

## LISTE DES ABREVIATIONS

**um**: micro mètre

**AMM**: Autorisation de Mise sur le Marché

**BP**: pharmacopée britannique

**BPF**: bonnes pratiques de fabrication

**BPL**: bonnes pratiques de laboratoire

**CLHP**: Chromatographie liquide haute performance

**COTRIM**: cotrimoxazole

**DCI**: Dénomination Commune Internationale

**DK**: Dakar

**EC**: électrophorèse capillaire

**ECB**: électrophorèse capillaire budget

**EIA –FR** : école d'ingénieurs d'architecture de Fribourg

**EM**: mobilité apparente

**EOF**: flux électroosmotique

**EP**: migration électrophorétique

**FDA**: Food and Drug Administration

**Furo**: furosémide

**H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>**: acide borique

**Hz**: hertz

**ICH**: Organisation Internationale d'Harmonisation

**ISO**: international organization for standardization

**KL**: Kaolack

**KS**: keur serigne bi

**KV**: kilo volt

**l**: litre

**LG:** louga

**LGI:** légion de la gendarmerie d'intervention

**LIF:** fluorescence induite par laser

**mbar:** kilo bar

**MeOH:** méthanol

**mM:** millimolaire

**mg:** milligramme

**min:** minute

**N:** espèce neutre

**NaOH:** hydroxyde de sodium

**pH:** potentiel hydrogène

**Phéno:** phénobarbital

**PM:** poids moléculaire

**QQN:** quinine

**RB:** roi beau Douin

**s:** seconde

**SIDA:** syndrome immuno-déficitaire acquis

**SL:** saint louis

**SM:** spectrométrie de masse

**OMS:** Organisation Mondiale de la Santé

**USP:** pharmacopée américaine

**UV:** ultra violet

**VIH:** virus immunodéficiences humaine

**TB:** touba

**VL:** Vélingara

**ZG:** ziguinchor

---

## LISTE DES FIGURES

---

<b>Figure 1</b> : structure chimique de la quinine.....	16
<b>Figure 2</b> : Structure chimique du furosémide.....	19
<b>Figure 3</b> : Structure chimique du sulfaméthoxazole .....	20
<b>Figure 4</b> : Structure chimique du triméthoprim.....	20
<b>Figure 5</b> : Structure chimique du Phénobarbital.....	23
<b>Figure 6</b> : Schéma de l'appareil de la CLHP (14).....	26
<b>Figure 7</b> : Schéma d'un appareil d'électrophorèse capillaire.....	28
<b>Figure 8</b> : Ordre de migration des anions, des cations et des espèces neutres lors d'une analyse en électrophorèse capillaire .....	30
<b>Figure 9</b> : L'appareil d'électrophorèse capillaire.....	34
<b>Figure 10</b> : Electrophorégramme d'un échantillon contenant de la quinine et de la quinine et de la procaine.....	61
<b>Figure 11</b> : Droite de régression de la quinine .....	62
<b>Figure 12</b> : Electrophorégramme obtenu avec l'ancienne méthode à pH=8.....	67
<b>Figure 13</b> : Electrophorégramme obtenu avec l'ancienne méthode à pH=7,5...	68
<b>Figure 14</b> : électrophorégramme d'un échantillon contenant du furosémide et du phénobarbital à pH= 6,12 .....	68
<b>Figure 15</b> : droite de régression du furosémide.....	69
<b>Figure 16</b> : Electrophorégramme phénobarbital et furosémide .....	72

<b>Figure 17</b> : droite de régression du phénobarbital.....	73
<b>Figure 18</b> : Electrophorégramme sulfaméthoxazole et phénobarbital .....	75
<b>Figure 19</b> : Droite de régression du sulfaméthoxazole.....	76
<b>Figure 20</b> : Electrophorégramme procaine et triméthoprime.....	77
<b>Figure 21</b> : Droite de régression du Triméthoprime.....	78
<b>Figure 22</b> : comparaison de CLHP et ECB pour le dosage de la Quinine.....	80
<b>Figure 23</b> : comparaison CLHP et ECB pour le dosage de la Furosémide.....	80
<b>Figure 24</b> : comparaison de méthode de dosage pour le Phénobarbital.....	81
<b>Figure 25</b> : comparaison de méthode de dosage pour le Sulfaméthoxazole .....	81
<b>Figure 26</b> : comparaison de méthode de dosage pour le Triméthoprime.....	82

---

## **LISTE DES SCHEMAS**

---

<b>Schéma 1</b> : synthèse de la quinine .....	18
<b>Schéma 2</b> : Obtention du sulfaméthoxazole .....	21
<b>Schéma 3</b> : Obtention du triméthoprimé .....	22
<b>Schéma 4</b> : Obtention du phénobarbital .....	24

## LISTE DES TABLEAUX

---

<b>Tableau I</b> : Propriétés physico chimiques de la quinine .....	17
<b>Tableau II</b> : Propriétés chimiques du furosémide.....	19
<b>Tableau III</b> : Propriétés chimiques du sulfaméthoxazole.....	20
<b>Tableau IV</b> : Propriétés chimiques du triméthoprim.....	20
<b>Tableau V</b> : Propriétés physicochimiques.....	23
<b>Tableau VI</b> : Substances de référence.....	37
<b>Tableau VII</b> : Présentation des échantillons de médicaments collectés à base de quinine .....	57
<b>Tableau VIII</b> : Présentation des échantillons de médicaments collectés à base de furosémide .....	58
<b>Tableau IX</b> : Présentation des échantillons de médicaments collectés à base de phénobarbital .....	59
<b>Tableau X</b> : Présentation des échantillons de médicaments collectés à base de sulfaméthoxazole-triméthoprim .....	60
<b>Tableau XI</b> : Résultats d'injection du standard .....	62
<b>Tableau XII</b> : Résultats du dosage de la quinine .....	65
<b>Tableau XIII</b> : Résultats d'injection du standard .....	69
<b>Tableau XIV</b> : Résultats du dosage du furosémide .....	70
<b>Tableau XV</b> : Résultats d'injection du standard .....	72

<b>Tableau XVI</b> : Résultats du dosage du phénobarbital .....	74
<b>Tableau XVII</b> : Résultats d'injection du standard .....	76
<b>Tableau XVIII</b> : Résultats d'injection du standard.....	77
<b>Tableau XIX</b> : Résultats du dosage du sulfaméthoxazole et du triméthopriime	79

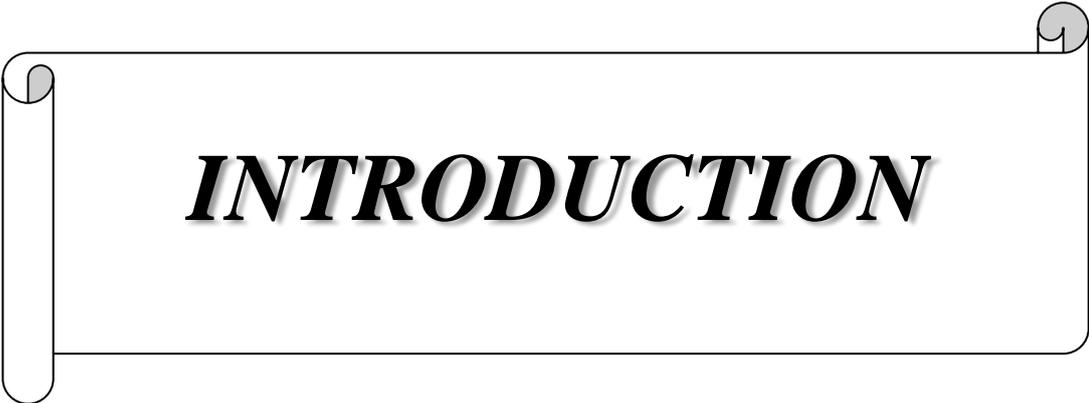
# SOMMAIRE

---

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>4</b>
<b>I. GENERALITES SUR LE MEDICAMENT</b> .....	<b>5</b>
I.1. Définition du médicament.....	5
I.2. Qualité du médicament .....	6
I.2.1. Définition de la Qualité.....	6
I.2.2. Notions générales sur la qualité du médicament .....	6
I.2.3. Critères de qualité d'un médicament .....	8
I.2.4. Evaluation de la qualité d'un médicament.....	11
I.3. Médicaments de qualité inférieure et contrefaits .....	14
<b>II - PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES, MODE OBTENTION ET UTILISATION DES MEDICAMENTS ETUDIES</b> .....	<b>16</b>
II.1. Quinine .....	16
II.1.1. Structure.....	16
II.1.2. Méthodes d'Obtention de la quinine .....	17
II.1.3. Utilisation thérapeutique de la quinine.....	18
II.2. Furosémide .....	19
II.2.1. Structure.....	19
II.2.2. Méthodes d'obtention du furosémide .....	19
II.2.3. Utilisation thérapeutique du furosémide .....	19
II.3. Sulfaméthoxazole et Triméthoprime .....	20
II.3.1 Structure du sulfaméthoxazole .....	20
II.3.2. Méthodes d'obtention .....	21
II.4. Phénobarbital .....	23
II.4.1. Structure chimique.....	23
II.4.2. Méthode d'obtention du phénobarbital .....	23
II.4.3. Utilisation thérapeutique.....	24
<b>III. METHODES D'IDENTIFICATION ET DE DOSAGE DES MEDICAMENTS</b> .....	<b>24</b>
III.1. Chromatographie liquide haute performance (CLHP).....	24

III.1.1. Principe et fonctionnement.....	24
III.1.2. Appareillage .....	25
III.2. Electrophorèse capillaire (EC) .....	27
III.2.1. Principe et fonctionnement.....	27
III.2.2. Appareillage .....	28
III.2.3. Migration électrophorétique.....	28
III.2.4. Ecoulement électro-osmotique.....	29
III.2.5. Mobilité apparente.....	30
III.2.6. Avantages et inconvénients de l'électrophorèse capillaire .....	31
III.2.7. Techniques pour l'amélioration du seuil de quantification.....	31
<b>DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL EXPERIMENTAL</b>	
<b>I. Cadre de l'étude .....</b>	<b>33</b>
<b>II. Objectifs de l'étude .....</b>	<b>33</b>
II.1. Objectif général .....	33
II.2. Objectifs spécifiques.....	33
<b>III. MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>34</b>
III.1. Matériel .....	34
III.1.1. Appareil d'électrophorèse capillaire .....	34
III.1.2. Petit matériel.....	36
III.1.3. Verrerie.....	36
III.1.4. Substances de référence .....	37
III.1.5. Réactifs.....	37
III.2. Méthodes .....	38
III.2.1. Méthode d'échantillonnage.....	38
<b>III.2.2. Méthodes d'identification et de dosage .....</b>	<b>38</b>
<b>IV. RESULTATS.....</b>	<b>56</b>
IV.1. Résultats de la collecte des échantillons par molécule .....	56
IV.2. Résultats du dosage de la Quinine .....	61
IV.2.1. Méthode de calcul du pourcentage en quinine chlorhydrate des échantillons analysés .....	61
IV.2.2. Expressions des résultats de l'analyse des échantillons .....	62
IV.3. Résultats du dosage du furosémide.....	67

IV.4. Résultats du dosage du Phénobarbital.....	72
<b>V. Résultats du dosage du sulfaméthoxazole et du triméthoprim</b> .....	<b>75</b>
<b>VI. Résultats du test de comparaison entre les méthodes de CLHP et d'ECB80</b>	
VI.1. La quinine.....	80
VI.2. Furosémide.....	80
VI.3. Phénobarbital.....	81
VI.4. Sulfaméthoxazole.....	81
VI.5. Triméthoprim.....	82
<b>VII – Discussion</b> .....	<b>83</b>
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>87</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>91</b>

A decorative scroll-like frame with a black outline and rounded corners. The frame is oriented horizontally and has a vertical strip on the left side, suggesting it is a scroll. The word "INTRODUCTION" is centered within the frame in a bold, italicized, black serif font. There are small grey circular accents at the top-left and top-right corners of the frame, resembling rivets or fasteners.

# ***INTRODUCTION***

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les médicaments contrefaits constituent 10 % du marché mondial des médicaments **(10; 16)**. Ils circulent le plus souvent dans les pays en voie de développement. Cette situation peut s'expliquer par la porosité des frontières entraînant l'introduction facile et fréquente de médicaments contrefaits dans ces pays, ce qui se traduit par une croissance de la vente illicite de médicaments. Malgré le coût élevé associé au contrôle de qualité des médicaments, ces produits doivent être suivis par des contrôles qualitatifs et quantitatifs afin de déterminer leurs teneurs en substances actives conformément aux formules annoncées, pour éviter les échecs thérapeutiques et l'apparition de résistance. L'absence de moyens techniques rend le suivi de la qualité de ces médicaments difficile car le contrôle fait appel à des réactifs, du matériel et des techniques d'analyses modernes qui ne sont pas souvent disponibles dans les pays en voie de développement. Ainsi, il s'avère nécessaire de développer de nouvelles technologies simples, accessibles géographiquement et financièrement pour le contrôle de la qualité des médicaments.

C'est dans ce contexte que l'École d'ingénieurs et d'architectes de Fribourg (HES-SO), en collaboration avec la section des sciences pharmaceutiques de l'École de Pharmacie de Genève de Lausanne, a développé un appareil dénommé électrophorèse capillaire budget (ECB) permettant d'effectuer le contrôle de qualité des médicaments suivant le principe d'analyse séparative de l'électrophorèse.

Cet appareil a été conçu à un coût abordable et son fonctionnement nécessite l'utilisation de très faibles quantités de consommables (réactifs et solvants). De par son pouvoir de séparation et sa grande efficacité, la méthode d'électrophorèse capillaire peut suppléer celles des chromatographies en phase liquide et gazeuse. Elle est moins contraignante et permet de faire des analyses rapides à moindre coût pour les pays qui ne disposent pas assez de moyens.

L'objectif de cette étude est d'appliquer les méthodes d'analyses suffisamment sensibles, peu onéreux par électrophorèse capillaire afin d'évaluer la

qualité des médicaments disponibles sur le marché sénégalais. Par la suite, ces méthodes de contrôle de la qualité pourront être mises en œuvre dans les pays en voie de développement afin de limiter la circulation de médicaments contrefaits et/ou malfaits.

Ce travail comporte deux parties :

- Une première qui sera réservée aux généralités sur les médicaments et les méthodes permettant leur analyse ;

- Une deuxième consacrée au dosage des molécules suivantes : la quinine, le furosémide, le phénobarbital, le sulfaméthoxazole et le triméthoprim par électrophorèse capillaire ECB.

*Rapport-gratuit.com*   
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES



**PREMIERE PARTIE**

***SYNTHESE***

***BIBLIOGRAPHIQUE***

# I. GENERALITES SUR LE MEDICAMENT

## I.1. Définition du médicament

Selon la loi 94-57 du 28 juin 1994 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le médicament est défini comme toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales ; ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical, de restaurer, de corriger ou de modifier leurs fonctions organiques (30).

Les produits suivants sont considérés comme des médicaments :

- Les produits cosmétiques et d'hygiène corporelle, contenant une substance ayant une action thérapeutique ou une substance susceptible de manifester une action lors de son utilisation normale ;
- Les produits présentés comme pouvant neutraliser ou détruire, sur l'organisme humain, les substances toxiques (employés dans un but précis) ou agissant sur l'organisme humain ayant subi l'effet de telles substances ;
- Les produits présentés comme supprimant l'envie de fumer ou réduisant l'accoutumance au tabac ;
- Les eaux minérales naturelles dont les caractéristiques initiales ont été modifiées par l'addition d'un produit autre que le gaz naturel s'échappant du griffon de leur source et qui sont présentées soit comme possédant des propriétés curatives ou préventives soit sous une forme pharmaceutique particulière en vue d'une application de ces propriétés ;
- les produits utilisés pour l'application des lentilles de contact ;
- Les produits d'origine humaine ne sont pas considérés comme des médicaments.

Les médicaments vétérinaires sont soumis à une législation particulière les concernant.

Selon l’OMS, un médicament correspond à : « toute substance entrant dans la composition d’un produit pharmaceutique et destinée à modifier ou explorer un système physiologique dans l’intérêt de la personne qui la reçoit ».

## **I.2. Qualité du médicament**

### **I.2.1. Définition de la Qualité**

Selon l’association américaine des fabricants de produits pharmaceutiques, « la qualité d’un médicament, ou d’un produit assimilé, est la somme de tous les facteurs qui contribuent directement ou indirectement à la sécurité, à l’activité et à l’acceptabilité du produit » [1].

La désignation de la qualité appliquée à un médicament exige :

- qu’il contienne la quantité de chaque principe actif inscrit sur l’étiquette, dans les limites spécifiées ;
- qu’il contienne cette quantité dans chaque dose unitaire ;
- qu’il soit exempt de substances étrangères ;
- qu’il maintienne son dosage, sa disponibilité thérapeutique, son apparence jusqu’à l’utilisation ;
- qu’il libère le principe actif avec une entière biodisponibilité, après administration [1].

### **I.2.2. Notions générales sur la qualité du médicament**

Suite à une résolution de l’OMS relative au système de certification de la qualité des produits pharmaceutiques, des concepts nouveaux se sont imposés.

En effet, les pays industrialisés se sont engagés dans la gestion de la qualité des produits pharmaceutiques à travers divers concepts tels que l’assurance de la qualité, les bonnes pratiques de fabrication (BPF) et le contrôle de la qualité [30].

#### ***I.2.2.1. Gestion de la qualité d’un médicament***

Le pharmacien responsable d’un établissement de fabrication de produits pharmaceutiques doit produire des médicaments adaptés à l’emploi, répondant aux exigences du dossier d’Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) et n’exposant

les patients à aucun risque lié à des carences en matières de sécurité, de qualité ou d'efficacité. La réalisation de ces objectifs de qualité engage la responsabilité de la direction de l'entreprise et du pharmacien responsable. Elle requiert la participation et l'engagement du personnel dans les départements et à tous les niveaux de l'entreprise [9].

Pour démarrer la fabrication d'un médicament à l'échelle industrielle, il ne suffit pas :

- d'avoir mis au point la formule la mieux adaptée à son mode d'administration ;
- d'être assuré de sa stabilité dans les conditions de conservation bien délimitées ;
- d'avoir démontré son efficacité pour une indication thérapeutique donnée ;
- d'avoir décrit et argumenté ces données dans un dossier de demande d'AMM.

Il est également nécessaire, pour garantir la conformité au dossier d'AMM de chaque unité fabriquée, que l'entreprise dispose d'un système d'assurance de la qualité bien conçu, correctement mis en œuvre et efficacement contrôlé [9].

Ce système inclut le concept de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) et donc de contrôle de la qualité. Il doit bénéficier d'une documentation complète et être rédigé avec efficacité. Chaque poste de vérification de la qualité doit être doté d'un personnel compétent, en nombre suffisant et formé en permanence. Les locaux, le matériel et les installations doivent convenir à leur usage.

#### ***1.2.2.2. Assurance qualité***

L'assurance de la qualité est un large concept qui couvre tout ce qui peut, individuellement ou collectivement, influencer la qualité d'un produit. Elle représente l'ensemble des mesures qui doivent être prises pour s'assurer que les

médicaments fabriqués sont de la qualité requise pour l'usage auquel ils sont destinés.

Les normes de la famille ISO 9000 ont été conçues pour donner un langage commun au management de la qualité. Elles constituent une référence essentielle. Il convient de noter que ces normes évoluent et de nouvelles versions apparaissent [8].

Les normes de la famille ISO 9000 comprennent :

- la norme ISO 9000 version 2000 qui décrit les principes essentiels de management de la qualité et en spécifie la terminologie ;

- la norme ISO 9001 version 2000 qui est relative aux exigences des systèmes de management de la qualité. Elle concerne essentiellement le management de la qualité pour des installations réalisant de la production ou assurant des services, y compris des analyses chimiques.

- la norme ISO 9001 version 2000 met en avant le rôle et l'implication de la direction de l'entreprise dans la mise en place et le suivi du système de management de la qualité tout en renforçant la prévalence du client. En effet, elle porte sur l'aptitude du système de management de la qualité à satisfaire les exigences du client. La conformité aux exigences de cette norme peut faire l'objet d'une certification par un organisme extérieur.

- la norme ISO 9004 version 2000 qui est relative aux lignes directives pour l'amélioration des performances. Elle est recommandée comme guide pour les organismes dont la direction souhaite aller au-delà de l'ISO 9001, c'est-à-dire à la recherche de l'amélioration continue des performances.

Toutefois, la norme ISO 9004 version 2000 n'est pas destinée à des fins de certification ou contractuelles.

### **I.2.3. Critères de qualité d'un médicament**

Les principaux critères de qualité pour un médicament sont l'identité, la pureté, l'activité, l'uniformité et la biodisponibilité [14].

### ***1.2.3.1. Identité***

Le principe actif correct doit être présent dans le produit. Cette caractéristique est généralement la plus facile à garantir.

Dans la plupart des cas, quand les analyses révèlent la présence d'un principe actif différent de celui qui est associé au médicament, il s'agit d'une erreur de conditionnement ou d'étiquetage.

### ***1.2.3.2. Pureté***

La majorité des médicaments contiennent des principes actifs et des adjuvants qui sont ajoutés pour améliorer une propriété telle que la consistance ou la couleur. Il est essentiel que ces adjuvants soient exempts de contaminants nocifs, de bactéries et d'autres micro-organismes qui peuvent nuire à la santé du malade.

### ***1.2.3.3. Sécurité***

Le médicament pris dans les conditions normales est inoffensif. La sécurité, ou innocuité, d'un médicament est déterminée par des études de toxicité (carcinogénèse, tératogénèse) et de pharmacocinétique.

### ***1.2.3.4. Activité***

Le médicament doit contenir la quantité exacte de principe actif indiquée. La majorité des pharmacopées acceptent qu'un médicament donnée contienne entre 90 et 110% de la quantité de principe actif inscrite sur l'étiquette. Cette quantité doit être stable jusqu'à la date de péremption du médicament.

### ***1.2.3.5. Uniformité***

La consistance, la couleur, la forme et la taille d'un médicament donné (qu'il soit sous la forme d'un comprimé, d'une crème ou d'un liquide) ne doivent pas varier d'une dose à la suivante. L'absence d'uniformité peut provenir de problèmes au niveau de l'identité, de la pureté ou de l'activité.

### ***1.2.3.6. Biodisponibilité***

La biodisponibilité est la vitesse et l'intensité de mise à disposition du principe actif ou de sa fraction thérapeutique destinée à devenir disponible au niveau des sites d'action.

### ***1.2.3.7. Stabilité***

C'est l'aptitude d'un médicament à conserver ses propriétés chimiques, physiques, bactériologiques et biopharmaceutiques dans les limites spécifiées ; pendant toute sa durée de validité.

Cette stabilité dépend de paramètres extrinsèques (température, humidité, lumière etc.) et intrinsèques qui sont liés aux matières premières, à la forme pharmaceutique et au conditionnement. Elle peut être déterminée, selon les conditions de température et d'humidité choisies, par une étude de dégradation accélérée ou par une étude de stabilité en temps réel.

