

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIÈRE
FILIÈRE : CHIMIE

MÉMOIRE DE MASTER

SPÉCIALITÉ : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THÈME

**Contrôle physico-chimique du produit fini
Augmentin® 1g/125mg**

Présenté par : SI TAYEB Feriel

Soutenu publiquement le : 01/10/2022.

Devant le Jury composé de :

Dr IDRIS Imane

Dr MOUHEB Lynda

Mr IKHLEF Karim

Dr BENZAOUZ Amina

MCB

MCB

Manager CQ

MCA

UMMTO

UMMTO

GSK

UMMTO

Présidente

Encadrant

Co-encadrant

Examinatrice

Remerciements

Tout d'abord louange à Dieu le tout puissant, le clément, le miséricordieux qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long de ce travail et m'a inspiré les bons pas et les justes réflexes, et m'avoir assisté en toutes circonstances et en tous lieux.

Je tiens vivement à remercier **Mme MOUHEB.L** ma directrice de mémoire qui m'a accompagnée et guidée depuis le début de la rédaction de mon mémoire. Mon encadrante a su trouver les mots justes pour m'orienter vers les bons axes de recherche, ainsi que le temps qu'elle m'a accordée pour me diriger notamment lors des lectures répétées dans le but d'obtenir une parfaite finalisation de ce travail.

Mes remerciements pour tout le personnel du laboratoire de contrôle qualité GSK, à leur tête mon co-promoteur **Mr IKHLEF.K** responsable de contrôle qualité pour m'avoir donné l'opportunité d'intégrer son équipe émanant d'une grande expertise et d'une rigueur professionnelle. Mes vifs remerciements à tous les analystes qui m'ont beaucoup appris pendant ma période de stage ; leurs judicieux conseils qui m'ont servi à enrichir mon rapport et de par leur gentillesse, disponibilité ont fait de ce stage un moment profitable et grâce à eux, j'ai pu mener à bien ce travail. Qu'ils veuillent bien trouver ici le témoignage de ma gratitude et de ma très profonde reconnaissance.

Mes sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres du jury :

Mme IDRIS.I, pour m'avoir fait l'honneur et le plaisir de présider ce jury.

Mme BENAZOUZ, d'avoir acceptée de faire partie de ce jury et la considération et le temps d'examiner ce travail.

Je suis très honorée de leur présence dans ce jury.

Il paraît opportun d'exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance à tous les professeurs et enseignants du département de chimie facultés des sciences et technologies de l'UMMTO pour leur dévouement et leur assistance tout au long de mes études universitaires ainsi que tout le personnel administratif de notre département.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire de fin d'études à mes chers parents, les mots me manquent pour vous éprouver toute ma gratitude, merci pour la confiance inconditionnelle, votre soutien infaillible et vos précieux conseils qui n'ont jamais manqué en aucun moment. Merci est un vain mot pour reconnaître votre investissement en ma personne après tant d'années d'effort et d'inquiétude. La réussite de ce travail est due à vos encouragements durant toutes ces années d'étude.

Je prie Dieu de me donner l'opportunité de vous honorer à l'avenir.

Une dédicace chaleureuse pour mes très chères sœurs **CYLIA** et **DALIA** pour leurs attentions et bienveillance et que je réalise à quel point la fratrie est sacrée, sachez que notre cohésion est le fruit de l'amour qui y règne.

Je suis tellement fière de vous, continuez sur la voie de nos parents vous êtes invincibles.

Merci à tous d'être là pour moi. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite, et de sérénité.

Une dédicace spéciale pour mes chères copines **NADIA**, **LYDIA**, **TAFATH**, **KATIA** et **LYNDA** en témoignage de l'amitié qui nous uni, des souvenirs, et de tous les moments que nous avons passés ensemble.

Sans oublié toutes les personnes que je porte dans mon cœur. Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Effets antibactérien des antibiotiques.	4
Tableau 2 : Principes actifs constituant l'AUGMENTIN® (17)	6
Tableau 3 : Tableau représentatif des prélèvements effectués requis pour chaque essai.	20
Tableau 4 : Résultat du test de pH.	42
Tableau 5 : Résultats du test de teneur en eau.	42
Tableau 6 : Résultats du pesage des échantillons Lot N°6K3C.....	43
Tableau 7 : Vérification de l'exactitude des données introduites.	43
Tableau 8 : Vérification du poids moyen.....	44
Tableau 9 : Vérification de l'uniformité de masse.....	44
Tableau 10 : Données déterminant le mode d'éluion durant le temps d'analyse.	46
Tableau 11 : Données des surfaces des pics du chromatogramme du STD1.....	47
Tableau 12 : Données des surfaces des pics du chromatogramme de l'Ech (8) lot N°6K3C.	48
Tableau 13 : Tableau regroupant le traitement de données par logiciel des analyses par HPLC.	50
Tableau 14 : Les réponses des facteurs de recouvrement et le taux de recouvrement des pics des principes actifs.	51
Tableau 15 : Teneurs en principes actifs exprimées en mg/sch.....	51
Tableau 16 : Interprétation spectrales de l'aspartame.....	53
Tableau 17 : Conditions opératoire d'analyse chromatographique par CPG en mode HEADSPACE injection.	55
Tableau 18 : Données du chromatogramme d'échantillon d'arôme P-F-C obtenu par CPG.	56
Tableau 19 : Interprétation spectrales de la crosprovidone.....	57

