.47	2.69	2.13	2.12	1.9	1.85	1.80	1.79	1.50
3- la Sourie traité par DEXASONE	1.40	2.74	2.56	2.11	1.86	1.68	1.55	1.45	1.43

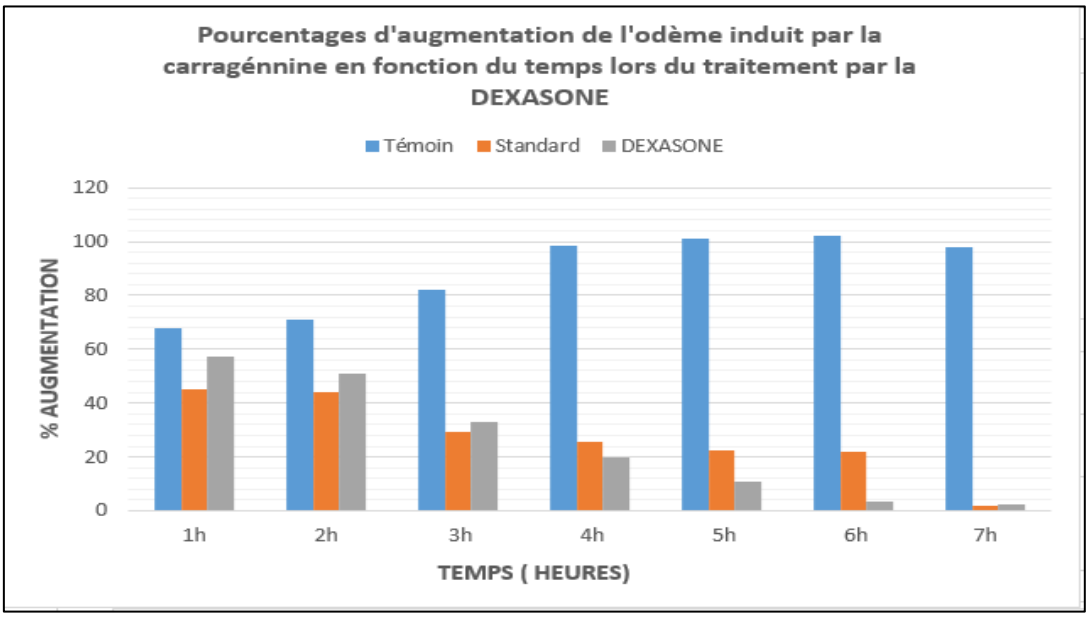


Figure 43: Pourcentages d'augmentation de l'œdème induit par la carragénine en fonction du temps lors du traitement par la DEXASONE et le DICLOFENAC.