### ***1.2.3.8. Conditionnement et conservation des médicaments***

Il s'agit des opérations complémentaires à la mise en forme. Le Conditionnement d'un médicament consiste à l'enfermer dans une enveloppe, qui peut être de forme et de matière très variées, donnant ainsi au produit son aspect définitif.

Le conditionnement a pour objectif :

- de contenir la forme pharmaceutique et de la protéger contre les chocs, la déformation, les souillures et les facteurs d'altération externes (humidité, lumière, oxygène etc.) ;
- de faciliter la distribution et l'utilisation du médicament;
- de constituer un élément de sécurité grâce à un étiquetage adéquat ;
- d'être en harmonie avec le caractère noble du médicament et de ce fait d'inspirer confiance au malade.

Ces dernières peuvent être décelées par l'analyse des caractéristiques organoleptiques, la présence de précipités, etc., mais également par des contrôles physico-chimiques, physiologiques et microbiologiques.

## **I.2.4. Evaluation de la qualité d'un médicament**

### ***I.2.4.1. Standards de qualité d'un médicament***

Afin d'évaluer la qualité d'un médicament, il faut s'assurer :

- de la présence du principe actif adéquat ;
- du bon dosage, en principe actif et en excipients, décrit sur l'étiquette ;
- des limites d'acceptabilité des tests de conformité ;
- que le médicament maintienne ses propriétés pharmaco techniques pour jouer son rôle thérapeutique ;
- que l'activité du médicament soit préservée durant toute la durée valable pour son utilisation ;
- que le médicament soit correctement étiqueté et préservé.

Les standards de qualité d'un médicament sont décrits dans les pharmacopées (européenne, américaine, anglaise, internationale etc.). Les normes qui figurent dans les pharmacopées sont généralement les résultats d'études validées qui impliquent la collaboration du fabricant, de la pharmacopée, des services de contrôle et des experts indépendants.

Ces standards de qualité sont définis par des tests décrits auxquels le médicament doit se conformer quand il est testé avant la date d'expiration.

Ces tests et les spécifications complémentaires sont appelés monographies [14].

### ***I.2.4.2. Contrôle de la qualité d'un médicament***

La qualité d'un médicament se définit par le respect des normes établies à toutes les étapes de sa fabrication (de l'approvisionnement en matières premières

au produit fini), de son agrément mais également de l'approvisionnement jusqu'à sa distribution et sa dispensation. Cette mission est à la charge de tous les acteurs du domaine pharmaceutique ; la tâche de chaque acteur étant définie en fonction du niveau de la chaîne auquel il se situe.

De plus, les laboratoires effectuent des contrôles pour faire le suivi de la qualité des médicaments, c'est-à-dire s'assurer de sa qualité, de son innocuité et de son efficacité. Ces contrôles s'appuient sur des méthodes décrites dans des pharmacopées telles que la pharmacopée américaine, la pharmacopée européenne ou la pharmacopée internationale [14].

Ces contrôles ont beaucoup d'intérêts mais présentent des limites.

#### ***1.2.4.3. Intérêts du contrôle des médicaments***

Le contrôle de la qualité des médicaments permet de protéger la santé des populations. Il permet de s'assurer que les patients reçoivent des médicaments sûrs, efficaces et de qualités conformes aux normes des pharmacopées.

Le contrôle de la qualité d'un médicament peut intervenir à différents niveaux, notamment lors :

- du processus de fabrication du médicament ;
- d'une demande d'AMM ;
- d'un appel d'offre ouvert : dans ce cas, le contrôle va permettre de vérifier la conformité des échantillons à l'égard des spécifications qui figurent dans le cahier de charge et d'éliminer les produits « non-conformes » ;
- de la surveillance de routine dans le marché ;
- de l'assurance qualité au niveau périphérique de la distribution [14].

#### ***1.2.4.4. Limites du contrôle de qualité des médicaments***

Le contrôle de la qualité des médicaments (produits finis) présente des limites :

### **Limite des pharmacopées**

Les pharmacopées n'ont pas été établies dans l'optique de réaliser le contrôle de la qualité des médicaments retrouvés dans les appels d'offre internationaux. En effet, elles regroupent généralement des méthodes de contrôle des matières premières et non des produits finis.

Néanmoins, la pharmacopée internationale, qui est encore incomplète, la pharmacopée américaine (USP) et la pharmacopée britannique (BP) décrivent des méthodes d'analyse pour les produits finis ; mais, celles-ci ne sont pas toujours applicables. En effet, la diversité des excipients utilisés peut entraîner une perte de spécificités, ce qui implique une validation de ces méthodes.

### **Absence de référentiels produits finis pour les contrôles externes**

Selon l'Organisation Internationale d'Harmonisation (ICH), les méthodes de dosage des produits finis doivent avoir été mises au point et validées par le fabricant à l'aide des critères définis par les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) [14].

L'analyse d'un médicament par un laboratoire indépendant de son lieu de fabrication doit, en théorie, disposer de ce référentiel analytique sous peine de donner des résultats erronés dus au manque de spécificité, de précision ou d'exactitude de la méthode de dosage utilisée.

### **Absence de contrôle de la matière première**

La qualité de la matière première ne peut être évaluée au vu du contrôle du produit fini, exception faite pour certaines poudres pour suspensions injectables.

De plus, les monographies des pharmacopées étant basées sur le procédé de synthèse le plus couramment employé, associé à des impuretés, des substances apparentées et des produits de dégradation bien définis. Un procédé de synthèse différent doit faire l'objet d'un contrôle adapté, ce qui n'est pas toujours réalisé.

## Stabilité

L'instabilité du produit dans le temps, notamment dans certaines conditions de conservation (pays chauds et humides), peut entraîner une perte d'activité avant la date de péremption.

### **I.3. Médicaments de qualité inférieure et contrefaits**

Les médicaments de qualité inférieure sont des produits dont la composition et la qualité des principes actifs ne répondent pas aux normes spécifiées. Par conséquent, ils sont inefficaces et souvent dangereux pour le patient. La qualité inférieure d'un médicament peut être le résultat d'une négligence, d'une erreur humaine, de ressources humaines et/ou financières insuffisantes ou d'une contrefaçon [17].

Le problème des médicaments contrefaits s'inscrit dans un cadre plus large des produits pharmaceutiques de qualité inférieure. La différence entre ces deux catégories de produits repose sur le fait qu'un médicament contrefait est étiqueté frauduleusement de manière délibérée pour en dissimuler la nature et/ou la source. La contrefaçon peut aussi bien concerner le médicament princeps que les produits génériques [15].

Les médicaments contrefaits peuvent contenir des substances identiques à celles qui composent le produit authentique ou des substances différentes et les principes actifs peuvent être absents ou présents mais en quantité insuffisante. La contrefaçon peut également porter sur le conditionnement, une imitation de l'emballage par exemple.

Dans les pays développés, la contrefaçon concerne le plus souvent des médicaments à coût élevé tels que les hormones, les corticoïdes et les antihistaminiques. Dans les pays en voie de développement, les médicaments qui font le plus souvent l'objet de contrefaçons sont ceux qui sont utilisés contre les affections potentiellement mortelles comme le paludisme, la tuberculose et le VIH/SIDA [17].

Selon l'agence fédérale américaine des produits alimentaires et médicamenteux (Food and Drug Administration ou FDA), les médicaments contrefaits ou de qualité inférieure représentent 10% du marché mondial des médicaments, soit 32 milliards de Dollars US de bénéfice par an [17].

Ce phénomène concernerait 25% des médicaments vendus dans les pays en voie de développement. Il ressort aussi d'une récente étude parue dans The Lancet que jusqu'à 40 % des produits supposés contenir de l'artesunate (le meilleur médicament disponible aujourd'hui contre le paludisme chimiorésistant) ne contenaient pas en fait de principe actif et n'avaient aucun effet thérapeutique [17].

Le commerce de ces deux catégories de médicaments affecte davantage les pays où:

- le contrôle et l'application de la réglementation pharmaceutique sont moins stricts;
- l'approvisionnement en médicaments de base est insuffisant;
- il existe un marché pharmaceutique non réglementé;
- le prix du médicament est très élevé.

Par conséquent, dans de nombreux pays en voie de développement, la qualité, l'innocuité et l'efficacité des médicaments importés et des médicaments fabriqués localement ne peuvent être garanties. Dans ces pays, la contrefaçon et l'importation illégale sont monnaie courante ; les produits de qualité inférieure ou contrefaits sont alors non seulement vendus localement, mais également exportés ou réexportés. L'exportation des produits pharmaceutiques, vers les pays en voie de développement, par le biais de zones de libre échange progresse. Il existe également un processus de ré-étiquetage de certains produits dans le but de dissimuler les données concernant leur origine.

Par ailleurs, les produits de contrefaçon ne sont pas nécessairement fabriqués dans de grands établissements. La majorité des contrefacteurs découverts jusqu'ici

travaillent dans des habitations courantes ; la fabrication se fait de manière artisanale dans l'arrière-boutique ou à l'ombre d'un arbre.

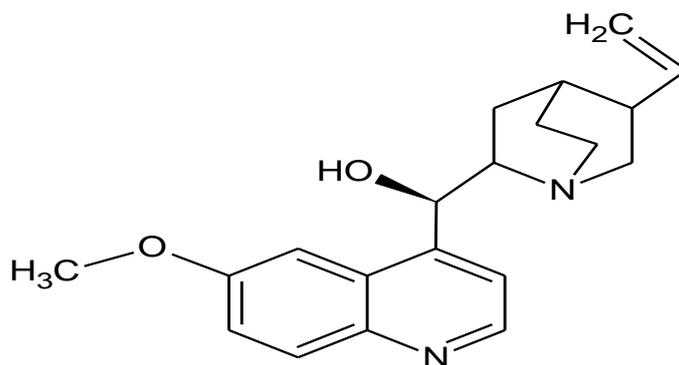
La contrefaçon pharmaceutique est une entreprise très lucrative en raison d'une forte demande et des coûts de production peu élevés. À défaut d'une législation peu dissuasive dans de nombreux pays, les contrefacteurs ne craignent pas d'être arrêtés et/ou poursuivis.

La pauvreté est l'un des principaux facteurs déterminant de la production et de la consommation de produits vendus de façon illicite. Malgré les moyens déployés par les autorités, à savoir l'introduction des médicaments génériques et les campagnes de sensibilisation contre les médicaments de la rue, le marché illicite des médicaments ne cesse de se développer dans nos pays. Ce phénomène demeure sous le regard passif de ces mêmes autorités qui laissent agir des « intouchables », au péril de populations souvent influencées par l'ignorance et/ou la pauvreté.

## II - PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES, MODE OBTENTION ET UTILISATION DES MEDICAMENTS ETUDIES

### II.1. Quinine

#### II.1.1. Structure



(R)-(5-éthényl-1-azabicyclo[2.2.2]oct-2-yl)(6-méthoxyquinolin-4-yl)méthanol

***Figure 1 : structure chimique de la quinine***

**Tableau I : Propriétés physico chimiques de la quinine**

<b>Propriétés chimiques</b>	
<b>Formule brute</b>	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> [Isomères]
<b>Masse molaire</b>	(324,4168 ± 0,0187) g/mol
<b>Propriétés physiques</b>	
<b>T° fusion</b>	177 °C (décomposition partielle) ; Trihydrate : fusion à 57 °C et déshydratation à 125 °C.

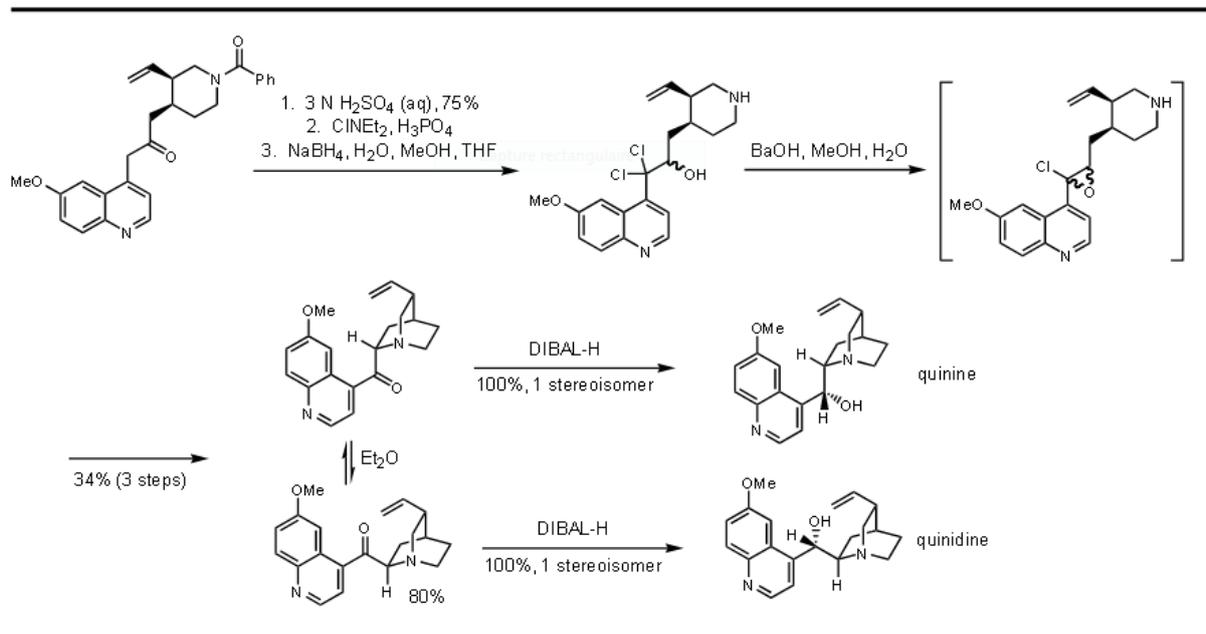
### II.1.2. Méthodes d'Obtention de la quinine

Robert WOODWARD et William DOERING, sont considérés comme les premiers à avoir effectué la synthèse de la quinine.

Cependant, Paul RABE, avait essayé de synthétiser la quinine à partir de la quinotoxine en 1918. Il n'avait pas envisagé la stéréochimie de la quinine et avait produit un mélange racémique composé des deux isomères de la quinine.

WOODWARD et DOERING se sont inspirés des travaux de RABE pour établir la première voie de synthèse de la quinine.

Dans les années 1960, STORK a établi une nouvelle stratégie de synthèse de la quinine. Il avait mis au point la première synthèse totale stéréospécifique de la quinine [26].



### Schéma 1 : synthèse de la quinine

A l'heure actuelle la quinine est souvent extraite de l'écorce de quinquina.

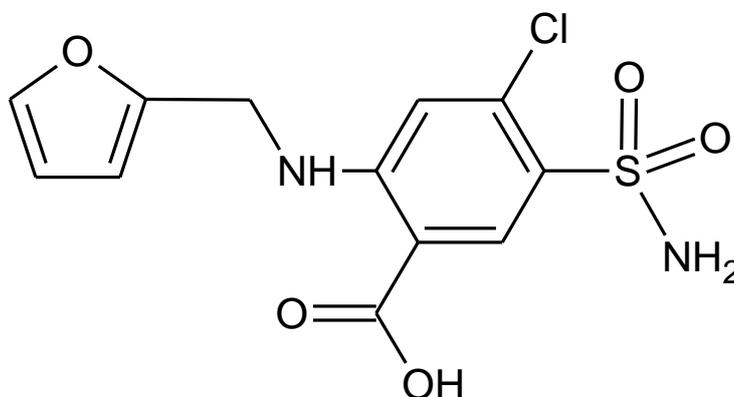
#### II.1.3. Utilisation thérapeutique de la quinine

La quinine est un alcaloïde naturel utilisé en thérapeutique comme antipyrétique et antipaludique [3]. Elle était utilisée pour la prévention du paludisme (*Malaria*) avant d'être supplantée par ces dérivés : la quinacrine, la chloroquine, et la primaquine.

La quinine a été le premier médicament efficace contre le paludisme.

## II.2. Furosémide

### II.2.1. Structure



Acide 4-chloro-N-furfuryl-5-sulfamoylanthanilique

***Figure 2 : Structure chimique du furosémide***

**Tableau II : Propriétés chimiques du furosémide**

Propriétés chimiques	
Formule brute	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S
Masse molaire	(330,744 ± 0,019)g/mol

### II.2.2. Méthodes d'obtention du furosémide

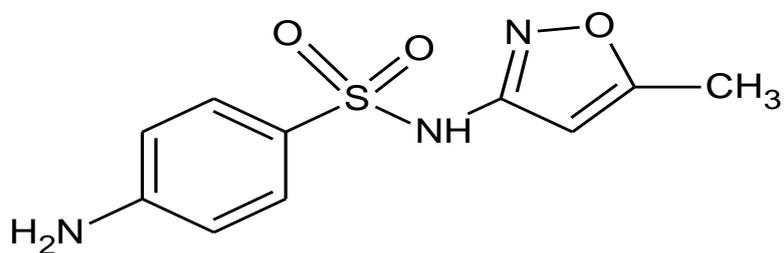
Le furosémide est préparé à partir de l'acide 3-sulfonyl-4,6-dichlorobenzoïque par la mise en œuvre d'une synthèse multi-étapes impliquant l'addition séquentielle de l'ammoniac et du 6-furfurylique-amine. Il est synthétisé au Brésil, en Bulgarie, en Chine, en Hongrie, en Israël, en Italie, en Pologne, en Suisse et aux Etats-Unis [21].

### II.2.3. Utilisation thérapeutique du furosémide

Le furosémide est utilisé pour traiter l'hypertension et les œdèmes qui sont souvent dus à une insuffisance cardiaque congestive ou à une insuffisance rénale.

## II.3. Sulfaméthoxazole et Triméthoprime

### II.3.1 Structure du sulfaméthoxazole



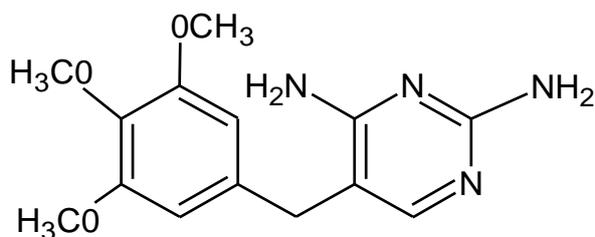
4-amino-*N*-(5-méthyl-1,2-oxazol-3-yl)benzènesulfonamide

**Figure 3** : Structure chimique du sulfaméthoxazole.

**Tableau III** : Propriétés chimiques du sulfaméthoxazole

Propriétés chimiques	
Formule brute	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S
Masse molaire	253,278 ± 0,015 g/mol

### II.3.2. Structure du Triméthoprime



5-[(2,4-diaminopyrimidin-5-yl)méthyl]-2,3-diméthoxyphényl hydropéroxyde

**Figure 4** : Structure chimique du triméthoprime

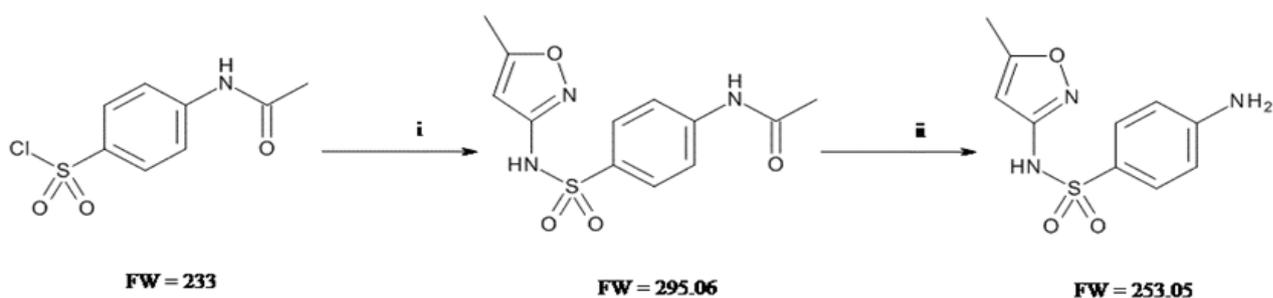
**Tableau IV** : Propriétés chimiques du triméthoprime

Propriétés chimiques	
Formule brute	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>
Masse molaire	290,31772 g/mol

## II.3.2. Méthodes d'obtention

### II.3.2.1. Sulfaméthoxazole

La préparation du sulfaméthoxazole est décrite dans le Brevet US 2888455 à partir du chlorure de 4-acétamidobenzènesulfonyle (**1**). Ce composé (**1**) est condensé avec le 5-méthylisoxazol-3-amine ou la 3-amino-5-méthylisoxazole, à température ambiante en présence de pyridine qui joue le rôle de base et de solvant, pour donner le N-[4-[(5-méthylisoxazol-3-yl) sulfamoyl]-phényl]acétamide, (**2**). L'hydrolyse du composé **2** en utilisant une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à une température élevée produit le 4-amino-N-(5-méthylisoxazol-3-yl) benzène sulfonamide, également appelé sulfaméthoxazole (**3**) [19].



### Conditions

- i. 5-methylisoxazol-3-amine or 3-amino-5-methylisoxazole, pyridine, chauffage,
- ii. Milieu aqueux hydroxyde de sodium, au bain-marie

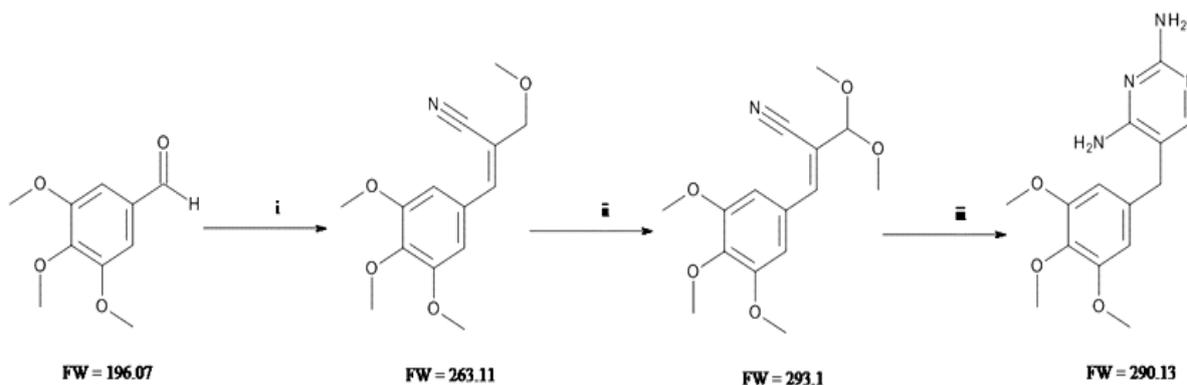
### Schéma 2: Obtention du sulfaméthoxazole

### II.3.2.2. Triméthoprime

La Préparation du triméthoprime est décrit dans le Brevet US 3341541 à partir du 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde (**1**).