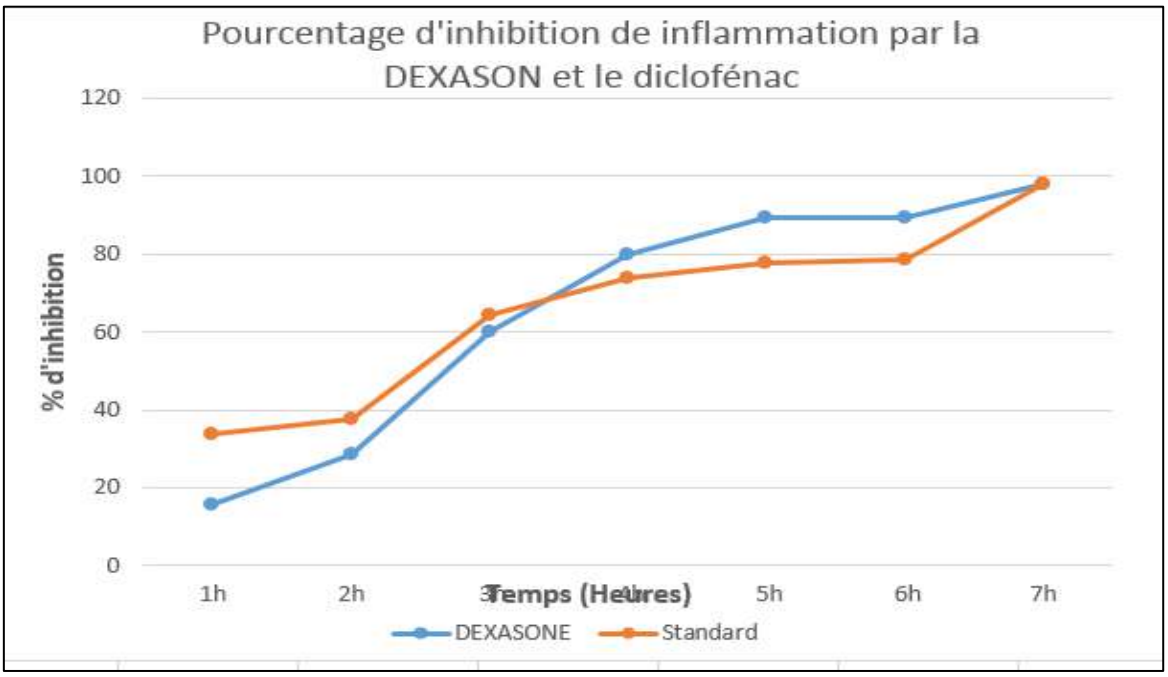


Figure 44: Pourcentage d'inhibition de l'inflammation par la DEXASONE et le DICLOFENAC.

Chez la souris témoin, une grande sensibilité envers la carragénine se présente, par une augmentation de l'œdème qui est proportionnelle au temps, cette augmentation s'élève de 67.74% à 101,93% dans les six premières heures, mais une légère diminution caractérise entre la sixième heure et la septième heure les heures qui suivaient (98.06 % à la septième heure). La souris traitée par le DICLOFENAC se manifeste par une diminution de la progression de l'œdème durant toutes les septe heures (diminue de 44,89 % à 2,04 %).

Le DICLOFENAC est caractérisé par un pourcentage d'inhibition maximal après sept heures (97.91%).

Cette évolution de l'œdème est significativement analogue à celle du lot traité par la DEXASONE, dont on observe une diminution de la progression de l'œdème durant toutes le septe heures allant de 57,14 % à 2,14%, respectivement.

Une inhibition maximale de l'œdème la DEXASONE (97,81 %) a été enregistrée à la septième heure. L'augmentation de l'œdème est significativement diminuée chez les souris traitées par la DEXASONE et le DICLOFENAC par rapport à la souris témoin.

6.3. L'UNIDEX

L'étude de l'activité anti-inflammatoire d'UNIDEX, a été évaluée par la mesure du diamètre des pattes des souris durant l'expérimentation (tableau 21) ce qui permet de calculer le pourcentage d'augmentation de l'œdème en fonction du temps et d'évaluer l'efficacité des traitements anti-inflammatoire à travers la détermination du pourcentage d'inhibition exhibé par chaque substance.

Tableau 21:Diamètre de la patte après injection de la carragénine et traitement par l'UNIDEX et le diclofénac.

Temps (h) et le diamètre de la patte (mm)	**Etat initial T=0**	**30 min après l'Injection de carragénine T=1/2h**	**30 min après l'injection d'UNIDEX et Diclofénac sodique T=1h**	**T=2 h**	**T=3 h**	**T=4 h**	**T=5 h**	**T=6 h**	**T=7 h**
1- la Sourie témoin	1.55	2.59	2.60	2.65	2.82	3.08	3.12	3.13	3.07
2- la Sourie standard	1.47	2.69	2.13	2.12	1.9	1.85	1.80	1.79	1.50
3- la Sourie traité par UNIDEX	1.52	2.56	2.1	2.06	2.03	1.91	1.77	1.63	1.53