Le composé **1** est traité avec du bêta-méthoxypropionitrile en présence de méthylate de sodium fraîchement préparé, pour produire le 2-(méthoxyméthyl) 3-(3,4,5-triméthoxyphényl)prop-2-éne nitrile (**2**). Par la suite, le composé nitrile (**2**) est chauffé avec du méthylate de sodium fraîchement préparé, pour obtenir le

2 - (diméthoxyméthyl) -3 - (3, 4,5-triméthoxyphényl) prop-2-ènenitrile (3). L'étape finale de la synthèse consiste en la condensation du composé 3 avec de la guanidine qui fournit la 5 - [(3, 4,5-triméthoxyphényl)-méthyl]-pyrimidine-2 ,4-diamine également appelé Triméthoprime (4). Les trois étapes de la synthèse sont réalisées dans le méthanol à reflux [20].



- i. Beta-méthoxypropionitrile, sodium dans le méthanol,
- ii. Sodium dans le méthanol,
- iii. guanidine méthanolique.

### **Schéma 3 : Obtention du triméthoprime**

#### ***II.3.2.3. Utilisation thérapeutique du sulfaméthoxazole et du triméthoprime***

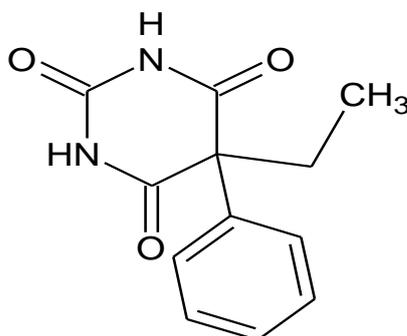
Le triméthoprime est un composé actif notamment contre les procaryotes et qui peut, en conséquence, être utilisé en thérapie animale ou humaine.

L'association du triméthoprime avec le sulfaméthoxazole (sulfamide) augmente l'efficacité de l'inhibition de la croissance des bactéries.

Le sulfaméthoxazole est un analogue de l'acide *para*-amino-benzoïque, qui constitue avec les ptérines des dihydrofolates.

## II.4. Phénobarbital

### II.4.1. Structure chimique



5-éthyl-5-phénylpyrimidine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione

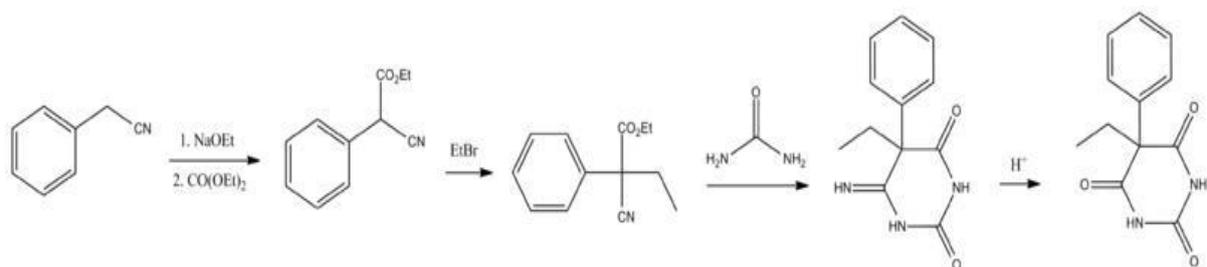
**Figure 5 : Structure chimique du Phénobarbital**

**Tableau V : Propriétés physicochimiques**

Propriétés chimiques	
Formule brute	$C_{12}H_{12}N_2O_3$
Masse molaire	$232,2353 \pm 0,0117$ g/mol
Propriétés physiques	
T° fusion	174 à 178 °C
Solubilité	< 0,1 g/l dans l'eau à 14 °C

### II.4.2. Méthode d'obtention du phénobarbital

Le phénobarbital est préparé à partir du cyanure de benzyle. La condensation de ce dernier composé avec le diéthylecarbonate en présence d'éthylate de sodium donne l'ester  $\alpha$ -phénylcynoacetic. L'alkylation de cet ester, avec le bromure d'éthyle, donne de l'ester  $\alpha$ -phényl- $\alpha$ -éthylcynoacetic, qui est converti en 4-iminoderivative suite à un traitement avec l'urée. L'hydrolyse en milieu acide de ce dernier permet d'obtenir le phénobarbital [25].



**Schéma 4 : Obtention du phénobarbital**

### II.4.3. Utilisation thérapeutique

Le phénobarbital est un médicament appartenant à la famille des barbituriques. Il est utilisé pour le contrôle de certaines formes de convulsions ainsi que pour le traitement de l'épilepsie et des troubles du sommeil. Il est également utilisé comme sédatif afin de soulager les symptômes d'anxiété ou de tension.

## III. METHODES D'IDENTIFICATION ET DE DOSAGE DES MEDICAMENTS

### III.1. Chromatographie liquide haute performance (CLHP)

#### III.1.1. Principe et fonctionnement

La chromatographie liquide haute performance (CLHP), constitue une technique analytique très générale d'emploi. Elle correspond à une évolution de la chromatographie préparative sur colonne dont les performances, en termes de sélectivité et de résolution, se sont trouvées grandement améliorées par l'utilisation de phases stationnaires très élaborées [23].

Ces phases, généralement constituées de microparticules sphériques dont le diamètre est compris entre 2 et 5µm, entraînent une perte de charge importante dans la colonne. Il faut donc exercer une forte pression sur la phase mobile pour obtenir un débit convenable.

La CLHP fonctionne comme suit :

- la colonne est remplie d'une phase stationnaire greffée. La granulométrie des grains garnissant la colonne est de l'ordre de  $5\mu\text{m}$  ;

- l'éluant est un solvant soit polaire soit moyennement polaire, ce qui permet l'utilisation de l'eau, solvant polaire, associée à des solvants moins polaires tels que le méthanol. L'enrichissement du mélange des deux solvants en méthanol (phase mobile) le rendra plus éluatif ;

- le type d'injecteur le plus couramment utilisé comporte une vanne à boucle d'échantillonnage d'une capacité fixée à 10, 20, 50,...  $\mu\text{l}$ . Cette boucle calibrée, remplie de l'échantillon à étudier, peut être introduite, sans variation importante de la pression, dans le circuit allant des pompes vers l'entrée de la colonne ;

- le signal généré par le détecteur est transmis au calculateur muni d'une table traçante intégrée. Les différents réglages indispensables à un bon usage du calculateur doivent être précisés [23].

### **III.1.2. Appareillage**

L'appareil de chromatographie liquide haute performance comporte les éléments de base suivants :

- un ou plusieurs réservoirs de phase mobile contenant soit des solvants purs soit des mélanges de solvants dans des concentrations connues ;

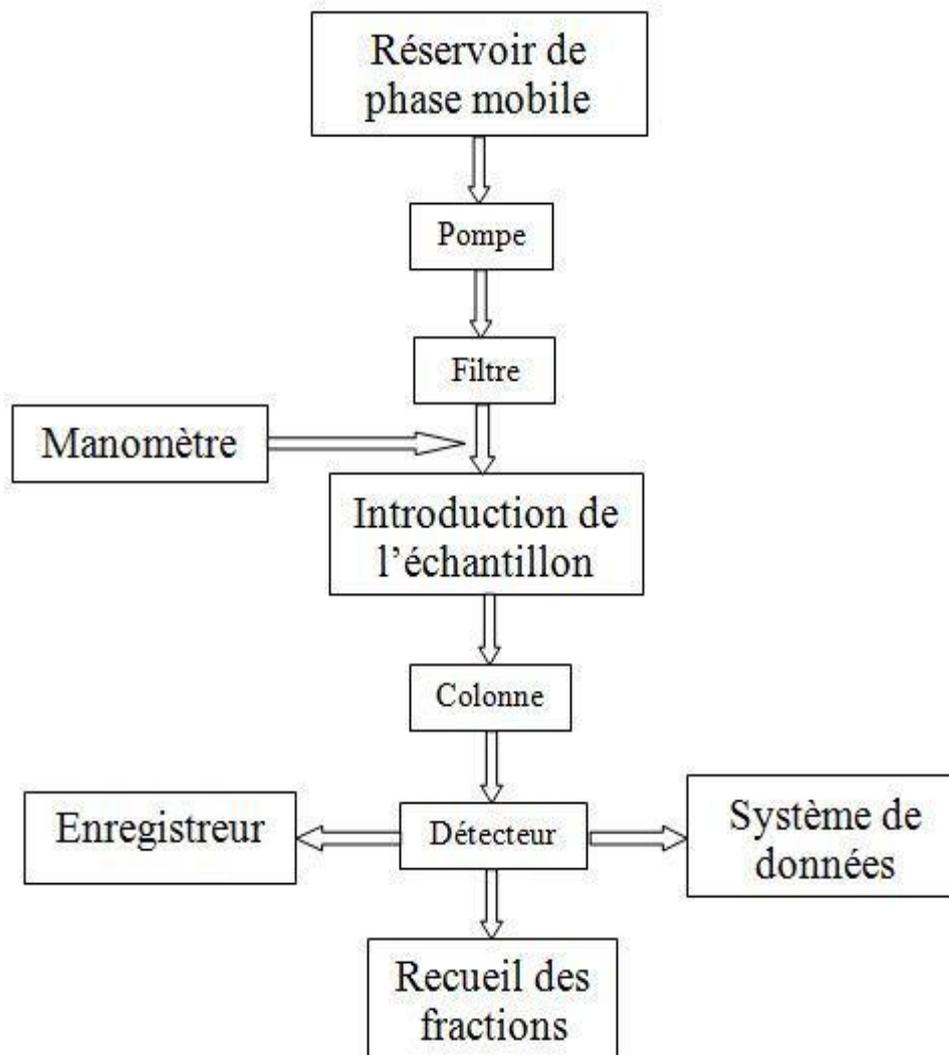
- un système d'injection comportant une boucle d'échantillonnage calibrée (généralement une vanne de RHEODYNE) ;

- une colonne remplie de quelques centimètres de long ;

- un détecteur permettant de donner un signal proportionnel à la quantité de solutés, dans le mélange.

Les colonnes de CLHP sont usuellement en acier inoxydable. La plupart des colonnes ont une longueur de 10 à 30 cm et un diamètre intérieur de 4 à  $10\mu\text{m}$ .

Les principaux détecteurs utilisés sont les suivants : détecteur réfractométrique, détecteur UV (ultraviolets), détecteur fluorimétrique, détecteur électrochimique, etc.



***Figure 6 : Schéma de l'appareil de la CLHP***

## III.2. Electrophorèse capillaire (EC)

### III.2.1. Principe et fonctionnement

L'électrophorèse capillaire (EC) est une technique séparative d'analyse reposant sur la migration, à l'intérieur d'un tube capillaire et sous l'effet d'un champ électrique continu, des espèces présentes dans l'échantillon en solution, porteuses ou non d'une charge électrique globale. L'EC s'est développée à partir des acquis de la CLHP et de l'électrophorèse sur gel [22].

Elle est couramment utilisée pour séparer des molécules dont les structures chimiques sont très variables : anions et cations inorganiques, acides aminés, catécholamines, principes actifs pharmaceutiques, vitamines, sucres, peptides, protéines, acides nucléiques, nucléotides, polynucléotides et de nombreuses autres espèces [24].

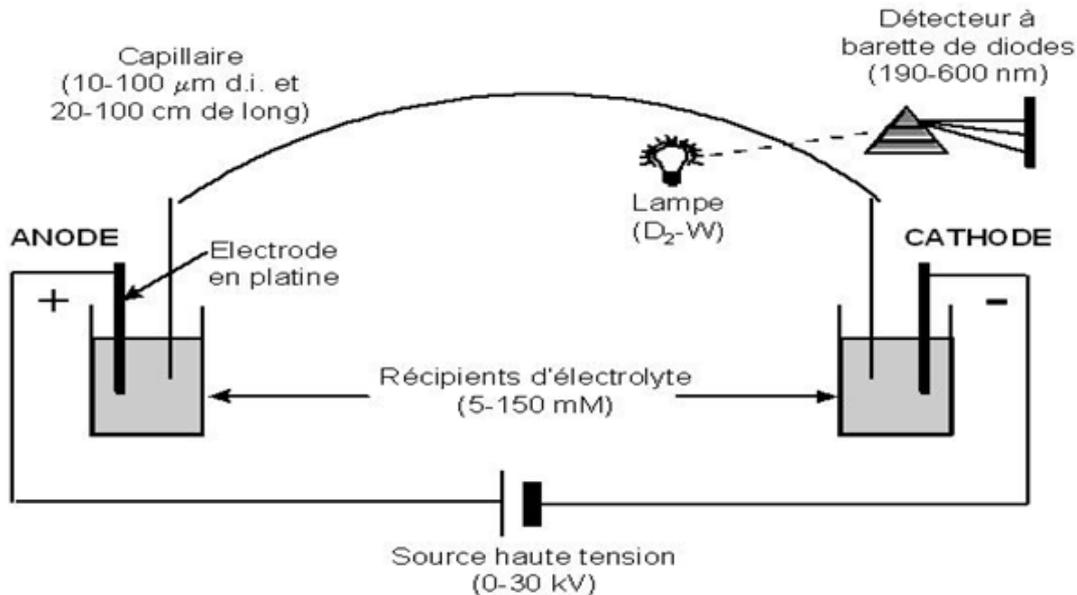
L'EC permet la séparation, la détection et la quantification de composés organiques et inorganiques. Le principe de séparation est basé sur le rapport taille / charge des espèces chimiques soumises à un champ électrique. L'appareillage est constitué de deux récipients, contenant un électrolyte tampon, dans lesquels trempent les extrémités d'un tube capillaire (dont le diamètre interne est compris entre 10 et 100  $\mu\text{m}$ ) ainsi que deux électrodes de platine.

L'échantillon à analyser est injecté dans le tube capillaire à l'anode, puis une tension, inférieure à 30 kilovolts, est appliquée entre les deux électrodes (anode et cathode). Le champ électrique ainsi créé induit un mouvement des molécules et permet la séparation de celles-ci. Le passage des composés à travers le capillaire est révélé à l'aide d'un détecteur UV placé à proximité du compartiment cathodique.

Lorsqu'une molécule traverse le détecteur, elle absorbe une certaine quantité de lumière. Cette information est transcrite en un signal visible sous la forme d'un pic dans un électrophorégramme.

### III.2.2. Appareillage

L'appareillage, nécessaire pour réaliser des analyses électrophorétiques, est relativement simple. Les principaux composants du système sont un générateur de tension capable de délivrer une différence de potentiel comprise entre 0 et 30 kV, un capillaire (10 ou 100 μm de diamètre interne) dans lequel aura lieu la séparation, un détecteur (généralement UV) (*Figure 7*).



***Figure 7 : Schéma d'un appareil d'électrophorèse capillaire.***

### III.2.3. Migration électrophorétique

La migration électrophorétique correspond au déplacement d'un analyte porteur d'une charge sous l'influence d'un champ électrique. La vitesse de migration électrophorétique est notée  $V_{ep}(m.s^{-1})$ . Elle s'exprime en fonction de la charge de l'ion  $q$  (C), de son rayon hydrodynamique  $R_h$  (m), du champ électrique appliqué  $E$  ( $V.m^{-1}$ ) et de la viscosité du milieu  $\eta$  ( $Pa.s^{-1}$ ).

$$V_{ep} = qE / 6\pi\eta R_h = \mu_{ep}E \quad (\mu_{ep} : \text{mobilité électrophorétique en } m^2.s^{-1}.V^{-1})$$

Ainsi, la vitesse de migration électrophorétique est directement proportionnelle au rapport charge / rayon hydrodynamique de l'ion. Les ions chargés positivement sont attirés vers la cathode et les ions chargés négativement sont attirés vers l'anode.

La mobilité électrophorétique d'un composé dépend du pH et de la force ionique de l'électrolyte ainsi que des interactions éventuelles de l'analyte avec les espèces présentes dans l'électrolyte (tension actif) [12].

### III.2.4. Ecoulement électro-osmotique

L'écoulement de l'électrolyte est le second facteur qui détermine la migration des solutés. La vitesse de l'écoulement électro osmotique  $V_{feo}$  ( $m.s^{-1}$ ) est reliée à la densité de charge portée par le capillaire  $\xi$  ( $m^3.Kg^2.C^{-3}.s^{-4}$ ), au champ électrique appliqué  $E$  ( $V.m^{-1}$ ), à la viscosité de la solution tampon  $\eta$  ( $Pa.s^{-1}$ ) et à la constante diélectrique du tampon  $\epsilon$  ( $C^2.N^{-1}.m^{-2}$ ) (7, 22) :  $V_{feo} = \frac{\epsilon \xi E}{4 \pi \eta} = \mu_{feo} E$  ( $\mu_{feo}$  : **mobilité électroosmotique en  $m^2.s^{-1}.V^{-1}$** ).

L'application d'une tension à travers un tube capillaire rempli d'un électrolyte provoque un flux de solution s'écoulant de l'anode vers la cathode. Ce flux résulte de l'ionisation des groupements silanols à caractère acide de la paroi interne du tube capillaire en contact avec la solution.

Lorsque le pH est supérieur à 3, ces groupements silanols (Si-OH) du tube capillaire sont ionisés en silanoates (Si-O<sup>-</sup>). Pour maintenir l'électroneutralité, ces sites anioniques attirent les cations présents dans la solution afin de former une couche cationique mobile.

Entre ces deux couches, il se crée une différence de potentiel (le potentiel zéta), dont la valeur dépend de la concentration de l'électrolyte et du pH. Lorsque la tension est appliquée, les cations migrent vers la cathode. Les molécules d'eau, qui solvatent les cations, se déplacent aussi ; ce qui provoque un écoulement global de la solution. Les anions sont également entraînés et progressent de façon contre – électro osmotique [22].

L'écoulement électro-osmotique dépend fortement de la force ionique et du pH de l'électrolyte ; ce dernier paramètre conditionne le degré d'ionisation des groupements silanols et la densité de la double couche. L'ajout de certains

tensioactifs dans l'électrolyte peut inverser la polarité de la paroi interne du tube capillaire de silice vierge ; ce qui entraîne l'inversion du flux électro osmotique.

### III.2.5. Mobilité apparente

À Chaque ion s'associe une mobilité apparente ( $\mu_{app}$ ) qui est la somme algébrique de la mobilité électrophorétique et de la mobilité électro-osmotique :

$$\mu_{app} = \mu_{ep} + \mu_{feo} = LI / t V$$

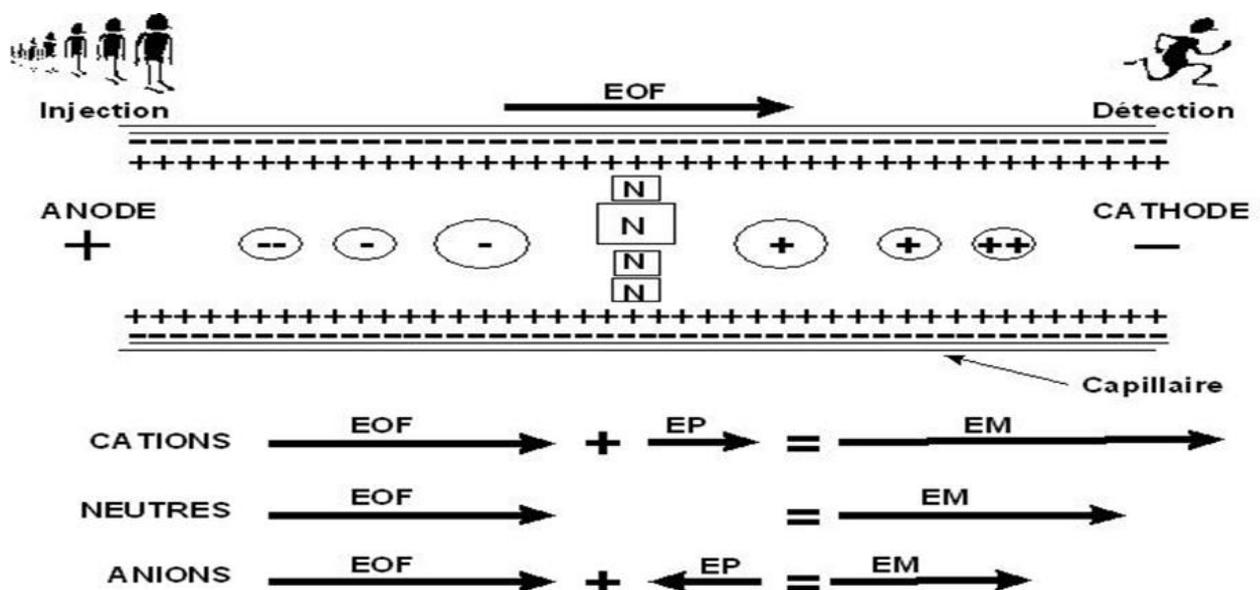
L : longueur totale du capillaire (cm)

l : longueur du capillaire jusqu'au détecteur (cm)

t : temps de migration (min)

V : tension appliquée (V)

De ce fait, l'injection anodique d'un échantillon constitué d'espèces cationiques, anioniques et neutres, conduit à la migration successive vers la cathode des cations, des espèces neutres et des anions (*Figure 8*).



**Figure 8:** *Ordre de migration des anions, des cations et des espèces neutres lors d'une analyse en électrophorèse capillaire.*

EOF : flux électro osmotique ; EP : migration électrophorétique ;

N : espèce neutre ; EM : mobilité apparente

### **III.2.6. Avantages et inconvénients de l'électrophorèse capillaire**

Les principaux avantages de l'EC sont une grande efficacité dans la séparation, la rapidité du développement de nouvelles méthodes de séparation, un coût d'analyse raisonnable et une grande versatilité de séparation, permettant d'analyser une grande variété de composés (allant des petits ions inorganiques aux protéines).

De plus, les faibles volumes d'échantillon injectés rendent cette technique compatible à l'analyse de fluides biologiques. Par ailleurs, l'EC est attractive pour des raisons écologiques puisque la plupart des séparations ont lieu en milieu aqueux. En outre, en raison d'un principe de séparation qui lui est propre, l'EC est une technique de séparation complémentaire aux techniques chromatographiques.

Toutefois, les faibles volumes d'échantillon injectés associés à un faible trajet optique, dans le cas de la détection UV, engendrent des problèmes de sensibilité, constituant un frein pour l'analyse d'éléments présents à l'état de traces dans des fluides biologiques, par exemple.

### **III.2.7. Techniques pour l'amélioration du seuil de quantification**

Quelques stratégies peuvent être envisageables pour palier aux problèmes de sensibilité associés à l'EC. Des systèmes de détection plus sensibles, tels que la spectrométrie de masse (SM) [2] ou la fluorescence induite par laser (LIF), peuvent être utilisés dans le but d'obtenir des seuils de détection très faibles.

Ces deux systèmes sont susceptibles de détecter des composés présents à l'état de traces. Toutefois, la mise en œuvre de tels détecteurs s'avère plus onéreuse et plus fastidieuse.

**DEUXIEME PARTIE**

***TRAVAIL  
EXPERIMENTAL***

## **I. CADRE DE L'ETUDE**

La présente étude s'inscrit dans une des thématiques de recherche du Laboratoire de Chimie Analytique et de Bromatologie de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de Dakar consistant à contribuer à la maîtrise de la qualité des médicaments disponibles sur le marché sénégalais, par le développement et la mise en œuvre de méthodes de contrôles valides, rapides et bon marché.

Cette présente étude porte sur le contrôle de la qualité de médicaments utilisés au Sénégal et pour lesquels des méthodes de dosage de leurs principes actifs par EC ont préalablement été validées à l'école de Pharmacie de Fribourg en Suisse. Elle s'inscrit dans un projet global de collaboration, de transfert de compétences et surtout de partage d'expériences dans le contrôle de la qualité des médicaments.

## **II. OBJECTIFS DE L'ETUDE**

### **II.1. Objectif général**

Il s'agit d'appliquer et d'optimiser si nécessaire, des méthodes d'analyses par EC suffisamment sensible et précise afin d'évaluer la qualité de médicaments à base de quinine, de furosémide, de phénobarbital, de l'association sulfaméthoxazole et triméthoprime.

### **II.2. Objectifs spécifiques**

Il s'agira :

- d'échantillonner les différents médicaments ci-dessus cités au niveau des différents secteurs de distribution du médicament au Sénégal ;
- de procéder au contrôle de la qualité de ces médicaments par EC ;
- de S'assurer de la sécurité du circuit de distribution des médicaments, afin d'éviter d'éventuelles fraudes ou contrefaçons sur ces produits ;
- rédiger les rapports de résultats et les partager avec toutes les parties impliquées dans le projet ;

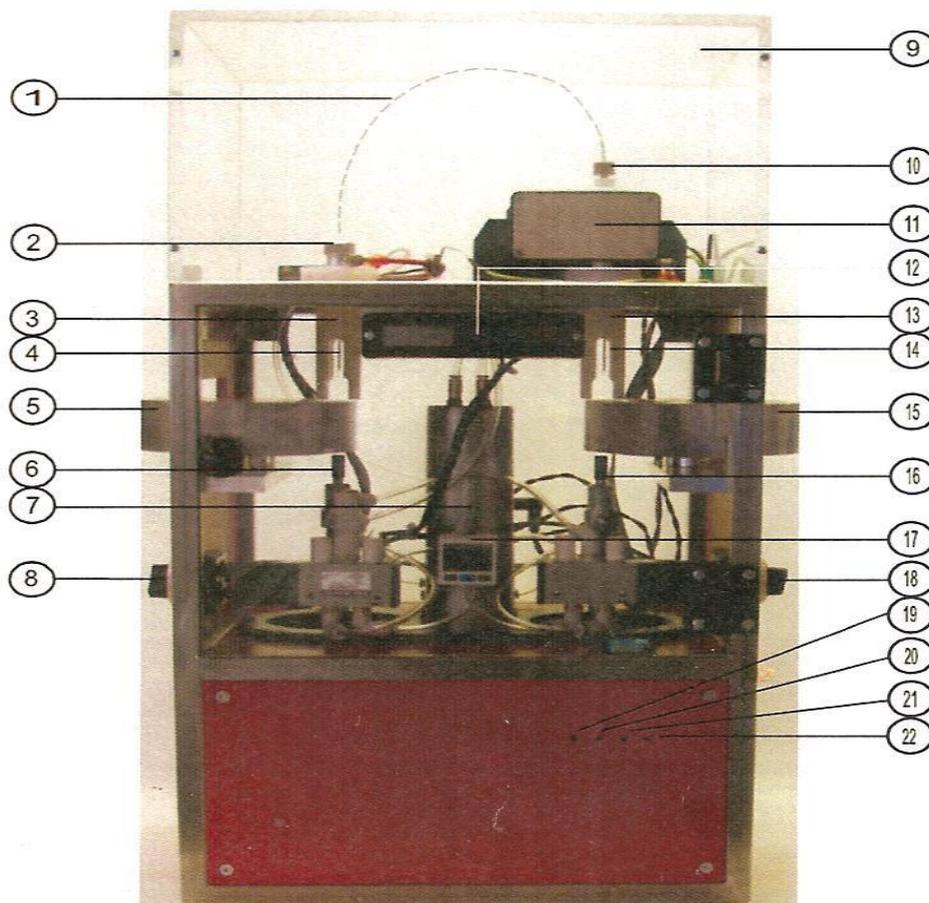
- aider les autorités compétentes à la prise de décisions en cas de non-conformité des médicaments contrôlés.

### III. MATERIELS ET METHODES

#### III.1. Matériel

##### III.1.1. Appareil d'électrophorèse capillaire

L'appareil d'électrophorèse capillaire budget ECB7 utilisé dans le cadre de cette étude a été développé et mis au point par les chimistes de l'école d'ingénieurs de Fribourg (EIA-FR) en Suisse en collaboration avec l'école de pharmacie de Genève-Lausanne. L'appareil ECB7 est représenté sur la *Figure 9* ci-après.



***Figure 9 : L'appareil d'électrophorèse capillaire***

- 1 : Tube capillaire,
- 2 : Support INLET capillaire
- 3 : Guide Vial INLET
- 4 : Electrode INLET
- 5 : Carrousel pour Vial INLET
- 6 : Piston INLET
- 7 : Réservoir air comprimé
- 8 : Contrôle montée-descente Vial INLET
- 9 : Capot de protection
- 10 : Support OUTLET capillaire
- 11 : Détecteur UV LED 255
- 12 : Indicateur de température
- 13 : Guide Vial OUTLET
- 14 : Electrode OUTLET
- 15 : Carrousel pour Vial OUTLET
- 16 : Piston OUTLET
- 17 : Indicateur de pression d'air comprimé
- 18 : Contrôle montée-descente Vial OUTLET
- 19 : Indicateur sécurité capot de protection
- 20 : Indicateur sécurité porte avant
- 21 : Indicateur d'état de l'appareil
- 22 : Indicateur com. Détecteur
- 23 : Interrupteur alimentaire générale
- 24 : Prise connexion RJ45

### **III.1.2. Petit matériel**

- Pilon
- Mortier
- Papier aluminium
- Paire de ciseau
- Stylos feutre
- Filtre cartouche de 0,45 $\mu$ m
- Filtre
- Para film
- Réfrigérateur
- Balance de précision Sartorius
- pH-mètre Metler
- Bains à ultrason
- Agitateur

### **III.1.3. Verrerie**

- Fioles jaugées de 10, 20, 25, 50, 100, 200 et 250ml
- Béchers
- Sabot de pesée
- Erlenmeyers
- Kit de pipette de 1 à 25ml
- Vial en verre de 1ml.

### III.1.4. Substances de référence

**Tableau VI : Substances de référence**

Dénomination Commune Internationale (DCI)	Présentation
Procaïne	Poudre
Quinine	Poudre
Furosémide	Poudre
Phénobarbital	Poudre
Sulfaméthoxazole	Poudre
Triméthoprime	Poudre

### III.1.5. Réactifs

- Acide borique
- Acide ortho phosphorique
- Hydroxyde de sodium
- Méthanol (MeOH) de qualité CLHP
- Acide acétique
- Acétonitrile
- Acétate de sodium trihydraté
- Acide méthane sulfonique
- Diéthylamine
- Triéthylamine
- Tétrahydrofurane

## **III.2. Méthodes**

### **III.2.1. Méthode d'échantillonnage**

La collecte des différents échantillons de médicaments a été effectuée au hasard dans les trois secteurs de vente de médicaments au Sénégal (public, privé et informel) et au niveau des régions de Dakar, de Diourbel, de Kaolack, de Saint-Louis et de Ziguinchor. Chaque échantillon est conditionné dans un sachet scellé, correctement stocké (les indications du fabricant) et avec les informations suivantes :

- description du produit (nom, principe actif, dosage, forme, emballage, conservation) ;
- date d'achat, date de péremption, date de réception (à l'officine et à l'hôpital) du produit si possible, nom du fournisseur si possible ;
- lieu d'achat (hôpital, centre de santé, pharmacie privée, vendeurs ambulants, boutique, entrepôt).

### **III.2.2. Méthodes d'identification et de dosage**

Plusieurs protocoles d'analyse sont développés dans le cadre du contrôle de la qualité des médicaments. La méthode mise en œuvre dans le cadre de cette étude est une technique d'analyse par EC après extraction du principe actif. Cette technique a été préalablement validée par l'équipe Suisse ayant développé et mis au point l'appareil ECB7.

Tout tube capillaire neuf est pré conditionné successivement pendant 5minutes avec chacune des solutions suivantes : MeOH, eau, soude 1M, soude 0,1M, eau, acide chlorhydrique (0,1M lors d'analyse en milieu acide), eau puis avec la solution tampon d'analyse.

Ainsi, ce pré-conditionnement est aussi fait entre deux analyses différentes. Et entre deux analyses consécutives, le tube capillaire est rincé avec du MeOH (3min) puis avec la solution tampon d'analyse (3 min).

Avant l'arrêt de l'appareil ECB7, le tube capillaire est reconditionné successivement avec de l'eau, du MeOH et de l'air.

### *III.2.2.1. Méthode de dosage de la quinine*

#### **III.2.2.1.1. Préparation des solutions de travail : électrolytes, tampons, solutions mères des standards**

Les solutions de travail sont obtenues par dilution de la solution mère.

##### **✚ Solution 1 = Hydroxyde de sodium (NaOH) 0,5M**

Une quantité de 2 g environ NaOH sont pesés et placés dans une fiole jaugée de 100 ml complétée à la jauge avec de l'eau ultra pure.

##### **✚ Solution 2 = Tampon pH 2,5 pour l'électrolyte 50mM**

Dans un bécher de 100 ml, sont introduits exactement 0,576 g d'acide ortho phosphorique 85% et 90 ml d'eau ultra pure. A l'aide d'un pH-mètre, le pH est mesuré puis ajusté à 2,5 en ajoutant de la solution 1 avec une pipette pasteur. Par la suite, la solution est transvasée dans une fiole jaugée de 100 ml complétée à la jauge avec de l'eau ultra pure. La solution obtenue est dégazée pendant 15 min dans un bain à ultra-sons.

##### **✚ Solution 3 = Tampon pH 2,5 pour électrolyte 5mM**

La solution 3 est obtenue à partir de la solution 2 en prélevant à la pipette 10 ml de cette dernière qui est introduit dans une fiole jaugée de 100 ml. La fiole est complétée à la jauge avec de l'eau ultra pure et la solution obtenue est dégazée pendant 15 min dans un bain à ultra-sons.

##### **✚ Solution 4 = Solution mère de quinine 2000 mg/l**

La solution 4 est obtenue par dissolution de 20 mg de quinine pure anhydre (PM = 324,41g/mole) dans une fiole jaugée de 10 ml complétée à la jauge avec du MeOH de qualité CLHP.

**✚ Solution 5 = Solution mère de procaine 2000 mg/l (standard interne)**

La solution 5 est obtenue par dissolution de 20 mg de procaine (PM = 324,41g/mole) dans une fiole jaugée de 10 ml complétée à la jauge avec du MeOH de qualité CLHP.

**✚ Solution 6 :**

**■ Préparation d'un échantillon solide**

Pour la préparation de l'échantillon, 3 pastilles du médicament sont pesées (250 à 300 mg de sulfate de quinine par pastille puis écrasées au mortier. L'équivalent de la masse d'une pastille (poids moyen d'une pastille ou prise d'essai) est pesé, soit environ 1/3 de la masse totale des 3 pastilles.

Cette prise d'essai est introduite dans un bécher de 50 ml ainsi que 15 ml d'un mélange MeOH/eau 1:1. Après passage au bain à ultra-sons pendant 10 min, la solution est filtrée à l'aide d'une seringue et d'un filtre cartouche de 0,45µm, puis transvasée dans une fiole jaugée de 25 ml complétée à la jauge avec le mélange MeOH/eau 1:1.

La solution obtenue est la solution 6.

**■ Préparation d'un échantillon liquide**

Une quantité de 5 ml de la solution médicamenteuse de quinine (100 mg de quinine par ml de solution) est prélevée puis introduite dans un bécher de 50 ml et 15 ml d'un mélange MeOH/eau 1:1 sont rajoutés.

Après passage au bain à ultrasons pendant 10 min, la solution est filtrée à l'aide d'une seringue et d'un filtre cartouche de 0,45µm puis introduite dans une fiole jaugée de 25 ml qui est complétée à la jauge avec un mélange MeOH/eau 1:1.

La solution obtenue est la solution 6.

### III.2.2.1.2. Préparation des solutions à injecter : standards et échantillons à analyser

#### ■ **Injection 1 = Solution de calibration de la quinine 1**

Dans un Vial pour ECB, 0,2 ml de la solution 4 (= solution mère de quinine), 0,1 ml de la solution 5 (= solution mère de procaine) et 0,7 ml de la solution 3 (= tampon pH 2,5 ; 5 mM) sont introduits.

Concentration de l'**Injection 1** : 400 mg/l quinine + 200 mg/l procaine.

#### ■ **Injection 2 = Solution de calibration de la quinine 2**

Dans un Vial pour ECB, 0,2 ml de la solution 4 (= solution mère de quinine), 0,1 ml de la solution 5 (= solution mère de procaine) et 0,7 ml de la solution 3 (= tampon pH 2,5 ; 5 mM) sont introduits.

Concentration de l'**Injection 2** : 400 mg/l quinine + 200 mg/l procaine.

#### ■ **Injection 3 = Echantillon**

Dans une fiole jaugée de 10 ml, une quantité de 0,2 ml de la solution 6 (= solution mère d'échantillon) de concentration 200 mg/l est ajoutée à 1 ml de la solution 5 (= solution mère de procaine) puis le complément à la jauge est effectué avec la solution 3 (= tampon pH 2,5 ; 5mM). Une quantité de 1 ml environ de la solution **Injection 3** est transvasée dans un Vial pour ECB.

Concentration de l'**Injection 3** : 200 mg/l quinine + 200 mg/l procaine.

**Remarque** : Les solutions **Injection 1** et **Injection 2** sont identiques, afin d'avoir 2 points d'étalonnage.

### III.2.2.1.3. Conditions d'analyse de la quinine

Les solutions **Injection 1**, **Injection 2** et **Injection 3** sont injectées et analysées dans les conditions suivantes :

### **Capillaire**

Type de capillaire : TSU UV-Transparent FS Tubing

Longueur : 51 cm

Diamètre interne : 50  $\mu\text{m}$

Solution tampon :  $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{NaOH}$  pH = 2,5 ; 50 mM

### **Paramètres de pré-conditionnement**

Durée : 3 min avec la solution 2 (tampon pH = 2,5 ; 50 mM).

### **Paramètres de l'injection**

Durée : 4s

Pression : 100 mbar

### **Paramètres de mesures**

Vitesse d'acquisition : 9,5 Hz

Sensibilité : 4

Tension de séparation : 20 kV

Rampe de tension : 1 kV/s

Durée : 10 min

### **III.2.2.2. Méthode d'analyse du furosémide**

Des changements ont été effectués par rapport au protocole fourni par l'équipe suisse pour l'analyse du furosémide. Ces modifications portent particulièrement sur la valeur du pH de la solution tampon utilisée comme électrolyte et sur les volumes prélevés pour la préparation de la solution de calibration.

La valeur du pH de la solution tampon (pH = 9,8) qui nous avait été fournie pour la solution tampon dans le protocole d'analyse du furosémide a endommagé le capillaire du fait de la basicité du tampon. De ce fait, afin d'optimiser les conditions d'analyse du furosémide et du phénobarbital, une série de solutions

tampons moins alcalines ont été utilisées, en tenant compte des constantes d'acidité du furosémide et du phénobarbital, jusqu'à détermination du pH adéquat pour l'analyse.

Le choix du pH de l'électrolyte est essentiel lors du développement d'une méthode en EC puisqu'il conditionne le taux d'ionisation des analytes ainsi que l'ionisation des groupements silanols de la paroi interne du capillaire. Les couples acido-basiques du furosémide et du phénobarbital ayant des pKa de 3,9 et de 7,2 respectivement, un tampon  $\text{H}_3\text{BO}_3 / \text{NaOH}$  (10mM, pH 6,12) a été choisi.

Le phénobarbital est le standard interne pour le dosage du furosémide. L'analyse de ces deux molécules a été effectuée avec une solution tampon de pH = 6,12.

Les volumes utilisés pour la préparation de la solution de calibration du furosémide ont également été modifiés par rapport aux données fournies par l'équipe suisse.

■ ***Pour la solution de calibration du furosémide :***

Dans l'ancienne méthode, 0,2 ml de la solution 4 (= solution mère de furosémide) et 0,05 ml de la solution 5 (= solution mère de phénobarbital) sont complétés avec 0,75 ml de la solution 3 (= tampon pH = 9,8; 10 mM).

Concentrations de la solution d'injection: 400 mg/l de furosémide + 100 mg/l de phénobarbital.

Pour la nouvelle méthode, dans un Vial pour ECB, 0,2 ml de la solution 4 (= solution mère de furosémide) et 1ml de la solution 5 (= solution mère de phénobarbital) sont complétés avec 3,8ml de la solution 3 (= tampon pH = 6,12 ; 10mM).

Concentrations de la solution d'injection: 80 mg/l de furosémide + 400 mg/l de phénobarbital.

### ■ **Pour la solution d'injection échantillon furosémide**

- **Ancienne méthode** : dans un Vial pour ECB, la quantité nécessaire de la solution 6 (= solution mère d'échantillon) pour obtenir une concentration d'environ 100 à 200 mg/l, soit 0,1 ml, est ajoutée à 0,05 ml de la solution 5 (= solution mère de phénobarbital) avant l'addition de 0,85 ml de la solution 3 (= tampon pH = 9,8; 10mM).

Concentrations de la solution d'injection : entre 100 et 200 mg/l de furosémide + 100 mg/l de phénobarbital

- **Nouvelle méthode** : dans un Vial pour ECB, la quantité nécessaire de la solution 6 (= solution mère d'échantillon) pour obtenir une concentration de 64 mg/l, soit 0,2 ml, est ajoutée à 1 ml de la solution 5 (= solution mère de phénobarbital) et 3,8 ml de la solution 3 (= tampon pH = 6,12 ; 10mM).

Concentrations de la solution d'injection : 64 mg/l de furosémide + 400 mg/l de phénobarbital.

Les nouvelles conditions de pH et de volumes permettent d'obtenir une bonne séparation des molécules analysées.

### **III.2.2.2.1. Préparation des solutions de travail : électrolytes, tampons, solutions mères des standards**

#### **Solution 1 = Solution de NaOH**

Dans une fiole jaugée de 50 ml, une quantité de 4g de NaOH est dissoute dans de l'eau ultra pure.

#### **Solution 2 = Tampon pH 6,12 pour l'électrolyte 100 mM**

Une quantité de 0,3092g d'acide borique et 10 ml d'eau ultra pure sont introduits successivement dans un bécher de 50 ml. A l'aide d'un pH-mètre, le pH est mesuré puis ajusté à 6,12 en ajoutant de la solution 1 avec une pipette pasteur. La solution résultante est transvasée dans une fiole jaugée de 50 ml complétée à la

jauge avec de l'eau ultra pure puis dégazée pendant 15 min dans un bain à ultra-sons.

**✚ Solution 3 = Tampon pH 6,12 pour électrolyte 10 mM**

Une quantité de 1 ml de la solution 2 est introduite dans une fiole jaugée de 10 ml complétée à la jauge avec de l'eau ultra pure. La solution obtenue est dégazée durant 3 à 15 min dans un bain à ultra-sons.

**✚ Solution 4 = Solution mère de furosémide 2000 mg/l**

La solution 4 est obtenue par dissolution de 20 mg de furosémide pure (PM = 330,74g/mole) dans une fiole jaugée de 10 ml avec du méthanol de qualité CLHP.

**✚ Solution 5 = Solution mère de phénobarbital 2000mg/l (standard interne)**

La solution 5 est obtenue par dissolution de 20 mg de phénobarbital pur (PM = 332,24g/mol) dans une fiole jaugée de 10 ml avec du méthanol de qualité CLHP.

**■ Préparation d'un échantillon solide**

Pour la préparation de l'échantillon, 3 pastilles du médicament sont pesées (30 à 50 mg de furosémide par pastille) puis écrasées au mortier. L'équivalent de la masse d'une pastille (poids moyen d'une pastille ou prise d'essai) est pesé, soit environ 1/3 de la masse totale des 3 pastilles.

Cette prise d'essai est introduite dans un bécher de 50 ml ainsi que 15 ml d'un mélange MeOH/eau 1:1. Après passage au bain à ultra-sons pendant 10 minutes, la solution est filtrée à l'aide d'une seringue et d'un filtre cartouche de 0,45 µm. La solution est ensuite transvasée dans une fiole jaugée de 25 ml complétée à la jauge avec le mélange MeOH/eau 1:1 afin d'obtenir la solution S6.

### ■ Préparation d'un échantillon liquide

Une quantité de 5 ml de la solution médicamenteuse de furosémide (10mg de furosémide par ml de solution) est prélevée à l'aide d'une pipette puis introduite dans un bécher de 50 ml avant addition de 15 ml d'un mélange MeOH/eau 1:1.

Après passage au bain à ultrasons pendant 10 min, la solution est filtrée à l'aide d'une seringue et d'un filtre cartouche de 0,45 µm, puis mise à la jauge dans un ballon de 25 ml avec le mélange MeOH/eau 1:1.

### III.2.2.2.2. – Préparation des solutions à injecter : standards et échantillons à analyser

#### ■ *Injection 1* = Solution de calibration du furosémide 1

Dans un Vial pour ECB, 0,2 ml de la solution 4 (= solution mère de furosémide) et 1 ml de la solution 5 (= solution mère de phénobarbital) sont complétés avec 3,8 ml de la solution 3 (= tampon pH = 6,12 ; 10 mM).

Concentration de l'**Injection 1** : 80 mg/l de furosémide + 400 mg/l de phénobarbital

#### ■ *Injection 2* = Solution de calibration du furosémide 2

Dans un Vial pour ECB, 0,2 ml de la solution 4 (= solution mère de furosémide) et 1 ml de la solution 5 (= solution mère de phénobarbital) sont complétés avec 3,8 ml de la solution 3 (= tampon pH = 6,12 ; 10 mM).

Concentration de l'**Injection 2** : 80 mg/l de furosémide + 400 mg/l de phénobarbital.

#### ■ *Injection 3* = Echantillon

Dans un Vial pour ECB, la quantité nécessaire de la solution 6 (= solution mère d'échantillon) pour obtenir une concentration de 64 mg/l, soit 0,2 ml, est ajoutée à 1 ml de la solution 5 (= solution mère de phénobarbital) et 3,8 ml de la solution 3 (= tampon pH = 6,12; 10 mM).

Concentration de l'**Injection 3** : 64 mg/l furosémide + 400 mg/l phénobarbital.