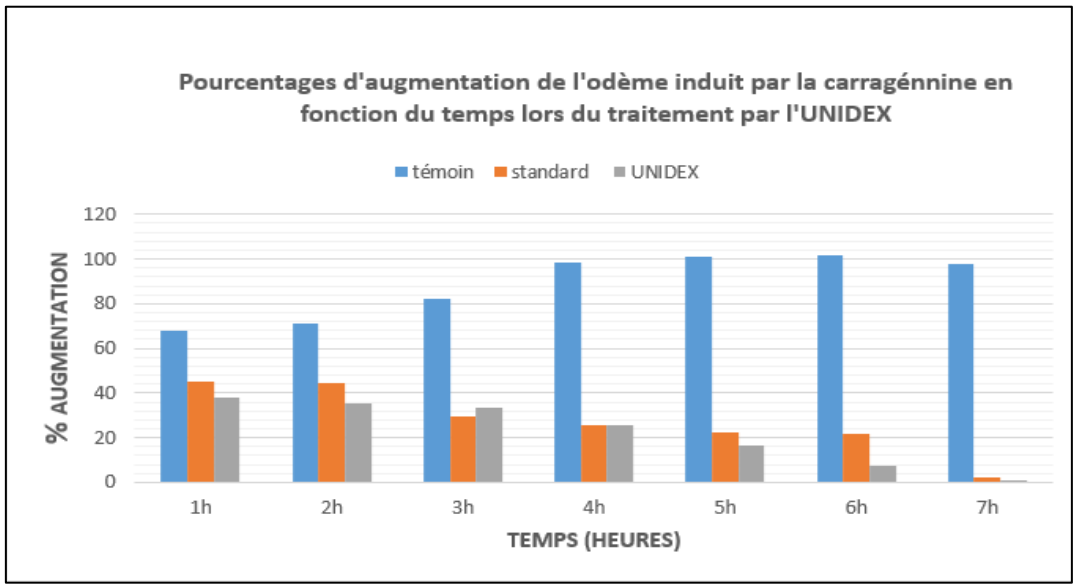


Figure 45: Pourcentages d'augmentation d'œdème, en présence d'UNIDEX et le DICLOFENAC.

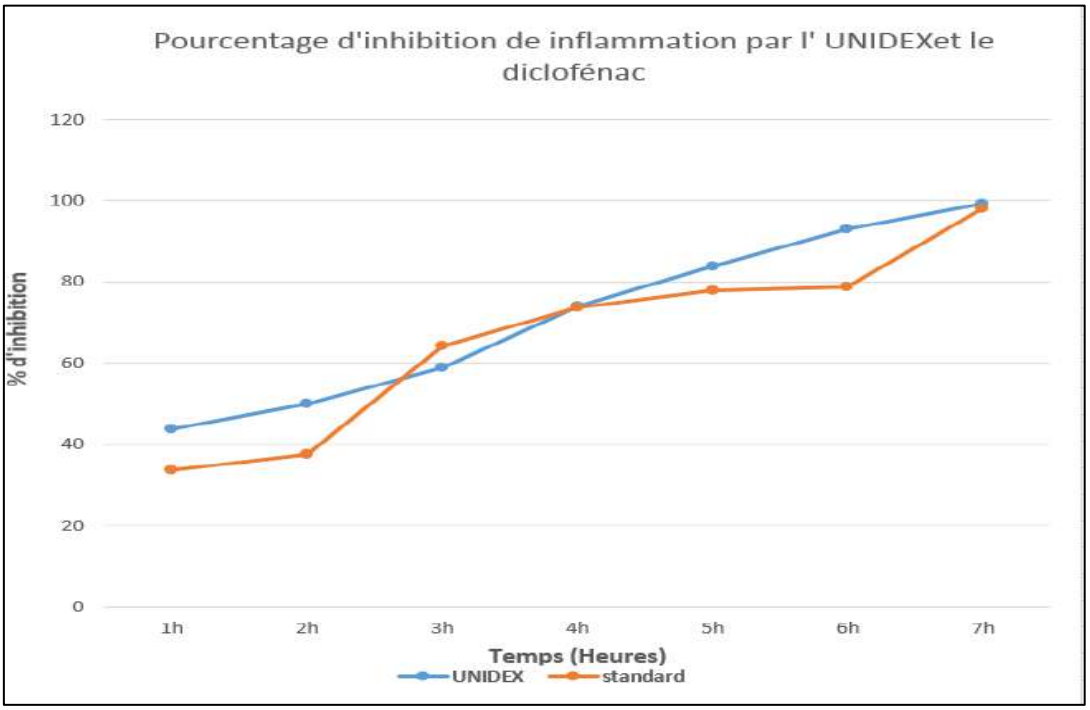


Figure 46: Pourcentages d'inhibition de l'œdème par l'UNIDEX et le DICLOFENAC.