**Remarque** : Les solutions **Injection 1** et **Injection 2** sont identiques, afin d'avoir 2 points d'étalonnage.

### III.2.2.2.3. Conditions d'analyse du furosémide

Les solutions **Injection 1**, **Injection 2** et **Injection 3** sont injectées et analysées dans les conditions suivantes :

#### **Capillaire**

Type de capillaire: TSU UV-Transparent FS Tubing

Longueur: 5 cm

Diamètre interne: 50µm

Solution tampon: H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>/ NaOH pH =9,8 ; 100 mM

#### **Paramètres de pré-conditionnement**

**Durée:** 3 min avec solution 2 (Tampon pH = 6,12 ; 100 mM)

#### **Paramètres d'injection**

**Durée:** 8s

**Pression:** 100 mbar

#### **Paramètres de mesures**

**Vitesse d'acquisition :** 9,5 Hz

**Sensibilité :** 4

**Tension de séparation:** 20 kV

**Rampe de tension :** 1 kV/s

**Durée :** 15 min.

### ***III.2.2.3. Analyse du phénobarbital***

#### **III.2.2.3.1. Préparation des solutions de travail : électrolytes, tampons, solutions mères des standards**

##### **+ Solution 1 = Solution de NaOH**

Dans une fiole jaugée de 50 ml, une quantité de 4g de NaOH est dissoute dans de l'eau ultra pure.

##### **+ Solution 2 = Tampon pH 6,12 pour l'électrolyte 100 mM**

Dans un bécher de 50 ml, une quantité de 0,3092g environ d'acide borique et 10 ml d'eau ultra pure sont introduits. A l'aide d'un pH-mètre, le pH est mesuré puis ajusté à 6,12 en ajoutant de la solution 1 avec une pipette pasteur. La solution résultante est transvasée dans une fiole jaugée de 50 ml qui est mise à la jauge avec de l'eau ultra pure pour être ensuite dégazée pendant 15 min dans un bain à ultra-sons.

##### **+ Solution 3 = Tampon pH 6,12 pour électrolyte 10 mM**

Une quantité de 1 ml de la solution 2 est introduite dans une fiole jaugée de 10 ml pour mettre ensuite à la jauge avec de l'eau ultra pure et dégazer durant 3 à 15 min dans un bain à ultra-sons.

##### **+ Solution 5 = Solution mère de phénobarbital 2000 mg/l**

La solution mère est obtenue par dissolution de 20 mg de phénobarbital pure (PM = 332,24g/mole) dans un ballon jaugé de 10 ml avec du méthanol de qualité CLHP.

##### **+ Solution 4 = Solution mère de furosémide 2000 mg/l (standard interne)**

La solution 4 est obtenue par dissolution de 20 mg de furosémide pure (PM=330,74g/mole) dans une fiole jaugée de 10 ml avec du MeOH de qualité CLHP.

### ■ Préparation d'un échantillon solide

Pour la préparation de l'échantillon, 3 pastilles du médicament sont pesées (100 mg de phénobarbital par pastille) puis écrasées au mortier. L'équivalent de la masse d'une pastille (poids moyen d'une pastille ou prise d'essai) est pesé, soit environ 1/3 de la masse totale des 3 pastilles.

Cette prise d'essai est introduite dans un bécher de 50 ml ainsi que 15 ml d'un mélange MeOH/eau 1:1. Après passage au bain à ultra-sons pendant 10 min, la solution est filtrée à l'aide d'une seringue et d'un filtre cartouche de 0,45 µm, puis transvasée dans une fiole jaugée de 25 ml complétée à la jauge avec le mélange MeOH/eau 1:1. La solution obtenue est la solution 6.

### ■ Préparation d'un échantillon liquide

Une quantité de 5 ml de la solution médicamenteuse de phénobarbital (40 mg phénobarbital par 2 ml de solution) est prélevée puis introduite dans un bécher de 50 ml et 15 ml d'un mélange MeOH/eau 1:1 sont rajoutés.

Après passage au bain à ultrasons pendant 10 min, la solution est filtrée à l'aide d'une seringue et d'un filtre cartouche de 0,45 µm puis introduite dans une fiole jaugée de 25 ml qui est complétée à la jauge avec un mélange MeOH/eau 1:1. La solution obtenue est la solution 6.

### III.2.2.3.2. Préparation des solutions à injecter : standards et échantillons à analyser

#### ■ *Injection 1* = Solution de calibration du Phénobarbital 1

Dans un Vial pour ECB, 0,2 ml de la Solution 4 (= solution mère furosémide) et 2 ml de la Solution 5 (= solution mère phénobarbital) sont complétés avec 7,8 ml de la Solution 3 (= tampon pH = 6,2 ; 10 mM).

Concentration **Injection 1** : 80 mg/l phénobarbital+ 400 mg/l furosémide.

### ■ **Injection 2 = Solution de calibration du Phénobarbital 2**

Dans un Vial pour ECB, 0,2 ml de la Solution 4 (= solution mère furosémide) et 2 ml de la Solution 5 (= solution mère phénobarbital) sont complétés avec 7,8 ml de la Solution 3 (= tampon pH = 6,2 ; 10 mM).

Concentration **Injection 2** : 80 mg/l phénobarbital +400 mg/l furosémide

### ■ **Injection 3 = Echantillon**

Dans un Vial pour ECB, la quantité nécessaire de Solution 6 (= solution mère d'échantillon) pour obtenir une concentration de 80 mg/l, soit 0,2 ml est ajouté à 2 ml de la Solution 5 (= solution mère phénobarbital) puis complété avec 7,8 ml de la Solution 3 (= tampon pH = 6,2 ; 10 mM).

Concentration **Injection 3** : Entre 80 mg/l furosémide + 400 mg/l phénobarbital.

**Remarques** : les solutions **Injection 1** et **Injection 2** sont identiques, afin d'avoir 2 points d'étalonnage.

### **III.2.2.3.3. Conditions d'analyse du phénobarbital**

Les **Injection 1**, **2** et **3** sont injectées et analysées dans les conditions suivantes :

#### **Capillaire**

Type de capillaire: TSU UV-Transparent FS Tubing

Longueur: 5 cm

Diamètre interne: 50µm

Solution tampon: H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>/NaOH pH =9,8; 100 mM

#### **Paramètres de Pré-conditionnement**

Durée : 3 min avec solution 2 (Tampon pH = 6,2; 100 mM).

### **✚ Paramètres Injection**

Durée: 8s

Pression: 100 mbar

### **✚ Paramètres de Mesures** Vitesse d'acquisition : 9,5 Hz

Sensibilité : 4

Tension de séparation: 20 kV

Rampe de tension : 1 kV/s

Durée : 15 min.

### *III.2.2.4. Analyse du sulfaméthoxazole triméthoprime*

#### **III.2.2.4.1. Préparation des solutions de travail : Electrolytes, tampon, solutions mères des standards**

##### **✚ Solution 1 = solution de NaOH**

Dans une fiole jaugée de 50 ml, 4g de NaOH sont dissouts dans de l'eau ultra pure.

##### **✚ Solution 2 = Tampon pH 6,1 pour l'électrolyte 50 mM**

Dans un bécher de 50 ml on introduit environ 0,2882 g d'acide borique avec 30 ml d'eau Ultra pure. A l'aide d'un pH-mètre, le pH est mesuré, puis ajusté à 6,1 en ajoutant de la Solution 1 avec une pipette pasteur. La solution résultante est transvasée ensuite dans une fiole jaugée de 50 ml puis mis à la jauge avec de l'eau Ultra pure pour être ensuite dégazée pendant 15 min dans un bain à ultrasons.

##### **✚ Solution 3 = Tampon pH 6,1 pour électrolyte 5 mM**

Une quantité de 10 ml de la solution 2 est introduite dans une fiole jaugée de 100 ml pour mettre ensuite à la jauge avec de l'eau ultra pure et dégazer durant 3 à 15 min dans un bain à ultra-sons.

**✚ Solution 4 = Solution mère de sulfaméthoxazole 2000mg/l**

La solution 4 est obtenue par dissolution de 20 mg de sulfaméthoxazole pure (PM = 253,28 g/mole) dans une fiole jaugée de 10 ml avec du MeOH de qualité CLHP.

**✚ Solution 5 = Solution mère de triméthoprime 2000 mg/l**

La solution 5 est obtenue par dissolution de 20 mg de triméthoprime pure (PM = 290,32g/mole) dans une fiole jaugée de 10 ml avec du MeOH de qualité CLHP.

**✚ Solution 6 = Solution mère de procaine 2000 mg/l (standard interne)**

La solution 6 est obtenue par dissolution de 20 mg de procaine pure (PM = 324,41 g/mole) dans une fiole jaugée de 10 ml avec du MeOH de qualité CLHP.

**✚ Solution 7 = Solution mère de phénobarbital 2000 mg/l (standard interne.)**

La solution 7 est obtenue par dissolution de 20 mg de phénobarbital pure (PM = 332,24 g/mole) dans une fiole jaugée de 10 ml avec du MeOH de qualité CLHP

**III.2.2.4.2. Préparation des solutions à injecter : standards et échantillons à analyser**

**■ Injection 1 = Solution de calibration du sulfaméthoxazole 1**

Dans un Vial pour ECB, 0,2 ml de la Solution 4 (= solution mère sulfaméthoxazole) et 0,05 ml de la Solution 7 (= solution mère phénobarbital) sont complétés avec 0,75 ml de la Solution 3 (= tampon pH = 6,1; 5 mM).

Concentration **Injection 1** : 400 mg/l sulfaméthoxazole+100 mg/l phénobarbital.

■ **Injection 2 = Solution de calibration du sulfaméthoxazole 2**

Dans un Vial pour ECB, 0,2 ml de la Solution 4 (= solution mère sulfaméthoxazole) et 0,05 ml de la Solution 7 (= solution mère phénobarbital) sont complétés avec 0,75 ml de la Solution 3 (= tampon pH = 6,1 ; 5 mM).

Concentration **Injection 2** : 400 mg/l sulfaméthoxazole + 100 mg/l phénobarbital.

**Remarques** : les solutions **Injection 1** et **Injection 2** sont identiques, afin d'avoir 2 points d'étalonnage.

■ **Injection 3 = Solution de calibration du triméthoprime 1**

Dans un Vial pour ECB, 0,2 ml de la Solution 5 (= solution mère triméthoprime) et 0,1 ml de la Solution 6 (= solution mère procaine) sont complétés avec 0,7 ml de la Solution 3 (= tampon pH = 6,1 ; 5 mM).

Concentration **Injection 3** : 400 mg/l triméthoprime + 200 mg/l procaine

■ **Injection 4 = Solution de calibration du triméthoprime 2**

Dans un Vial pour ECB, 0,2 ml de la Solution 5 (= solution mère triméthoprime) et 0,1 ml de la Solution 6 (= solution mère procaine) sont complétés avec 0,7 ml de la Solution 3 (= tampon pH = 6,1 ; 5 mM).

Concentration **Injection 4** : 400 mg/l triméthoprime + 200 mg/l procaine.

**Remarques** : les solutions **Injection 3** et **Injection 4** sont identiques, afin d'avoir 2 points d'étalonnage.

■ **Injection 5 = Echantillon analyse du sulfaméthoxazole**

Dans un Vial pour ECB, la quantité nécessaire de Solution 6 (= solution mère d'échantillon) pour obtenir une concentration de 160 mg/l, soit 0,2 ml est ajouté à 0,5 ml de la Solution 7 (= solution mère phénobarbital) puis complété avec 9,3 ml de la Solution 3 (= tampon pH = 6,1 ; 5 mM).

Concentration **Injection 3** : Entre 160 mg/l sulfaméthoxazole + 100 mg/l phénobarbital.

#### **Solution 6 :**

##### **■ Préparation d'un échantillon solide**

Pour la préparation de l'échantillon, 2 pastilles du médicament sont pesées (800 mg de sulfaméthoxazole et 160 mg de triméthoprime) par pastille puis écrasées au mortier. L'équivalent de la masse d'une pastille (poids moyen d'une pastille ou prise d'essai) est pesé, soit environ 1/8 de la masse totale des 2 pastilles.

Cette prise d'essai est introduite dans un bécher de 50 ml ainsi que 15 ml d'un mélange MeOH/eau 1:1. Après passage au bain à ultra-sons pendant 10 min, la solution est filtrée à l'aide d'une seringue et d'un filtre cartouche de 0,45 µm, puis transvasée dans une fiole jaugée de 25 ml complétée à la jauge avec le mélange MeOH/eau 1:1. La solution obtenue est la solution 6.

##### **■ Préparation d'un échantillon liquide**

Une quantité de 5 ml de la solution médicamenteuse (200 mg de sulfaméthoxazole et 40 mg par 5 ml de solution) est prélevée puis introduite dans un bécher de 50 ml et 15 ml d'un mélange MeOH/eau 1:1 sont rajoutés.

Après passage au bain à ultrasons pendant 10 min, la solution est filtrée à l'aide d'une seringue et d'un filtre cartouche de 0,45 µm puis introduite dans une fiole jaugée de 25 ml qui est complétée à la jauge avec un mélange MeOH/eau 1:1. La solution obtenue est la solution 6.

#### **Injection 6 = Echantillon analyse du triméthoprime**

Dans un Vial pour ECB, la quantité nécessaire de Solution 6 (= solution mère d'échantillon) pour obtenir une concentration de 64 mg/l, soit 0,2 ml est

ajouté à 0,5 ml de la Solution 6 (= solution mère procaine) puis complété avec 4,3 ml de la Solution 3 (= tampon pH = 6,1; 5 mM).

Concentration **Injection 3** : Entre 64 mg/l triméthoprimine + 200 mg/l procaine

### **III.2.2.4.3. Conditions d'analyse du sulfaméthoxazole**

Les **Injections 1, 2 et 5** sont injectées et analysées dans les conditions suivantes :

#### **✚ Capillaire**

Type de capillaire: TSU UV-Transparent FS Tubing

Longueur: 5 cm

Diamètre interne: 50µm

Solution tampon: H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> / NaOH pH =6,1 ; 50 mM.

#### **✚ Paramètres de Pré conditionnement**

**Durée:** 3 min avec solution 2 (Tampon pH = 6,1 ; 50 mM)

#### **✚ Paramètres Injection**

**Durée:** 8s

**Pression:** 50 mbar

#### **✚ Paramètres de Mesures**

**Vitesse d'acquisition :** 13,3 Hz

**Sensibilité :** 4

**Tension de séparation:** 20 kV

**Rampe de tension :** 1 kV/s

**Durée :** 1 min.

#### III.2.2.4.4. Conditions d'analyse du triméthoprim

Les **Injections 3, 4** et **6** sont injectées et analysées dans les conditions suivantes :

##### **Capillaire**

Type de capillaire: TSU UV-Transparent FS Tubing

Longueur: 51 cm

Diamètre interne: 50 µm

Solution tampon: H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> / NaOH pH =6,1; 50 mM

##### **Paramètres de Pré conditionnement**

**Durée:** 3 min avec solution 2 (Tampon pH = 6,1 ; 50 mM)

##### **Paramètres Injection**

**Durée:** 8s

**Pression:** 50 mbar

##### **Paramètres de Mesures**

Vitesse d'acquisition : 13,3 Hz

Sensibilité : 4

Tension de séparation: 20 kV

Rampe de tension : 1 kV/s

Durée : 6 min

## IV. RESULTATS

### IV.1. Résultats de la collecte des échantillons par molécule

Les résultats sont présentés sous forme de tableaux en fonction des molécules.

**Tableau VII : Présentation des échantillons de médicaments collectés à base de quinine**

<b>N°</b>	<b>Code de l'échantillon</b>	<b>Numéro de lot</b>	<b>Nom commercial</b>	<b>Dosage (mg)</b>	<b>Lieu de prélèvement</b>
<b>1</b>	Qqn/DK/E1/16-06-2012/01	E1	Quinimax®	125	Dakar
<b>2</b>	Qqn/DK/D4/16-06-2012/02	D4	Quinimax®	500	Dakar
<b>3</b>	Qqn/SL/E1/27-06-2012/01	E1	Quinimax®	125	Dakar
<b>4</b>	Qqn/SL/E2/27-06-2012/02	E4	Quinimax®	500	Saint Louis
<b>5</b>	Qqn/ZG/D4/22-06-2012/01	D4	Quinimax®	500	Ziguinchor
<b>6</b>	Qqn /ZG/E4/22-06-2012/02	E4	Quinimax®	125	Ziguinchor
<b>7</b>	Qqn/TB/E14/18-06-2012/01	E14	Quinimax®	125	Touba
<b>8</b>	Qqn/TB/13489/18-06-2012/02	13489	Quinimax®	125	Touba
<b>9</b>	Qqn/TB/05/18-06-2012/03	05	Surquina®	500	Touba
<b>10</b>	Qqn/LG/D2/27-07-2011/01	D2	Quinimax®	125	Louga
<b>11</b>	Qqn/VL/D3B/-13-09-2011/01	D3B	Quinimax®	125	Vélingara
<b>12</b>	Qqn/ZG/13067/03-08-2011/03	13067	Surquina®	125	Ziguinchor

**Tableau VIII : Présentation des échantillons de médicaments collectés à base de furosémide**

<b>N°</b>	<b>Code de l'échantillon</b>	<b>Numéro de lot</b>	<b>Nom commercial</b>	<b>Dosage (mg)</b>	<b>Lieu de prélèvement</b>
<b>1</b>	Furo/KS/2CU5C/11-01-2013/01	2CU5C	Lasilix®	40	Dakar
<b>2</b>	Furo/KS/2A45C/11-01-2013/02	2A45C	Lasilix®	40	Dakar
<b>3</b>	Furo/TB/1FH2D/18-06-2012/01	1FH2D	Lasilix®	40	Touba
<b>4</b>	Furo/DK/1G37F/16-06-2012/01	1G37F	Lasilix®	40	Dakar
<b>5</b>	Furo/DK/1EG1H/16-06-2012/02	1EG1H	Lasilix®	40	Dakar
<b>6</b>	Furo/DK/2F10A/16-06-2012/03	2F10A	Lasilix®	20	Dakar
<b>7</b>	Furo/DK/110205/11-04-2013/04	110205	Lasilix®	20	Dakar
<b>8</b>	Furo/DK/120107/11-04-2013/05	120107	Lasilix®	20	Dakar
<b>9</b>	Furo/KL/1F16A/26-06-2012/01	1F16A	Furosémide	20/2ml	Kaolack
<b>10</b>	Furo/SL/40C618/27-06-2012/01	40C618	Furosémide	20/2ml	Saint Louis

**Tableau IX : Présentation des échantillons de médicaments collectés à base de phénobarbital**

<b>N°</b>	<b>Code de l'échantillon</b>	<b>Numéro de lot</b>	<b>Nom commercial</b>	<b>Dosage (mg)</b>	<b>Lieu de prélèvement</b>
<b>1</b>	Pheno/TB/4713/18-06-2012/01	4713	Gardéнал®	100	TOUBA
<b>2</b>	Pheno/TB/4645/18-06-2012/02	4645	Gardéнал®	100	TOUBA
<b>3</b>	Pheno/KL/4713/26-06-2012/01	4713	Gardéнал®	100	Kaolack
<b>4</b>	Pheno/KL/4646/18-06-2012/02	4646	Gardéнал®	100	Kaolack
<b>5</b>	Pheno/KL/268/18-06-2012/03	268	Gardéнал®	100	Kaolack
<b>6</b>	Pheno/RB/3086/11-04-2013/01	3086	Gardéнал®	100	DAKAR
<b>7</b>	Pheno/DK/267/16-06-2012/01	267	Gardéнал®	40/2 ml	DAKAR
<b>8</b>	Pheno/DK/4643/16-06-2012/02	4643	Gardéнал®	100	DAKAR
<b>9</b>	Pheno/ZG/268/22-06-2012/01	268	Gardéнал®	40/2 ml	Ziguinchor
<b>10</b>	Pheno/ZG/4713/22-06-2012/02	4713	Gardéнал®	100	Ziguinchor
<b>11</b>	Pheno/SL/4713/27-06-2012/01	4713	Gardéнал®	100	Saint Louis

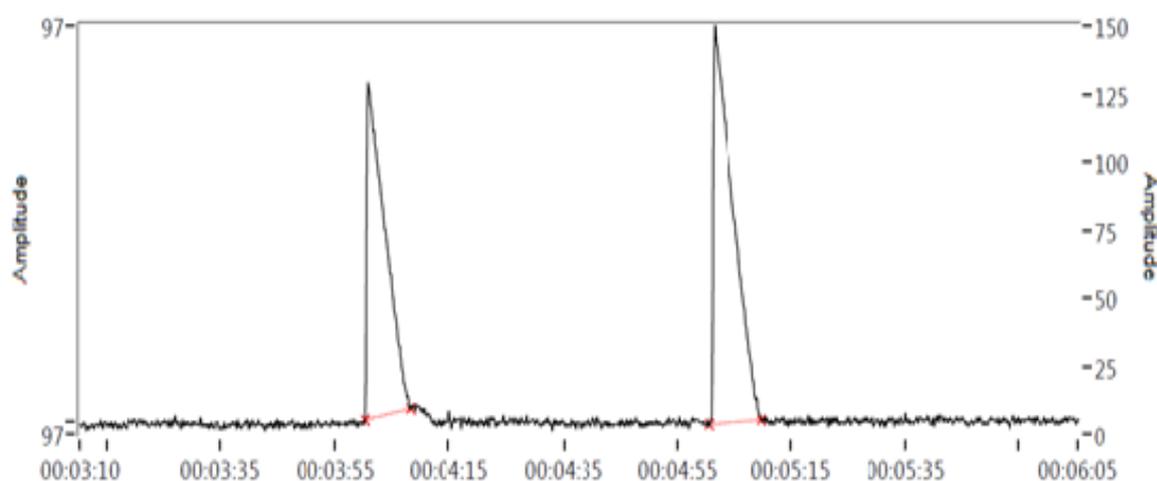
**Tableau X : Présentation des échantillons de médicaments collectés à base de sulfaméthoxazole-triméthoprime**

<b>N°</b>	<b>Code de l'échantillon</b>	<b>Numéro de lot</b>	<b>Nom commercial</b>	<b>Dosage (mg)</b>	<b>Lieu de prélèvement</b>
<b>1</b>	COTRIM/KL/F1095F71/24.06.2012/01	F1095F71	Bactrim® forte	800/160	Kaolack
<b>2</b>	COTRIM/ZG/311119/22.06.2012/01	311119	Cotrex	200/40/5 ml	Ziguinchor
<b>3</b>	COTRIM/KL/310921/24.06.12/03	310921	Cotrex	200/40 /5 ml	Kaolack
<b>4</b>	COTRIM/KL/110905/24.04.2012/02	110905	Cotrimoxazole Ubithera	400/80	Kaolack
<b>5</b>	COTRIM/LGI/168/12.04.2013/01	168	Cotrimoxazole	200/40/5 ml	Dakar
<b>6</b>	COTRIM/TB/111137/18.06.2012/01	111137	Co-trimoxazole	200/40/5 ml	Touba
<b>7</b>	COTRIM/ZG/110905/22.06.2012/02	110905	Cotrimoxazole	400/80	Ziguinchor

## IV.2. Résultats du dosage de la Quinine

### IV.2.1. Méthode de calcul du pourcentage en quinine chlorhydrate des échantillons analysés

Le principe du dosage repose sur la méthode de l'étalonnage interne. Dans le cas de la quinine, l'étalon interne utilisé est la procaine. Après injection des solutions d'étalonnage 1 et 2, une corrélation est établie entre la concentration en Quinine Chlorhydrate et le rapport Aire Quinine /Aire Procaine déterminé à partir de l'électrophorégramme suivant (*Figure 10*).



N°	Retention	Area	Rel. Area	Correct. Area	Height	Start	End	Width
1	04:00	0,55	42,72 %	0,137	0 mV	03:60	04:06	00:08
2	05:01	0,74	57,28 %	0,147	0 mV	05:00	05:09	00:09

Pic1=Quinine

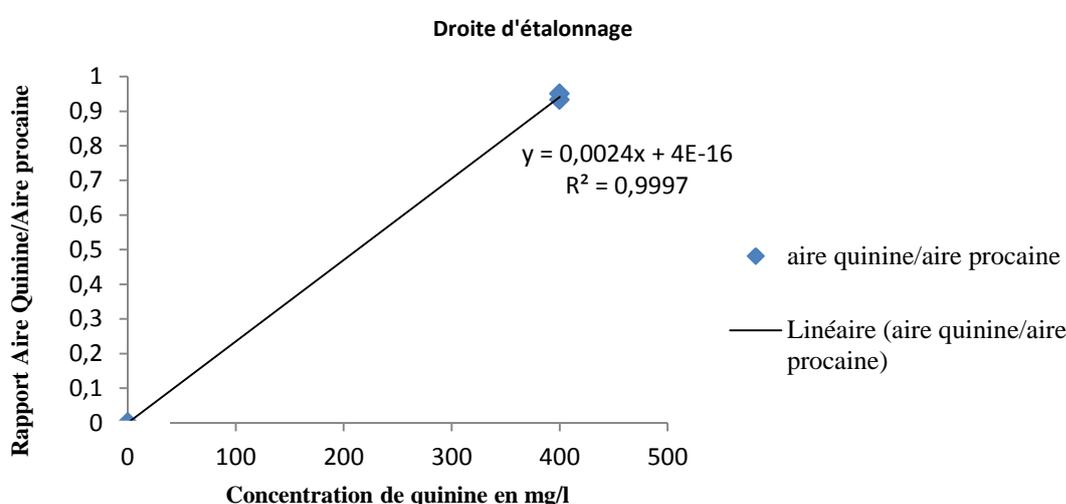
Pic2=Procaine

***Figure 10 : Electrophorégramme d'un échantillon contenant de la quinine et de la procaine***

**Tableau XI : Résultats d'injection du standard**

	Aire Quinine	Aire Procaïne	Aire Quinine/Aire Procaïne	Concentration en Quinine (mg/l)
<b>Injection1</b>	0,137	0,147	0,932	400
<b>Injection2</b>	0,133	0,14	0,95	400

La droite de régression est obtenue à partir des données présentées dans le tableau précédent.



**Figure 11 : Droite de régression de la quinine**

#### IV.2.2. Expressions des résultats de l'analyse des échantillons

Le pourcentage massique en Quinine Chlorhydrate contenu dans chaque échantillon est calculé à partir du rapport Aire Quinine/Aire Procaïne de chaque échantillon et de la valeur de la pente obtenue à partir de la droite d'étalonnage.

Suivant la droite d'étalonnage précédente (**Figure 12**) :

Rapport d'aire = Aire Quinine/Aire Procaïne =  $0,0024 \times$  Concentration en Quinine chlorhydrate expérimentale (mg/l)

Concentration en Quinine chlorhydrate expérimentale (mg/l) = Aire Quinine/ ( $0,0024 \times$  Aire Procaïne)

$$\text{Pourcentage Massique en Quinine} = \frac{\text{concentration expérimentale}}{\text{concentration théorique}} \times 100$$

$$\text{Concentration expérimentale en Quinine} = \frac{\text{rapport d'aire}}{0,0024}$$

Concentration théorique en Quinine = 200 mg/l

$$\text{Pourcentage massique en Quinine} = \frac{\text{rapport d'aire}}{0,0024 \times 200\text{mg/l}} \times 100$$

Rapport Aire Quinine/Aire Procaine = 0,565

$$\text{Pourcentage massique en Quinine} = \frac{0,565}{0,0024 \times 200\text{mg/l}} \times 100$$

**Exemple de calcul :**

$$\text{Pourcentage en Quinine Chlorhydrate trouvé} = \frac{r \times v \times \text{FD} \times \text{PM}}{a \times \text{PE} \times d} \times 100$$

r = rapport d'aire = Aire Quinine / Aire Procaine

v = volume de dilution

FD = facteur de dilution

PM = poids moyen d'un comprimé

a = pente de la droite d'étalonnage

PE = prise d'essai en mg

d = dosage annoncé

**Exemple :**

Quinimax 125 mg : TB-E14-18-06-2012/01

Injection1 standard

Aire Quinine = 0,137

Aire Procaïne=0,147

Injection2 standard

Aire Quinine : 0,133

Aire Procaïne : 0,14

Injection3 échantillon :

Aire Quinine : 0,065

Aire Procaïne : 0,119

$$\text{Pourcentage en Quinine Chlorhydrate} = \frac{0,546 \times 0,025 \times 50 \times 219,167}{0,0024 \times 438,9 \times 146,82} \times 100 = 96,76\%$$

Les teneurs en quinine obtenues après analyse des échantillons sont présentées dans le tableau ci-dessous.

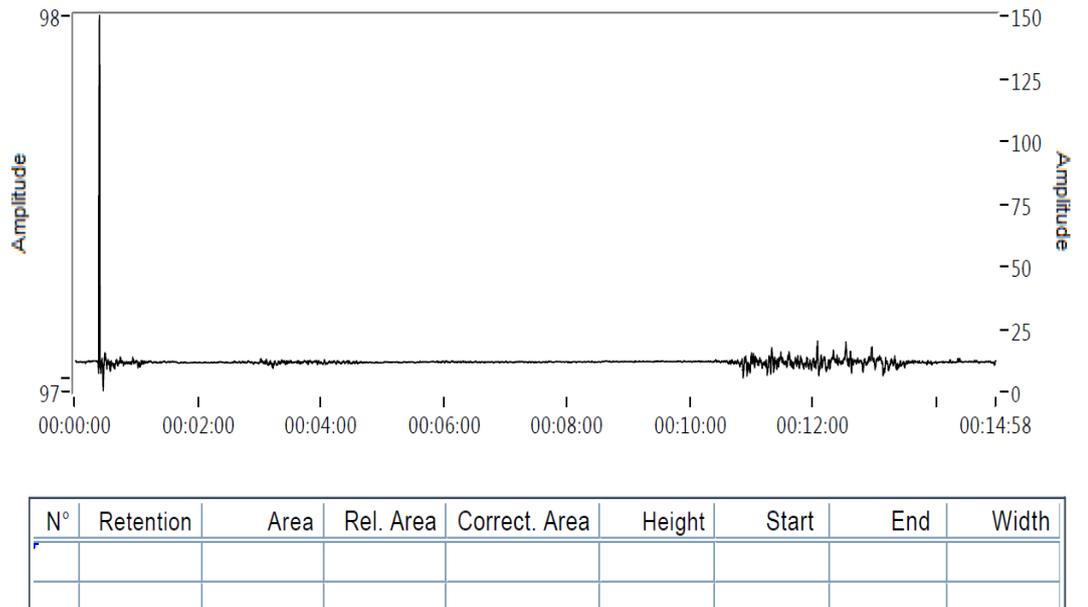
**Tableau XII : Résultats du dosage de la quinine**

N° d'ordre	Code	Désignation et matières actives en DCI	Identification du principe actif	Dosage des principes actifs (%)	Normes	Observations
1.	Qqn/DK/E1-16-6-2012/01	QUINIMAX® Quinine (125mg)	Présence	98,32±3,18	[90% - 110%]	Conforme
2.	Qqn/SL/E1/27-06-2012/01	QUINIMAX® Quinine (125mg)	Présence	94,30±0,49	[90% - 110%]	Conforme
3.	Qqn/TB/E14/18-06-2012/01	QUINIMAX® Quinine (125mg)	Présence	95,39±1,93	[90% - 110%]	Conforme
4.	Qqn/ZG/E4/22-06-2012/02	QUINIMAX® Quinine (125mg)	Présence	98,32±3,12	[90% - 110%]	Conforme
5.	Qqn/SL/E2/27-06-2012/02	QUINIMAX® Quinine (500mg)	Présence	95,68±0,41	[90% - 110%]	Conforme
6.	Qqn/TB/D5/18-06-2012/03	QUINIMAX® Quinine (500mg)	Présence	108,14±0,56	[90% - 110%]	Conforme
7.	Qqn/TB/13489/18-06-2012/02	QUINIMAX® Quinine (500mg)	Présence	105,23±1,86	[90% - 110%]	Conforme

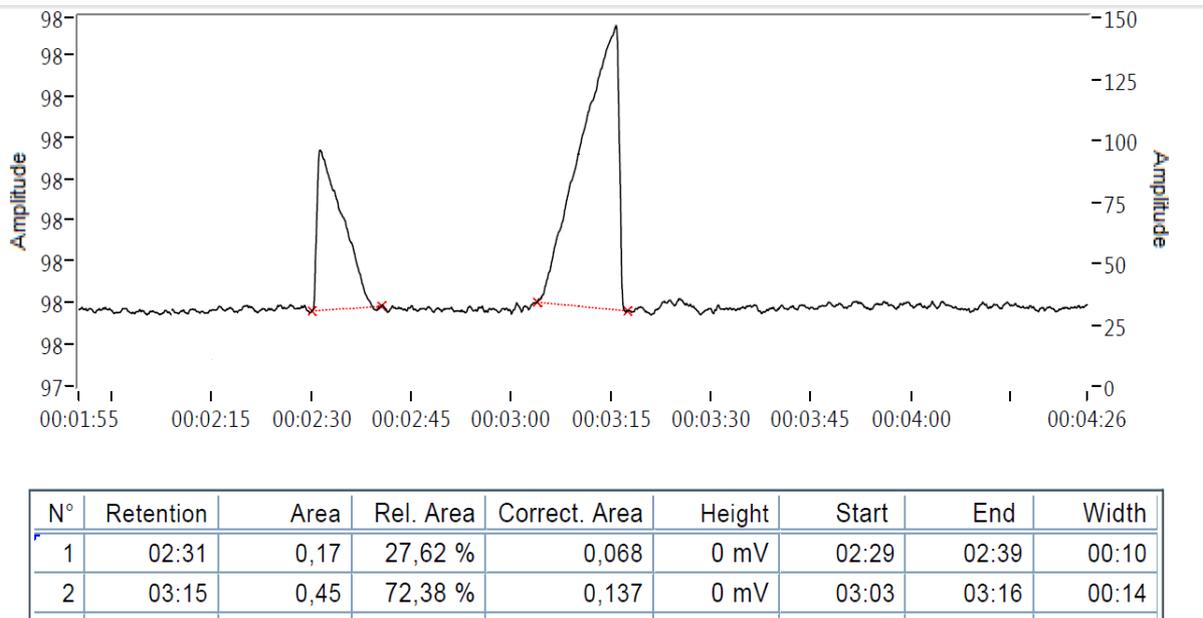
8.	Qqn/ZG-D4-22-06-2012/01	QUINIMAX® Quinine (500mg)	Présence	92,48±1,60	[90% - 110%]	Conforme
9.	Qqn/DK/D4/16-6-2012/02	QUINIMAX® Quinine (500mg)	Présence	104,87±2,50	[90% - 110%]	Conforme
10.	Qqn/LG/D2/27-07-2011/01	QUINIMAX® Quinine (125mg)	Présence	97±0	[90% - 110%]	Conforme
11.	Qqn/VL/D3B/13-09- 2011/01	QUINIMAX® Quinine (125mg)	Présence	112,55±0,75	[90% - 110%]	Non Conforme
12.	Qqn/ZG/13067/03-08- 2011/03	SURQUINA® Quinine (125mg)	Présence	138,91±0,07	[90% - 110%]	Non Conforme

---





**Figure 13** : Electrophorégramme obtenu avec l'ancienne méthode à pH=7,5



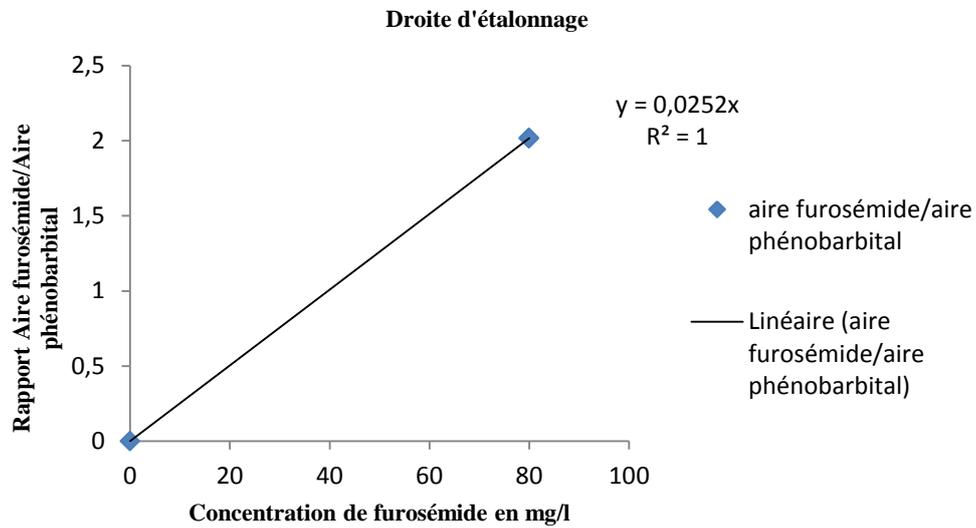
**Pic 1** : phénobarbital

**Pic 2** : furosémide

**Figure 14** : Electrophorégramme d'un échantillon contenant du furosémide et du phénobarbital à pH= 6,12

**Tableau XIII** : Résultats d'injection du standard

	Aire Furosémide	Aire Phénobarbital	Aire Furosémide/Aire Phénobarbital	Concentration en mg/l en Furosémide
<b>Injection1</b>	0,111	0,055	2,018	80
<b>Injection2</b>	0,137	0,068	2,014	80



**Figure 15** : droite de régression du furosémide

Les teneurs en furosémide obtenues après analyse des échantillons sont présentées dans le tableau ci-dessous.

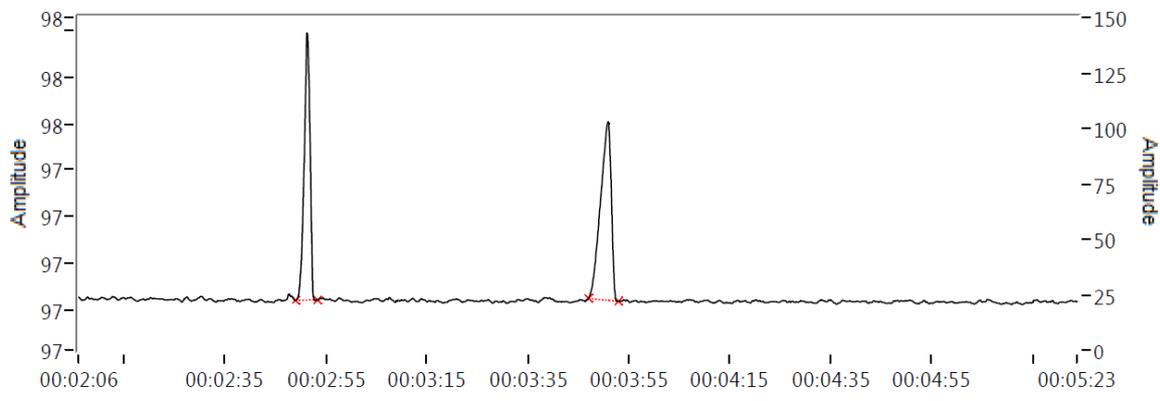
**Tableau XIV : Résultats du dosage du furosémide**

<b>N° d'ordre</b>	<b>Code</b>	<b>Désignation et matières actives en DCI</b>	<b>Identification du principe actif</b>	<b>Dosage des principes actifs (%)</b>	<b>Normes</b>	<b>Observations</b>
1.	FURO/KS/2CU5C/ 11.01.2013/01	furosémide	Présence	72,36 ± 3,86	[90% - 110%]	Non Conforme
2.	FURO/DK/120107/ 11.04.13/05	furosémide	Présence	80,32 ± 2,01	[90% - 110%]	Non Conforme
3.	FURO/DK/1EG1H/ 16.06.12/02	furosémide	Présence	38,07 ± 5,05	[90% - 110%]	Non Conforme
4.	FURO/DK/1G37F/ 16.06.2012/01	furosémide	Présence	50,91 ± 0,54	[90% - 110%]	Non Conforme
5.	FURO/DK/2F10A/ 16.06.12/03	furosémide	Présence	78,05 ± 0,24	[90% - 110%]	Non Conforme
6.	FURO/DK/110205/ 11.04.2013/04	furosémide	Présence	74,94 ± 0,92	[90% - 110%]	Non Conforme
7.	FURO/KL/1F16A/ 26.06.12/01	furosémide	Présence	75,42 ± 1,40	[90% - 110%]	Non Conforme

8.	FURO/KS/2A45C/ 11.01.2013/02	furosémide	Présence	81,52 ± 0,73	[90% - 110%]	Non Conforme
9.	FURO/SL/40C618/ 27.06.12/01	furosémide	Présence	78,33 ± 1,48	[90% - 110%]	Non Conforme
10.	FURO/TOUBA/1FH2D/ 18.06.2012/01	furosémide	Présence	81,46 ± 7,86	[90% - 110%]	Non Conforme
11.	FURO/TOUBA/1FHH2D/ 18.06.2012/01	furosémide	Présence	85,68 ± 6,73	[90% - 110%]	Non Conforme

## IV.4. Résultats du dosage du Phénobarbital

Le principe du dosage repose sur la méthode de l'étalonnage interne. Dans le cas de l'analyse du phénobarbital, l'étalon interne utilisé est le furosémide. Après injection des solutions 1 et 2, une corrélation est établie entre la concentration en Phénobarbital et le rapport Aire Phénobarbital /Aire Furosémide déterminé à partir de l'électrophorégramme présenté sur la figure 17.



N°	Retention	Area	Rel. Area	Correct. Area	Height	Start	End	Width
1	02:51	0,15	44,99 %	0,054	0 mV	02:48	02:52	00:04
2	03:51	0,19	55,01 %	0,049	0 mV	03:46	03:52	00:06

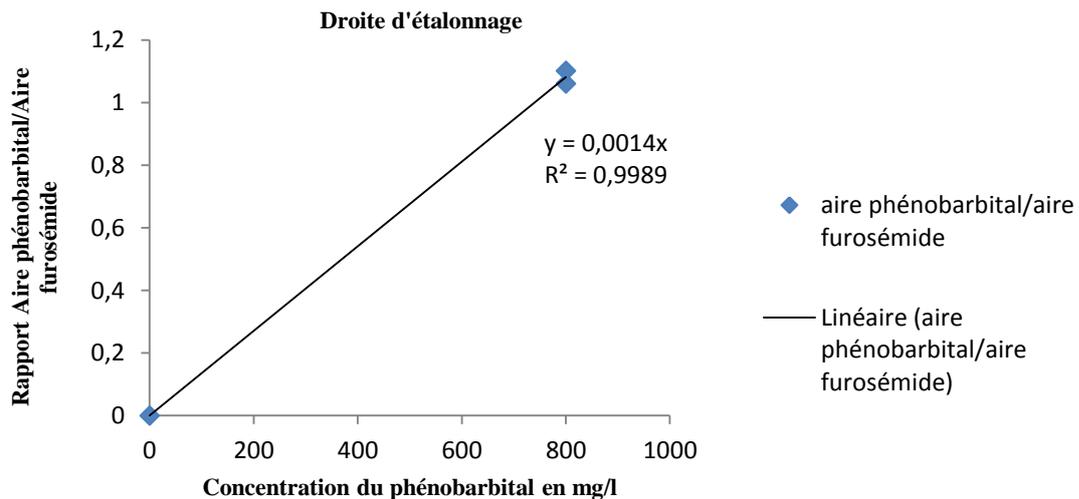
**Pic 1** : phénobarbital

**Pic 2** : furosémide

**Figure 16** : *Electrophorégramme phénobarbital et furosémide*

**Tableau XV** : Résultats d'injection du standard

	Aire Phénobarbital	Aire Furosémide	Rapport Aire Phénobarbital /Aire Furosémide	Concentration en mg/l en Phénobarbital
<b>Injection1</b>	0,052	0,049	1,06122449	800
<b>Injection2</b>	0,054	0,049	1,102040816	800



***Figure 17 : droite de régression du phénobarbital***

Les teneurs en phénobarbital obtenues après analyse des échantillons sont présentées dans le tableau ci-dessous.