L'administration de l'UNIDEX a significativement diminué l'augmentation de l'œdème par rapport au témoin durant toutes les septes heures, allant respectivement de 38.15% à 0.65 %.

L'UNIDEX a exhibé un pourcentage d'inhibition maximal de 99,32% à la septième heure qui suivait l'injection de la carragénine.

Conclusion générale

Au cours de notre travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de la qualité et l'efficacité d'un corticoïde sous forme de deux solutions injectables (princeps et son générique) : UNIDEX 4mg/ml produit par UNIMED et DEXASONE 4mg/ml produit par la société pharmaceutique SAIDAL.

Pour cela, il était impératif de contrôler la matière première (DEXAMETHASONE phosphate sodique), le produit semi-fini (DEXASONE) et le médicament (DEXASONE et UNIDEX) sur le plant physico-chimique, microbiologique et toxicologique

Le contrôle physico-chimique de la matière première nous a permis de vérifier l'aspect, la solubilité, le pH et le pouvoir rotatoire spécifique qui sont conforme à la pharmacopée européenne 2017, 9ème édition, les résultats nous ont permis de conclure que les conditions de conservation, de transport et de stockage de ses matières premières ont été bien respectées.

Le contrôle physico-chimique du principe actif et des excipients est basé sur :

- La vérification de la pureté, réalisée par une série d'essais (la teneur en eau, les phosphates inorganiques et les substances apparentés par HPLC)
- Le dosage du principe actif par HPLC a permis de déterminer leur titre afin de s'assurer que le produit est bien présent en quantité conforme à celle annoncé.

Le control physico-chimique de deux produits finis (Dexasone et Unidex) consiste à la détermination de l'aspect, le pH, le volume extractible, la contamination particulaire, et l'identification par CCM et HPLC.

Tandis que le contrôle microbiologique a relevé l'absence des formes aérobies viables totaux, des bactéries et des germes fongiques, dans les deux solutions injectables

Le contrôle toxicologique a relevé l'absence totale des endotoxinesproduites par des bactéries Gram-négatives.

Les résultats de l'étude de stabilité dans les conditions de stress montrent que les deux médicaments sont altérables à des températureselevés, sachant que le médicament UNIDEX se dégrade plus rapide que le médicament DEXASONE et ça peut être due aux articles de conditionnement.

En fin les résultats de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de la DEXASONE et d'UNIDEX effectuée sur les souris albinos permettre de les classer comme des corticoïdes douésd'activité anti-inflammatoire très forte.

En conclusion cette étude nous a permis de vérifier la qualité et de prouver l'éfficacité du DEXASONE (médicament générique produit par Saidal) parapport à un autre médicament de la même classe thérapeutique produit en Tunisi.

Annexes

1-Verreries et consommables

Pour les contrôles physicochimiques

- Fioles jaugées de10ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml et de 1000ml.
- Eprouvette de 5 ml, 500ml et de 1000ml.
- Pipette Jaugée de 1 ml, 2 et de 5 ml.
- Plaque pour la chromatographie couche mince (CCM).
- Papier filtre.
- Cuve CCM.
- Seringues.
- Les tubes à essais

Pour les contrôles microbiologiques

- Ciseaux.
- Seringues jetables de 5 ml.
- Filtre MILLEX 0.2 micron.
- Bidon en plastique pour éliminer les filtrats.

Pour les contrôles toxicologiques

- Pipettes lavées, déshydrogénées, stériles et dépyrogénées de 0.1ml, 1ml, 5ml et 10ml.
- Tubes en verre dépyrogénés pour LAL test 10x 75mm.
- Tubesà essai en verre 13x 100mm dépyrogénéspourdilution.
- Fioles déshydrogénées et dépyrogénées pour dilution.
- Carrés de parafilm.
- Seringues jetables, stériles et dépyrogénées.
- Porte-tubes.
- Chronomètre.

2. les produits

Pour les contrôles physicochimiques

- L’eau distillée.
- L’acide borique.
- L’hydroxyde de sodium.