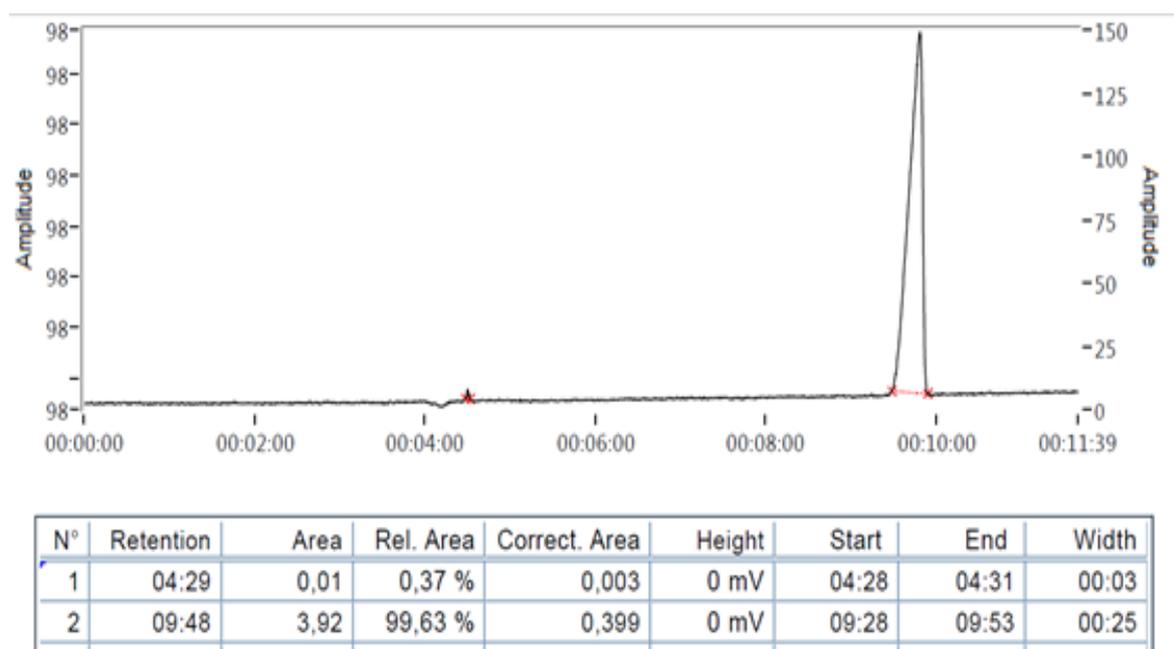
**Tableau XVI : Résultats du dosage du phénobarbital**

N° d'ordre	Code	Désignation et matières actives en DCI	Identification du principe actif	Dosage des principes actifs (%)	Normes	Observations
1.	PHENO/DK/4643/16.06.12/02	Phénobarbital	Présence	125,65±0,61	[90% - 110%]	Non Conforme
2.	PHENO/SL/4713/27.06.12/01	Phénobarbital	Présence	148,19±0,79	[90% - 110%]	Non Conforme
3.	PHENO/ZG/4713/22.06.12/02	Phénobarbital	Présence	153,44±0,25	[90% - 110%]	Non Conforme
4.	PHENO/KL/4713/18.06.12/01	Phénobarbital	Présence	112,89±0,79	[90% - 110%]	Non Conforme
5.	PHENO/KL/4646/18.06.12/02	Phénobarbital	Présence	115,86±0,19	[90% - 110%]	Non Conforme
6.	PHENO/KL /268/18.06.12/03	Phénobarbital	Présence	104,33±0,72	[90% - 110%]	Conforme
7.	PHENO/RB/3086/11.04.12/01	Phénobarbital	Présence	109,99±1,48	[90% - 110%]	Conforme
8.	PHENO/TB/4713/18.06.12/01	Phénobarbital	Présence	143,25±0,47	[90% - 110%]	Non Conforme
9.	PHENO/TB/4645/18.06.12/02	Phénobarbital	Présence	113,39±6,49	[90% - 110%]	Non Conforme
10.	PHENO/DK/267/16.06.12/01	Phénobarbital	Présence	95,63±4,32	[90% - 110%]	Conforme
11.	PHENO/ZG/268/22.06.12 /01	Phénobarbital	Présence	102,90±1,68	[90% - 110%]	Conforme

## V. RESULTATS DU DOSAGE DU SULFAMETHOXAZOLE ET DU TRIMETHOPRIME

Le principe du dosage repose sur la méthode de l'étalonnage interne. Dans le cas de l'analyse du sulfaméthoxazole et du triméthoprim, les étalons internes utilisés sont successivement le phénobarbital et la procaine.

Après injection des solutions 1 et 2, pour chacune des molécules une corrélation est établie entre la concentration en principe actif dosé et le rapport d'aire du principe actif/ aire de l'étalon utilisé, soit la concentration en sulfaméthoxazole et le rapport Aire sulfaméthoxazole /Aire phénobarbital et la concentration en triméthoprim et le rapport Aire triméthoprim /Aire procaine déterminés à partir des électrophorogrammes présentés successivement sur les *figures 19* et *21*.



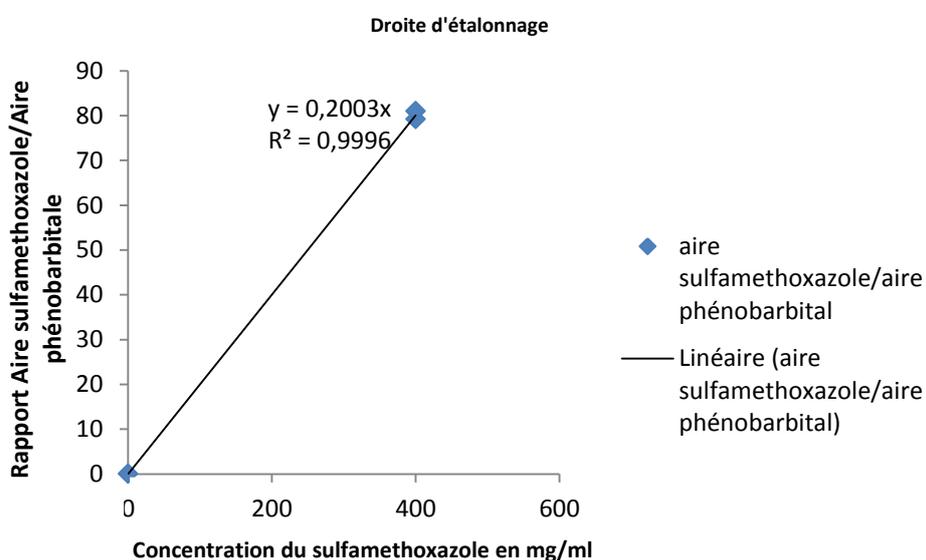
**Pic1** = Phénobarbital

**Pic 2** = sulfaméthoxazole

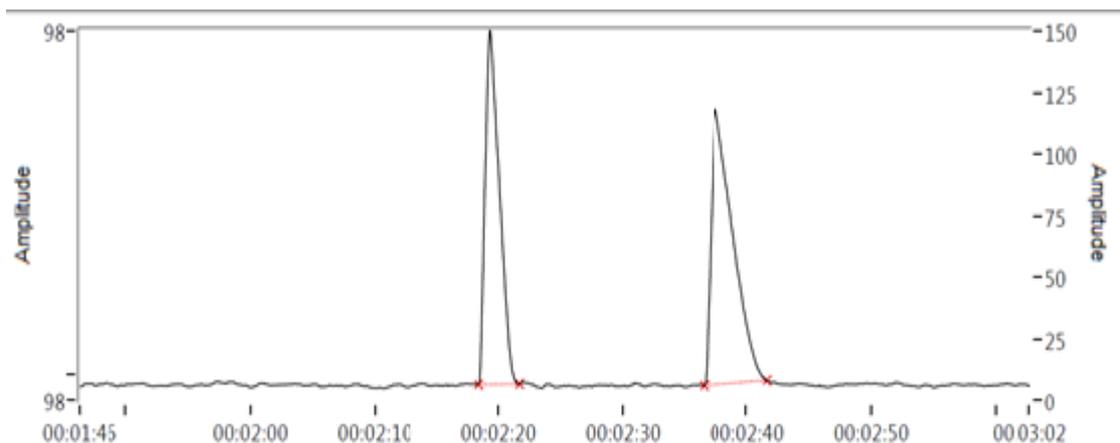
***Figure18 : Electrophorégramme sulfaméthoxazole et phénobarbital***

**Tableau XVII : Résultats d'injection du standard**

	Aire sulfaméthoxazole	Aire Phénobarbital	Aire sulfaméthoxazole /Aire Phénobarbital	Concentration en mg/l en sulfaméthoxazole
<b>Injection1</b>	0,396	0,005	79,2	400
<b>Injection2</b>	0,405	0,005	81	400



***Figure 19 : Droite de régression du sulfaméthoxazole***



N°	Retention	Area	Rel. Area	Correct. Area	Height	Start	End	Width
1	02:19	0,23	44,60 %	0,101	0 mV	02:18	02:21	00:03
2	02:37	0,29	55,40 %	0,111	0 mV	02:36	02:41	00:05

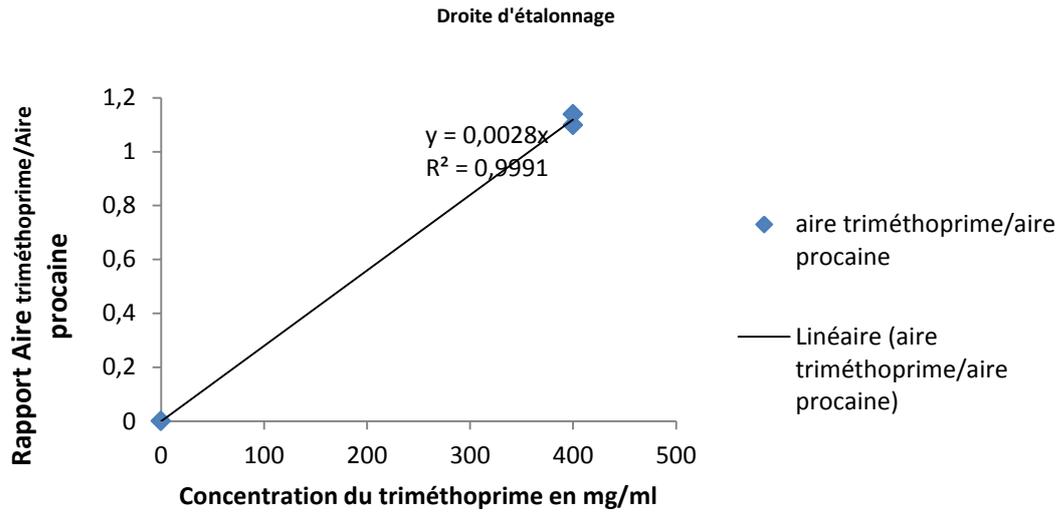
**Pic1** = Procaine

**Pic2** = triméthoprim

**Figure 20** : Electrophorégramme procaine et triméthoprim

**Tableau XVIII** : Résultats d'injection du standard

	Aire triméthoprim	Aire procaine	Aire triméthoprim / Aire procaine	Concentration en mg/l en triméthoprim
<b>Injection 1</b>	0,111	0,107	1,099009901	400
<b>Injection2</b>	0,107	0,094	1,138297872	400



***Figure 21 : Droite de régression du Triméthoprime***

Les teneurs en sulfaméthoxazole et en triméthoprime obtenues après analyse des échantillons sont présentées dans le tableau ci-dessous.

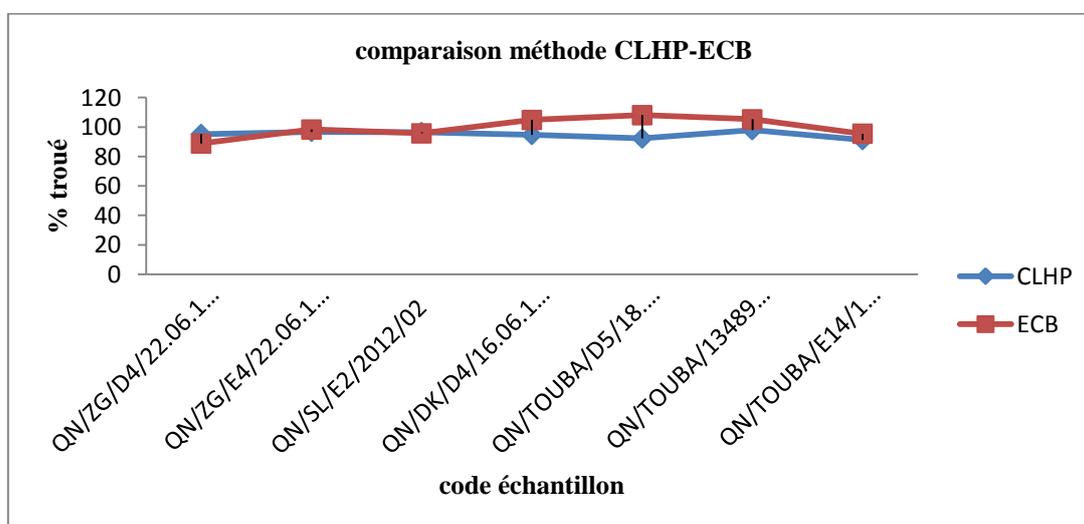
**Tableau XIX : Résultats du dosage du sulfaméthoxazole et du triméthoprime**

N° d'ordre	Code	Désignation et matières actives en DCI	Identification du principe actif	Dosage des principes actifs (%)	Normes	Observations
1	COTRIM/KL/F1095F71/ 24.06.2012/01	Sulfaméthoxazole	Présence	91,79±0,11	[90% -110%]	Conforme
		Triméthoprime	Présence	93,54±0,06	[90% -110%]	Conforme
2	COTRIM/ZG/311119/ 22.06.2012/01	Sulfaméthoxazole	Présence	97,86±7,68	[90% -110%]	Conforme
		Triméthoprime	Présence	91,26±8,97	[90% -110%]	Conforme
3	COTRIM/KL/110905/ 24.06.2012/02	Sulfaméthoxazole	Présence	90,28±2,75	[90% -110%]	Conforme
		Triméthoprime	Présence	106,05±1,25	[90% -110%]	Conforme
4	COTRIM/ LGIMBAO/168 12.04.2013/01	Sulfaméthoxazole	Présence	90,83±1,99	[90% -110%]	Conforme
		Triméthoprime	Présence	93,84±1,52	[90% -110%]	Conforme
5	COTRIM/KL/310921/ 24.06.2012/03	Sulfaméthoxazole	Présence	90,40±5,98	[90% -110%]	Conforme
		Triméthoprime	Présence	91,25±8,97	[90% -110%]	Conforme
6	COTRIM/TB/111137 /18.06.2012/01	Sulfaméthoxazole	Présence	100,41±10,36	[90% -110%]	Conforme
		Triméthoprime	Présence	99,61±0,58	[90% -110%]	Conforme
7	COTRIM/ZG/110905/ 22.06.2012/02	Sulfaméthoxazole	Présence	90,48±2,67	[90% -110%]	Conforme
		Triméthoprime	Présence	90,82±2,06	[90% -110%]	Conforme

## VI. RESULTATS DU TEST DE COMPARAISON ENTRE LES METHODES DE CLHP ET D'ECB

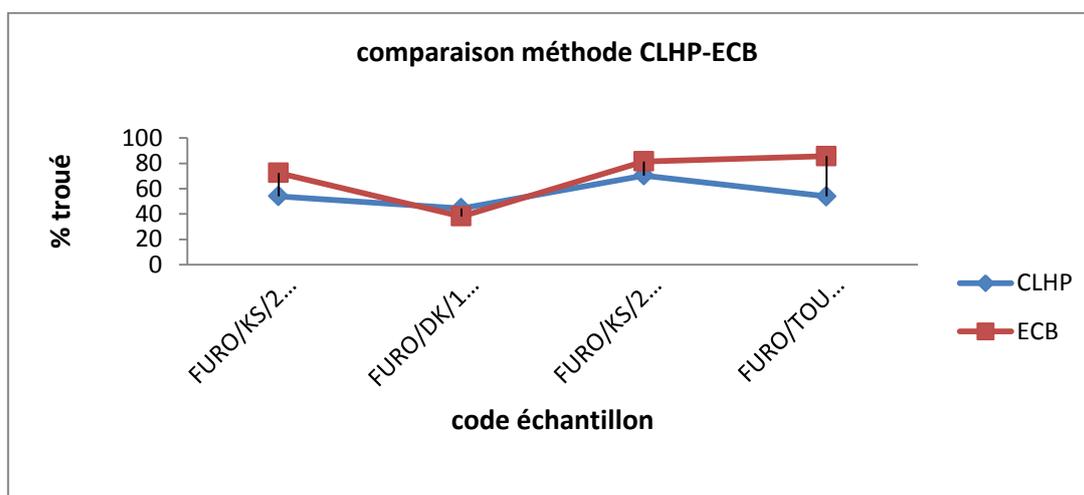
Parmi les échantillons analysés par la méthode EC, 7 échantillons de quinine, 4 de furosémide, 7 de phénobarbital et 7 de sulfaméthoxazole-triméthoprimine ont été analysés aussi par la CLHP. Le dosage à la CLHP est fait suivant les méthodes décrites dans la pharmacopée américaine [17].

### VI.1. La quinine



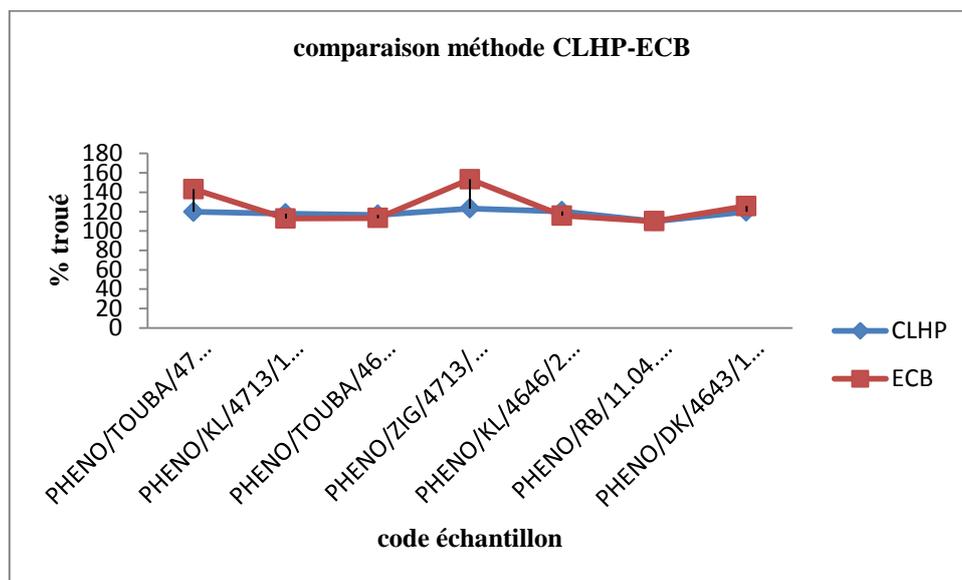
**Figure 22** : comparaison de CLHP et ECB pour le dosage de la Quinine

### VI.2. Furosémide



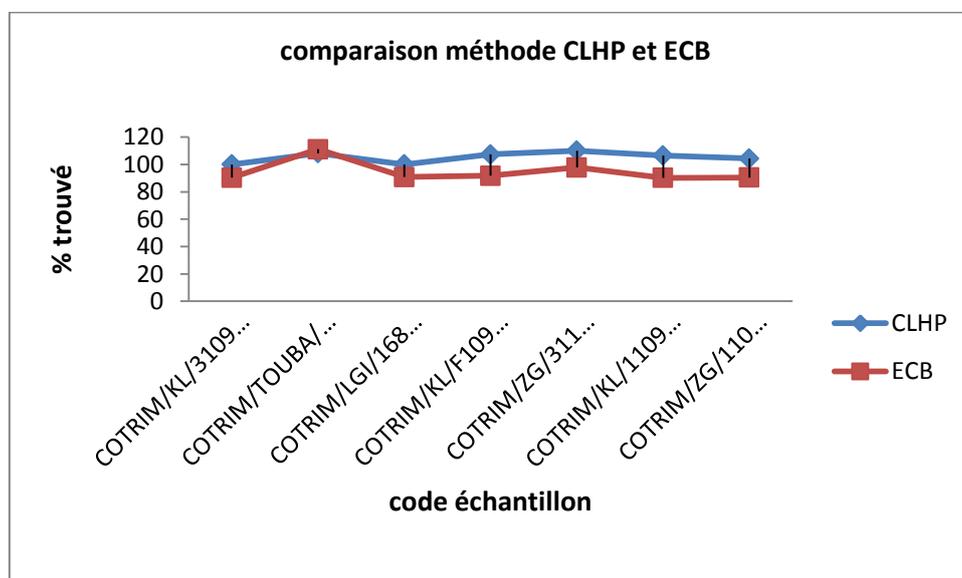
**Figure 23** : comparaison CLHP et ECB pour le dosage de la Furosémide

### VI.3. Phénobarbital



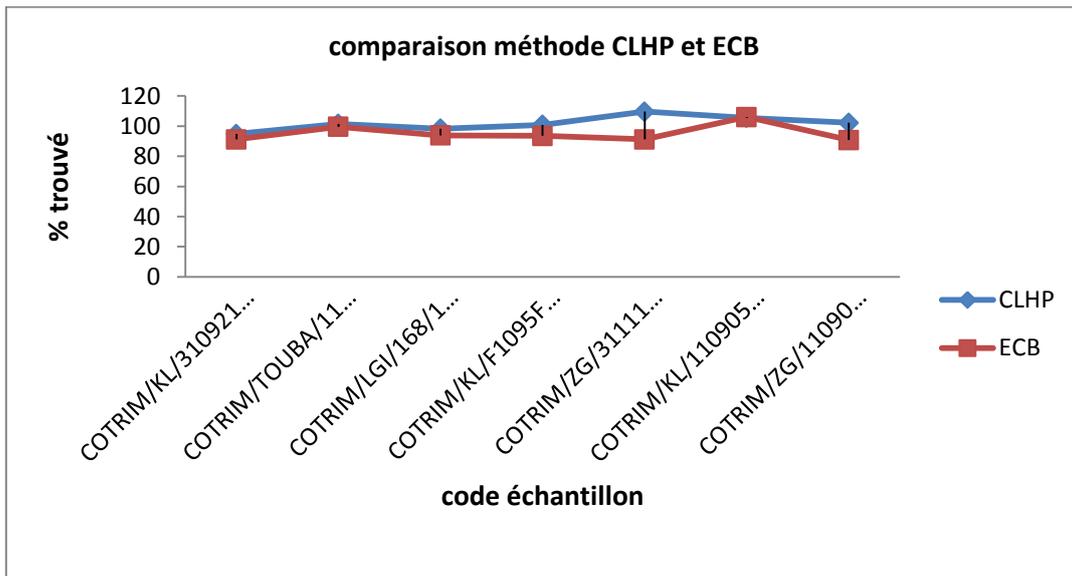
**Figure 24 :** Comparaison de méthode de dosage pour le Phénobarbital

### VI.4. Sulfaméthoxazole



**Figure 25 :** Comparaison de méthode de dosage pour le Sulfaméthoxazole

## VI.5. Triméthoprime



***Figure 26 : Comparaison de méthode de dosage pour le Triméthoprime***

## VII - DISCUSSION

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'application de méthodes suffisamment sensibles et fidèles afin d'effectuer l'analyse qualitative et quantitative de médicaments par électrophorèse capillaire (EC). Les médicaments dosés sont à base de quinine, de furosémide, de phénobarbital et de sulfaméthoxazole - triméthoprime.

Ces produits ont été choisis du fait qu'ils font partie des médicaments les plus utilisés et les plus prescrits dans les pays en voie de développement. Ils font donc partie de la liste des médicaments essentiels de l'OMS [15]. La collecte des médicaments étudiés s'est faite au hasard au niveau de trois secteurs différents: privé, public et informel.

Pour les principes actifs sélectionnés:

- la spécialité pharmaceutique Quinimax<sup>®</sup> est la plus représentative pour la quinine avec 91,66% ;
- le Lasilix<sup>®</sup> représente 80% de l'échantillonnage pour le furosémide ;
- le Gardéнал<sup>®</sup> est la seule spécialité représentante du phénobarbital ;
- le Bactrim<sup>®</sup> est la seule spécialité présente dans l'échantillonnage des médicaments à base de sulfaméthoxazole et de triméthoprime, qui sont présents sous la forme d'une association fixe.

Selon les normes des pharmacopées en vigueur (pharmacopée américaine, pharmacopée internationale), pour qu'un médicament puisse satisfaire aux tests de conformité, le pourcentage de principe actif déterminé lors d'un contrôle de la qualité doit être compris entre 90 et 110% de la teneur annoncée sur l'étiquette.

Tous les échantillons analysés contiennent les principes actifs recherchés.

Le dosage par électrophorèse capillaire ECB des 12 échantillons à base de quinine, a révélé 2 non-conformités soit 16,66%. Cette non-conformité est due à un surdosage en principe actif des échantillons analysés.