- Chlorure de magnésium.
- Enzyme phosphatase alcaline.
- DEXAMETHASONE phosphate sodique standard.
- Chlorure de méthylène.
- Chloroforme.
- L'acide sulfurique.
- Phosphate de potassium monobasique 0.01 M.
- Méthanol.
- L'éthanol à 96 pour cent.
- chlorure de méthylène.
- l'eau exempte de dioxyde de carbone R.
- réactifmolydovnadique R.
- phosphate (PO4) R.
- l'acide phosphorique R.
- l'hydroxyde de sodium R.
- tétrahydrofurane R.
- l'acétate d'ammonium R.
- l'acide acétique R.

Pour les contrôles microbiologiques

- Désinfectant.
- Canisters.
- Souche de référence.
- Eau peptonée à 0.1% en flacon de 500 ml (type perfusion) stérile.
- Milieu au thioglycolate avec rézasurine en flacon de 100 ml stérile.
- Bouillon trypticase soja en flacon de 100 ml stérile.

Pour les contrôles toxicologiques

- **L'Eau pour réactif lysat d'amoebocyteslimulus (ERL)** : ne doit pas causer la gélation du lysat reconstitué.
- **Solution de I 'hydroxyde de Sodium NaOH0.1N pour le teste des endotoxines bactériennes (TEB)** : préparer à partir de NaOH en pastilles dans ERL pour ajustement du pH si nécessaire.

- **Solution d'acide hydrochlorhydriqueHCl de 0.1N pour TEB** : préparer à partir de HCl concentré dans ERL pour ajustement de pH si nécessaire.
- **Tampon tris-chloride pour TEB**: dissoudre 0.6057g de tris (hydroxyméthyl) méthylamine dans 30 ml d'ERL, ajouter 0.33ml d'HCI diluer jusqu'à 100ml avec ERL.
- **Réactif lysat d'amoebocyteslimulus (LAL)** : extrait aqueux provenant de Limulusamoebocytes qui est prévu pour la détection qualitative d'endotoxines par la méthode gel-caillot.
- **Lyophilisat d'endotoxines** : Contrôle de Standard des endotoxines (CSE) purifié d'Escherichia coli (E. Coli), qui est étalonné en unité en endotoxines (UE) par rapport au standard international.

3. Les équipements

L'unité ANTIBIOTICAL de groupe possède des équipements de contrôle très performants afin de répondre aux exigences des pharmacopées

Tableau 1 : Différents appareillages utilisés.

Nom	Matériels
spectrophotomètre infrarouge(IR)	

PH-mètre 827 PH lab	
Polarimètre	
Karl Fisher	

Compteur des particules HIAC 9703	

Chromatographe à haute performance phase liquide.waters 2489	

4. Identification des impuretés

Utilisez le chromatogramme fourni avec le phosphate sodique de DEXAMETHASONE pour identification des pics SCR et le chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) pour identifier les pics dus aux impuretésA, C, D, E, F et G ; utilisez le chromatogramme obtenus avec la solution témoin (a) pour identifier le pic du à l'impuretés B.

Rétention relative par rapport au phosphate sodique de DEXAMETASONE (temps de rétention environ 22 min) : impureté C = environ 0.5 ; impureté D = environ 0.6 ; impureté E = environ 0.8 ; impureté F = environ 0.92 ; impureté B = environ 0.95 ; impureté A = environ 1.37 ; impureté G = environ 1.41.

Limite :

Impureté A : au maximum 5 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (c).

Impureté G : au maximum 3 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (c).

Impureté B, C, D, E, F : pour chaque impureté, au maximum 2 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (c).

Impureté non spécifiées : pour chaque impureté, au maximum la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (c).

Impureté total : pour chaque impureté, au maximum la surface du pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (c).

5. Matériel animal pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de la DEXASONE et d'UNIDEX in vivo

- ✓ Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de la Dexasone et d'Unidex, nous avons utilisé des souris albinos males, pesant 21±2g, âgées d'environ 8 semaines, L'expérimentation a été réalisée au niveau l'animalerie de l'industrie pharmaceutique SAIDAL.

- ✓ Conditions d'élevage : les souris ont été répartidans des cages et ont été placées dans une animalerie soumises à 12 heures d'éclairage et 12 heures d'obscurité pour respecter
- ✓ l'alternance jour et nuit et maintenue à une température de 24±2°C.
- ✓ L'eau et l'aliment sont fournis à volonté.



Figure 47 : les souris albinos.

6. Appareillages et réactifs

- ✓ Une balance électronique.
- ✓ Seringue de 1 ml gradués.
- ✓ Un pied à coulisse électronique.
- ✓ Un chronomètre.
- ✓ solution de carragénine 0.2mg/ml.
- ✓ Une solution de DICLOFENAC sodique de 0.25 mg/ml.
- ✓ Solution dilué de DEXASONE et UNIDEX de 0.04mg/ml.

Bibliographique

[1] : Richard D, SenonJ.L, RoblotP.Corticoides et corticothérapie : chimie, pharmacologie et thérapeutique. Science et pratique médicales. Editions Hermann ; 1997.

[2] : La propriété anti-inflammatoire de la dexamethasone est disponible sur le site : http://www.chups.jussieu.fr/polys/pharmaco/poly/corticoides.html, Date de consultation (01/07/2020).

[3] : Mersellab.S, contrôle physico-chimique, microbiologique et toxicologique d'une solution injectable CLOFENAL 75mg/3ml, mémoire de master, Université de Djilali BOUNAMA, p1.

[4] : La définition de médicament princeps est disponible sur le site : https://www.eupati.eu/fr/glossary/medicaments-princeps/, date de consultation (23/07/2020)

[5] : D'après le document de l'Agence Nationale de Sécurité du médicament (ANSM) : « Médicaments génériques : lever l'opacité - Questions / Réponses » (17/12/2012).

[6] : Hir.A,Chaumeil.J.C,Brossard.D, Pharmacie galénique (Bonnes pratiques de fabrication des médicaments) Elsevier Masson, 9° édition,2009,p 4, p288.

[7] : DICKO.M, Étude comparative de la qualité des médicaments en spécialités et des génériques soumis pour l'obtention d'Autorisation de Mise sur le Marché malien de 2002 à 2005.thèse de doctorat, université de bamako, 2007, p 33.

[8] : Boulanger Thomas, Les Formes Pharmaceutiques et les voies d'administration 1 PHARMACIE GALENIQUE, Pharmacien IFSI – Mercredi 24 septembre 2014.

[9] : Daikh Takoua, Contrôle qualité physico-chimique et microbiologique de la FLUVASTATINE LDM 80 mg, mémoire de master, université de constantine1, 2017.

[10] : Assia Brahimi, aspect organisationnel d'un laboratoire de contrôle qualité valide pour la sous-traitance, mémoire de doctorat en pharmacie, université abou bekr belkaîd, 2018, p7.

[11] : Guide des bonnes pratiques de fabrication, agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, Décision du Directeur général de l'ANSM du 29 décembre 2015, modifiée par les décisions des 30 décembre 2016 et 6 mai 2019, France, p15.

[12] : Marret E, Tomberli F, Huynh TM, Bonnet F. CORTICOÏDES PERI-NERVEUX ET SYSTEMIQUES.

[13] : Les signes cardinaux de la réaction inflammatoire, est dispobinible sur le site : https://www.letudiant.fr/boite-a-docs/document/la-reaction-inflammatoire-manifestation-de-l-immunite-innee.html , date de consultation : 25/06/2020.

[14] : Caroline Barau, Docteur de URF de médecine de Créteil,pharmacologie et thérapeutique anti inflammatoire non stéroïdiens corticoïdes.

[15] : Lindsay B. la corticothérapie : précautions d'emploi et conseils à l'officine.étude sur la qualité de vie de patients sous corticothérapie prolongée.: Université de lorraine; 2015.

[16] : Représentation moléculaire du cortisol est dispobinible sur le site : https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-corticoide-3187/ date de consultation 15/05/2020

[17] : Jollin L. Glucocorticoïdes et pratique sportive : Effets sur la prise alimentaire, la composition corporelle et différentes sécrétions hormonales: Université d'Orléans; 2011.

[18] : Le fonctionnement des glandes surrénales est dispobinible sur le site : https://www.surrenales.com/les-glandes-surrenales/, date de consultation :15/05/2020.