La méthode de dosage du furosémide fournie avec l'appareil a été optimisée avant l'analyse des 10 échantillons contenant ce principe actif. La totalité de ces échantillons est non conforme (100% de non-conformité). L'analyse de tous les échantillons à base de furosémide révèle un sous dosage qui varie de 38,07 % à 85,68%.

L'analyse quantitative du phénobarbital a révélé un surdosage de 7 échantillons analysés soit un pourcentage de 63,64% de non-conformité sur un total de 11 échantillons dosés.

Pour le dosage des 7 échantillons de médicaments contenant l'association sulfaméthoxazole – triméthoprime, tous les échantillons analysés sont conformes.

Afin de comparer les résultats obtenus avec l'EC, une grande majorité des médicaments choisis au hasard ont également été dosés par la chromatographie liquide haute performance (CLHP) en utilisant des méthodes normalisées des pharmacopées. Les résultats obtenus lors du dosage par la CLHP ont donné :

- pour la quinine sur les 12 échantillons analysés par EC, 6 ont été analysés par une méthode CLHP [29] et donnent un pourcentage de 100% de conformité en parfait accord avec nos résultats. Les valeurs trouvées pour les échantillons ne montrent pas une différence très significative (*Annexe 1*) ;

- pour le furosémide, seule la forme sèche (comprimé) sur les 10 échantillons collectés est aussi analysée à la CLHP. Comme à l'EC les résultats obtenus par la méthode CLHP sont non conformes. Il s'agit d'un sous-dosage en principe actif comme le montre l'*Annexe 2*.

- pour le phénobarbital, sur les 11 échantillons analysés en EC, seuls 7 sont aussi analysés à la CLHP. Un seul échantillon est conforme pour les deux méthodes. Les 6 autres échantillons sont aussi bien non conformes pour la méthode EC que pour celle de la CLHP. (*Annexe 3*).

Tous les 7 échantillons à base de sulfaméthoxazole et de triméthoprimine sont aussi analysés par CLHP. Tous ces échantillons sont aussi bien conformes après analyse par CLHP que par EC (*Annexe 4*). Les résultats obtenus sont similaires pour les deux méthodes de dosage.

Ces résultats obtenus peuvent être comparés à d'autres études menées dans le monde. Une étude faite au Mali montre un pourcentage de non-conformité égale à 5,3% selon le dosage en principe actif sur 19 échantillons de quinine collectés dans 8 pays (France, Inde, Allemagne, Sénégal, Maroc, Chine, Ghana, Norvège) [13].

Dans une autre étude initiée par l'OMS sur les médicaments anti infectieux les plus utilisés au Cambodge (amoxicilline, benzyl pénicillines, chloramphénicol, sulfaméthoxazole- triméthoprimine, tétracyclines, mébendazole, métronidazole, et quinine), 25% (36/144) des médicaments se sont révélés non conformes [7].

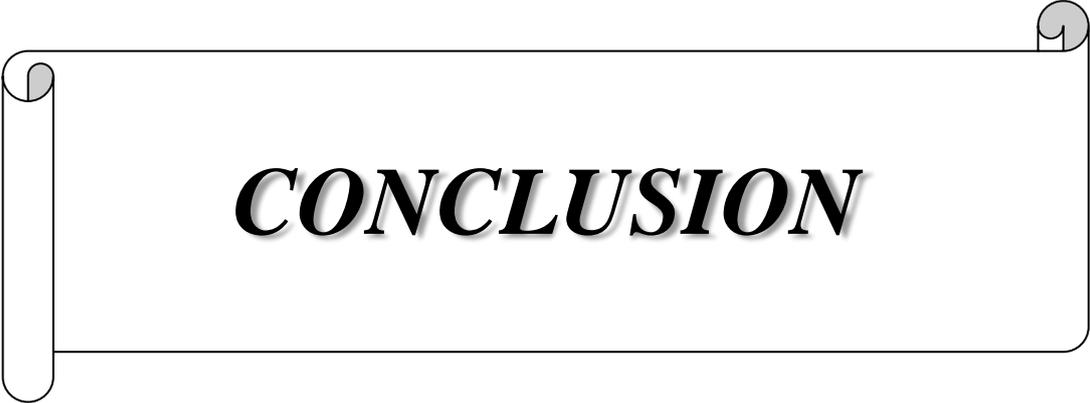
Par contre, à Niamey, 45 échantillons de produits anti-infectieux ont été contrôlés, dont 6 à base de triméthoprimine sulfaméthoxazole. 5 triméthoprimine sulfaméthoxazole sur les 6 se sont révélés non conformes aux normes de la pharmacopée [18].

Dans le cadre d'une étude qui a pour objectif de contrôler la qualité des médicaments antipaludiques majeurs utilisés au Sénégal (amodiaquine, artesunate, quinine, sulfadoxine-pyriméthamine, arthemether-lumefantrine, chloroquine) au niveau de cinq cites sentinelles de surveillance épidémiologiques du paludisme, 649 échantillons de médicaments ont pu être analysés.

Les 181 échantillons, soit (27,9%), se sont révélés non conformes pour l'ensemble des trois tests que sont l'inspection visuelle, test de dégradation et chromatographie sur couche mince. Les pourcentages les plus faibles notés de non-conformité avaient été aussi notés pour la quinine avec 21,9% [5].

Une autre étude concernant les médicaments à base de sulfaméthoxazole-triméthoprim (comprimé et sirop ; spécialité et génériques) disponibles aux niveaux des différents secteurs de distribution du Sénégal a été faite au Laboratoire National de Contrôle des Médicaments du Sénégal.

Au total 118 échantillons de cotrimoxazole ont été collectés dont 100 de forme comprimé et 18 de sirop. Les résultats du contrôle de qualité révèlent un pourcentage de 35,6% de non-conformité soit quarante deux échantillons [4].



***CONCLUSION***

Ce travail de thèse d'exercice s'inscrit dans une optique de collaboration, de transfert de compétences et surtout de partage d'expériences dans le domaine du contrôle de la qualité des médicaments. De nos jours, ce contrôle est devenu indispensable au vu du développement de la contrefaçon des produits pharmaceutiques.

Diverses techniques analytiques peuvent être utilisées pour le contrôle de la qualité des médicaments. Cependant, la mise en œuvre de ces techniques peut s'avérer coûteuse dans les pays en voie de développement.

C'est dans ce contexte qu'un appareil d'électrophorèse capillaire appelé ECB, dont le principe de fonctionnement est relativement simple, a été conçu afin de pouvoir analyser rapidement et à faible coût les médicaments.

Les méthodes de dosage des médicaments par électrophorèse capillaire ECB, préalablement développées et validées en Suisse, nous ont permis d'analyser 40 échantillons de médicaments contenant la quinine (12 lots), le furosémide (10 lots), le phénobarbital (11 lots) et l'association sulfaméthoxazole- triméthoprime (7 lots). Néanmoins, des modifications portant notamment sur le pH des solutions d'électrolytes ont été effectuées sur le protocole d'analyse du furosémide qui a été validé en Suisse.

Dans le cadre de ce travail, l'analyse des échantillons a été réalisée en utilisant la méthode de l'étalonnage interne qui nous permet d'éviter les variations de volume d'injection.

L'ensemble des méthodes d'analyse mises en œuvre dans cette thèse sont associées à une bonne séparation entre le principe actif dosé et l'étalon interne et durent au maximum 10 minutes, ce qui présente un avantage certain par rapport aux méthodes de chromatographie liquide.

A l'issue de ces analyses, tous les échantillons analysés ont montré la présence de principe actif pour chaque échantillon.

Concernant l'analyse de la quinine, un pourcentage de 16,66% de non-conformité est obtenu sur un total de 12 échantillons pour le dosage de la quinine par électrophorèse capillaire. Sur 6 échantillons de quinine conformes après analyse par électrophorèse capillaire, pris au hasard, un pourcentage de 100% de conformité est obtenu par chromatographie liquide haute performance. Les résultats pour les teneurs en principe actif obtenus à l'électrophorèse capillaire sont comparables à ceux trouvés après dosage à la chromatographie liquide haute performance sur les mêmes échantillons.

L'analyse du furosémide par électrophorèse capillaire donne un pourcentage de 100% de non-conformité (sous-dosage) sur les 10 échantillons analysés. Ces résultats sont confirmés par le dosage de 6 échantillons de forme sèche (comprimé) à la chromatographie liquide haute performance.

Le dosage du phénobarbital révèle un pourcentage de 63,64% de non-conformités sur les 11 échantillons collectés. Sur les 7 échantillons analysés à la chromatographie liquide haute performance, 6 sont aussi bien non conformes liés à un surdosage en principe actif pour les deux méthodes. Et l'autre est aussi bien conforme après dosage à l'électrophorèse capillaire qu'à la chromatographie liquide haute performance (*Annexe 3*).

Pour les médicaments à base de sulfaméthoxazole et de triméthoprime, le résultat des tests de dosage montre un pourcentage de 100% de conformité pour les deux méthodes et pour les deux molécules en association.

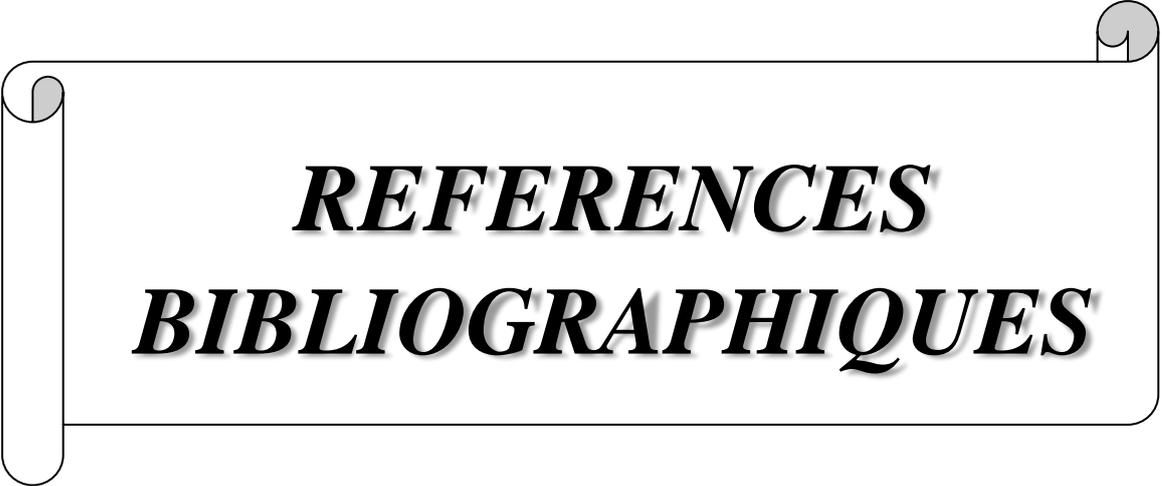
On peut en déduire que les résultats des teneurs en principe actif obtenus par l'électrophorèse capillaire sont assez comparables à ceux obtenus à la chromatographie liquide haute performance et très prometteurs pour la validation de l'appareil et son utilisation à large échelle. L'application de l'électrophorèse capillaire au dosage des médicaments pourrait présenter un intérêt majeur pour les laboratoires pharmaceutiques, les structures publiques et

les universités. La sélectivité de cette technique séparative permet le contrôle de la qualité de tout médicament ionisable.

Ce projet permettra d'accompagner les pays en voie de développement dans la lutte contre les médicaments contrefaits et aidera les autorités compétentes dans les actions et les directives à prendre pour régler le problème des médicaments de qualité inférieure.

Au demeurant, notre travail confirme que la technique de l'électrophorèse capillaire concurrencera sérieusement celle de la chromatographie liquide haute performance et occupera une place de choix dans le dispositif analytique instrumental de contrôle de la qualité des médicaments notamment dans les pays à ressources limitées.

Cette étude sera poursuivie à travers le développement, la validation et l'application de nouvelles méthodes d'analyse de médicaments par électrophorèse capillaire avec un échantillonnage élargi à toutes les régions du Sénégal.

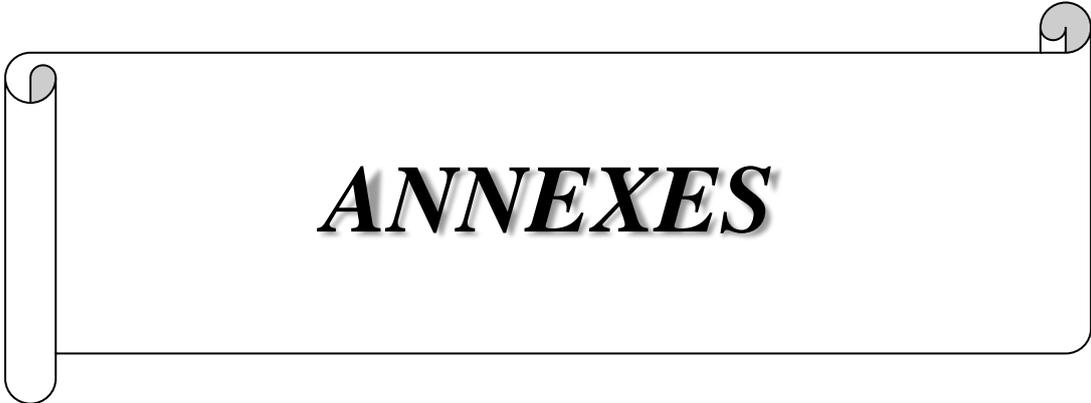


***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

1. **ANDRIOLLO O., MACHURON L., VIDEAU J.Y., ABELLI C., PIOT S., MULLER D.** Approvisionnements pour l'aide humanitaire ou les pays en développement : la qualité du médicament essentiel multi-source. *S.T.P. pharma pratique*, 1997, 7(6) : 412-429.
2. **BOUCHARA, S.** « Couplage en ligne de l'électrophorèse capillaire avec la spectrométrie de masse : Application à l'analyse de protéines du lait ». *Diplôme Universitaire de technologie, spécialité Chimie*. Ecole Nationale de Chimie Supérieure Paris, 2009).
3. **CURTIS, SUTTER, WALKER et HOFFMAN.** Pharmacologie intégrée De Boeck. *Editions De Boeck*, 2001.
4. **DIOP A. ; SARR S. O. ; DIOP Y. M. ; NIANG A. A. ; NDIAYE B.** Contrôle de la qualité du cotrimoxazole utilisé au Sénégal. *Thérapie*, 2008, 63 [5] : 405-408.
5. **DIOP Y. M.; SARR S. O.; DIOP A.; DIEDHIOU A.; DIEYE A. ; NDIAYE B. ; GAYE O. ; SMINE A.** Contrôle de la qualité des antipaludiques au niveau de cinq sites sentinelles de surveillance épidémiologique du paludisme. *Annales des falsifications, de l'Expertise Chimique et Toxicologie* 2009; 970 :55-61
6. **GAREIL P.; PELTRE G.** Electrophorèse. *Technique de l'Ingénieur*, 1995,1 : 815-1818.
7. **HAMANI A I.** Les médicaments de la rue à Niamey : modalité de vente et contrôle de qualité de quelques médicaments anti infectieux. *Thèse Pharm.*, Bamako, 2005, n°10.
8. **KOPP-KUBEL S.** Good Manufacturing Pratices (GMP) in Pharmaceutical Production. *OMS*, Genève, 1998.
9. **LE HIR A.** Pharmacie galénique Bonnes pratiques de fabrication des médicaments. Masson éditeur, France, 1997. Ministère de l'emploi et de la solidarité Direction générale de la santé - Agence du médicament *Bonnes Pratiques de Fabrication*, France, 1998, 5éme édition.
10. **LE SOLEIL.** Alerte des pharmaciens du privé : 10% des médicaments en circulation du Sénégal contrefaits : article du quotidien Sénégalais. Samedi 28 février 2009.

11. **MACE G.** Guide d'élaboration d'un projet de recherche, Paris Bruxelles De Boeck université 1997, 2<sup>ème</sup> édition : 79-89.
12. **MAHUZIER G. HAMON M.** Chimie Analytique : Méthode de Séparation, 3<sup>ème</sup> édition tome 2, 298-305.
13. **MBADINGA.C.G.MB.** Contrôle de qualité de l'amodiaquine et de la quinine. *Thèse. Pharm.*, Bamako, 2005, n°11.
14. **NDOYE M. M.** Contrôle de la qualité des médicaments antirétroviraux et des médicaments antituberculeux utilisés au Sénégal. *Thèse Pharm.*, Dakar, 2010, n° 47.
15. **ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE.** Liste modèle de l'OMS des médicaments essentiels, 2011 : 1-48. <http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/index.html>. Consulté le 17/12/2013 à 17h12).
16. **ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE.** Médicaments contrefaits. [www.who.int/mediacentre/factsheets/fs275/fr/index.html](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs275/fr/index.html). Déc. 2011.
17. **PIERRE B. et G.** Dictionnaire médical pour les régions tropicales. *Editions De Boeck*, 1999.
18. **POUILLOT R., BILONG C., BOISIER P., CISS M., MOUMOUNI A., AMANI I. NABETH P.** Le circuit informel des médicaments à Yaoundé et à Niamey : étude de la population des vendeurs et de la qualité des médicaments distribués. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 2008,101, 2 :113-118..
19. **Préparation du sulfaméthoxazole.** Disponible sur <http://www.drugsyn.org/Sulfamethoxazole.htm>>. Consulté le 14 Septembre 2013.
20. **Préparation du triméthoprime.** : Disponible sur <http://www.drugsyn.org/Trimethoprim.htm>. Consulté le 14 Septembre 2013.
21. **Production et apparition du furosémide .** Disponible sur <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol50/mono50-18pdf> p.278; Consulté le 14 Septembre 2013.

- 22. ROUESSAC, F ; et CRUCHE D.** Analyse Chimique, Méthodes et Techniques Instrumentales. *Dunod*, Paris, 7<sup>ème</sup> édition : 139-154.
- 23. ROUESSAC F. et ROUESSAC A.** Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes. *Dunod*, Paris, 2000, 5e édit. : 56-75; 430.
- 24. SKOOG D. A; HOLLER F. J.** Chimie Analytique. *De Boeck*, 8<sup>ème</sup> édition : 1003-1007.
- 25.**Spécification : préparation du phénobarbital. Disponible sur <http://www.lookchem.com/Phenobarbital/>. Consulté le 14 Septembre 2013.
- 26.** synthèse stéréosélective de la Quinidine et de la Quinine. Gutzwiller, J; Uskokovic M. R. *J. Am. Chem. Soc.***1978**, 100, 576-581
- 27.TAMBA VEMBA.** Législation et déontologie pharmaceutiques. *UNIKIN*, 2004.
- 28.TAVERNA M. et al.** Principe de l'électrophorèse. *Techniques de l'ingénieur*, 2013: 3-365.
- 29.USP 36.** 2013. United States Pharmacopeia. National Formulary.NF31, Rockville, The United States Pharmacopeia Convention, volume 2 et 3, 3688, 4759, 5226.
- 30.VIDEAU JY.**2002. Accès pour tous aux médicaments de qualité. *Med. Trop.*, 2002 : 62-4.



***ANNEXES***

**ANNEXE 1**

CODE	CLHP			ECB		
	Moyenne	Ecart type	CV	Moyenne	Ecart type	CV
QN/ZG/D4/22.06.12/01	95,22	1,71	2,06	88,78	1,42	1,60
QN/ZG/E4/22.06.12/02	96,71	0,59	0,87	98,32	3,13	3,18
QN/SL/E2/27.06.2012/02	96,46	1,21	1,53	95,69	0,42	0,44
QN/DK/D4/16.06.12/02	94,68	0,78	0,04	104,87	2,51	2,39
QN/TOUBA/D5/18.06.12/03	92,22	0,87	1,09	108,15	0,56	0,52
QN/TOUBA/13489/18.06.12/02	97,88	1,27	0,51	105,23	1,87	1,77
QN/TOUBA/E14/18.06.12/01	91,19	0,81	0,04	95,39	1,93	2,03

**ANNEXE 2**

CODE	CLHP			ECB		
	Moyenne	SD	CV	Moyenne	SD	CV
FURO/KS/2CUSC/11.01.2013/01	53,97	0,99	1,84	72,36	2,793	3,86
FURO/TOUBA/1FH2D/18.06.2012/01	53,93	1,70	3,15	85,68	6,73	7,86
FURO/DK/1EG1H/16.06.2012/02	44,38	0,57	1,29	38,07	1,80	5,05
FURO/KS/2A45C/11.01.2013/02	70,34	3,81	5,42	81,52	0,59	0,73

**ANNEXE 3**

CODE	CLHP			ECB		
	Moyenn e	SD	CV	Moyenne	SD	CV
PHENO/TOUBA/4713/18.06.12/01	119,73	0,29	0,25	143,25	0,47	0,33
PHENO/KL/4713/18.06.12/01	117,91	0,03	0,03	112,89	0,79	0,70
PHENO/TOUBA/4645/18.06.2012/02	116,71	2,25	1,93	113,39	7,37	6,49
PHENO/ZIG/4713/22.06.2012/02	123,21	0,29	0,23	153,44	0,38	0,25
PHENO/KL/4646/26.06.2012/02	120,26	0,33	0,27	115,86	0,23	0,19
PHENO/RB/11.04.2012/01	110,06	0,18	0,17	109,99	1,48	1,34
PHENO/DK/4643/16.6.12/02	119,89	0,91	0,76	125,65	0,76	0,61

**ANNEXE 4**

CODE	CLHP			ECB		
	moyenne	SD	CV	moyenne	SD	CV
COTRIM/KL/F1095F71/24.06.12/01	107,39	1,15	1,07	91,79	0,10	0,11
	100,83	0,28	0,28	93,54	0,06	0,06
COTRIM/ZG/110905/22.06.2102/02	104,42	1,62	1,55	90,48	2,42	2,67
	102,23	1,42	1,39	90,82	1,87	2,06
COTRIM/KL/310921/24.06.2012/03	100,09	0,56	0,56	90,40	5,41	5,98
	94,85	1,88	1,98	91,25	8,19	8,97
COTRIM/TOUBA/111137/18.06.2012/01	108,18	5,30	4,90	111,21	4,86	4,37
	101,49	2,25	2,22	99,61	0,58	0,58
COTRIM/LGI/168/12.04.2103/01	100,06	0,05	0,05	90,83	1,81	1,99
	98,31	0,75	0,76	93,84	1,43	1,52
COTRIM/ZG/311119/22.06.2012/01	110,05	4,79	4,35	97,86	8,19	23,12
	109,67	2,40	2,19	91,25	8,19	8,97
COTRIM/KL/110905/24.06.2012/02	106,56	0,11	0,10	90,28	2,48	2,75
	105,56	2,12	2,01	106,05	1,32	1,25

# SERMENT DE GALIEN

---

*Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes Condisciples.*

*D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*

*D'exercer, dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'Honneur, de la Probité et du Désintéressement.*

*De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*

*En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.*

## PERMIS D'IMPRIMER

Vu :

Le président du jury

Vu :

Le Doyen.....

Vu et Permis d'imprimer

Pour le recteur, le Président de l'assemblée d'Université Cheikh Anta Diop de Dakar et par  
délégation

Le Doyen