[19] : Monassier. Les anti inflammatoires stéroidiens, Faculté de Médecine de Strasbourg, 2005.

[20] : WESCHLER B., ETIENNE S., CHOSIDOW O. et HERSONS«Corticoïdes en cure prolongée : De la théorie à la pratique» Edition Encyclopédie Médecine Chirurgie. Paris France Thérapeutique 25155A10 1991S.

[21] : DigestivesGdETdaI. Lescorticoides 2011.

[22] : Carraz J-C. Le sevrage de la corticothérapie au long cours: protocole et fiches de conseils 1999.

[23] : BenyoussefS, Hadiji R. Les corticoides en medicine veterinaire Service de Pharmacie &Toxicologie : Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, 2020 Sidi Thabet –Tunisie ;2016

[24] : OUZAID Farah Fatima zahra REKIOUK souhila,les indications des corticoides en péri-opératoirmémoire de fin d'etude pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, 20/06/ 2018, Univercité Aboubakr Belkaied,Telemcen

[25] : DIALLO C. Utilisation des corticoides chez les patients consultés en ambulatoire dans le service de chirurgie orthopédique et traumatologique. Universite de bamako, 2009.1991.

[26] : Dexamethasone solution injectable est dispobinible sur le site : https://theconversation.com/dexamethasone-what-is-the-breakthrough-treatment-for covid-19-140966 date de consultation : 03/07/2020.

[27] : La structure chimique de la DEXAMETHASONE est dispobinible sur le site : https://fr.wikipedia.org/wiki/Dexam%C3%A9thasone , date de consultation : 03/07/2020

[28] : Classe pharmaco thérapeutique du dexamethasone est dispobinible sur le site : http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/extrait.php?specid=62365493. Date de consultation : 04/07/2020.

[29] : Le mode d'action de La DEXAMETHASONE est dispobinible sur le site : https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2644127-dexamethasone-covid-

19-coronavirus-medicament-dectancyl-prix-indication-nom-commercial/ date de consultation : 04/07/2020.

[30] : la DEXAMETHASONE et le covid-19 est dispobinible sur le site : https://www.india.com/viral/indians-frantically-search-the-price-availability-of-dexamethasone-after-it-is-touted-as-the-first-life-saving-coronavirus-drug-4060541/ date de consultation : 04/07/2020.

[31] : Les indication d'utilisation de la dexamethasone est disponible sur : http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0284226.htm date de consultation : 05/07/2020.

[32] : Les indications thérapeutiques de la dexamethasone disponible sur : https://www.af3m.org/uploads/PDF/Guides/2006-IMF-La%20 dexamethasone%20 et %20autres%20stero%C3%AF des.pdf date de consultation 05/07/2020.

[33] : Le mode opératoire spécifique : DEXAMETHASONE (PHOSPHATE SODIQUE DE) de référence MO.SP-MED.LCQ.PC.MP.052, version 2, le document de référence est : la pharmacopée Européenne 2017,9^{éme} édition.

[34] : Hafis Meriem, Contrôle qualité d'un médicament générique anti-inflammatoire non stéroïdien « CLOGEL®1% », mémoire de master, universite m'hamed bougara – boumerdes, 2017, p25.

[35] : Guide technique pour l'élaboration des monographies Pharmacopée Européenne, Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé, 6° édition, 2011, p25,

[36] : F-Colomb, HPLC Principe et appareillage, Copyright © Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine, Académie de Rouen, date de publication : mercredi 20 janvier 2010, p 2 (article numérique Google)

[37] : Le mode opératoire spécifique : DEXASONE (SOLUTION INJECTABLE A 4 mg/ml) de référence MO.SP-MED.LCQ.PC.PF.084, version 2, le document de référence est le dossier pharmaceutique.

[38] : La stabilité des médicaments est disponible sur https://www.univ-sba.dz/fmed/images/La%20stabilit%20.pdf, date de consultation 22/07/2020.

[39] : MOUSSAOUI Hamid, YAHIAOUI M'hand, Evaluation in vivo, de l'activité anti-inflammatoire des extraits de feuilles de Fraxinusangustifolia et des sommités fleuries de Galium mollugo, memoire de fin d'etude master, universite abderrahmane mira de bejaia 2011/2012