Liste des schémas

Schéma 1 : Organisation du laboratoire contrôle qualité de l'unité pharmaceutique GSK.....	3
Schéma 2 : Schéma illustrant la méthode de Karl Fischer.	22
Schéma 3 : Schéma illustrant la préparation des standards de références.....	23
Schéma 4 : Schéma illustrant la préparation des solutions d'essai et leur dosage par HPLC.	24
Schéma 5 : Schéma illustrant la préparation de la solution tampon (Na H ₂ PO ₄ , 2H ₂ O) pour phase mobile.....	25
Schéma 6 : Schéma illustrant technique d'identification de l'arôme Pêche- Fraise-Citron par chromatographie en phase gazeuse.	27

Liste des figures

Figure 1: Image illustrant les différents mécanismes d'action des antibiotiques.	5
Figure 2: Noyau β -lactame	6
Figure 3: Produit fini AUGMENTIN® 1g/125 mg.....	6
Figure 4: Molécule d'amoxicilline.	7
Figure 5: Molécule d'acide clavulanique.	7
Figure 6: Modélisation du processus de contrôle d'un produit pharmaceutique.	14
Figure 7: Organigramme présentant la comparaison entre les versions volumétriques et coulométrique de la méthode Karl Fischer.....	15
Figure 8: Détermination de la teneur en humidité par dessiccation à l'Infrarouge.....	16
Figure 9: Détermination de l'uniformité de teneur des principes actifs par HPLC.	17
Figure 10: Schéma représentant le fonctionnement d'une chaîne d'HPLC	18
Figure 11: Représentation du test de mise en suspension et le contrôle de pH.....	21
Figure 12: Chromatogramme des substances de référence (STD2_4) des principes actifs.	47
Figure 13: Chromatogramme de l'Ech (8) AUGMENTIN® Sch 1g lot N° 6K3C.....	48
Figure 14: Spectre Infrarouge d'un échantillon d'aspartame.	53
Figure 15: Chromatogramme obtenu par CPG de l'arôme Pêche- Fraise- Citron.	56
Figure 16 : Spectre correspondant à la molécule de crospovidone à partir d'un échantillon analysé.....	57

Liste des abréviations

- **AMM** : Autorisation de mise sur le marché.
- **BPF** : Bonnes pratiques de fabrication.
- **CCM** : Chromatographie sur couche mince.
- **CPG** : Chromatographie en phase gazeuse.
- **DCI**: Dénomination commune Internationale.
- **HPLC**: High performance liquid chromatography.
- **ICH**: International Council for harmonisation of technical requirements for pharmaceuticals for human use.
- **INJ**: Injection.
- **IR**: Infrarouge.
- **ISO**: Internatinal Organization for Standardization.
- **IUPAC**: International Union of Pure ans Applied Chemistry.
- **GSK**: GlaxoSmithKline.
- **KF**: Karl Fischer.
- **MP** : Matière Première.
- **PE** : Prise d'essai.
- **Ph. EUP** : "Pharmacopée Européenne.
- **PF** : Produit Fini.
- **RFT** : Facteur/ Coefficient de recouvrement.
- **RSD** : Relative Standard Deviation.
- **RT** : Retention Time (Temps de rétention).
- **STD** : Standard.
- **TRF** : taux de recouvrement.
- **UV** : Ultrat Violet.
- **g** : gramme.
- **mg** : milligramme.

- **μl** : microlitre.
- **ml** : millilitre.
- **nm** : nanomètre.
- **g/l** : gramme par litre.
- **ml/g** : milligramme par litre.
- **°C** : Degré Celsius.
- **pH** : Potentiel d'Hydrogène.
- **min** : minute.

Sommaire

- Liste des tableaux
- Liste des schémas
- Liste des figures

Introduction générale.....	1
Présentation de l'organisme d'accueil.....	2

Chapitre 1 : Présentation de l'antibiotique AUGMENTIN®

1g/125 mg

1. Antibiotiques	4
1.1 Définition d'un antibiotique	4
1.2. Mode d'action des antibiotiques	5
1.3. Antibiotiques issus du cycle β -lactame.....	5
2. Présentation du produit fini AUGMENTIN® sachet d'1g	6
2.1. Composition du médicament.....	6
2.1.1. Principes actifs	6
2.1.2. Excipients.....	8
2.3. Propriétés pharmacocinétiques.....	8
2.4. L'Association amoxicilline/Acide clavulanique.....	9
2.4.1. Antibiorésistance.....	9
2.4.2. Le but de l'adjonction Amoxicilline/ acide clavulanique	9

Chapitre 2: Contrôle Qualité Pharmaceutique

1. Notion sur le management de la qualité pharmaceutique	10
1.1. Conseil international d'harmonisation -ICH.....	10
1.2. Les principales lignes directrices de l'ICH	10
1.3. Assurance qualité.....	11

1.4. Notion sur les bonnes pratiques de fabrications	11
2. Contrôle Qualité Pharmaceutique	12
2.1. Echantillonnage.....	12
2.2. Validation des méthodes analytiques	13
2.3. Evaluation des résultats d'analyse.....	13
3. Contrôle physico-chimique d'un produit fini AUGMENTIN®.....	13
3.1. Méthodes d'analyses réalisées sur paillasse.....	14
3.1.1. Détermination de la teneur en eau.....	14
3.1.2. Perte à la dessiccation	15
3.1.3. Uniformité de masse	16
3.2. Analyses chromatographiques	16
3.2.1. Uniformité de teneur	16
4. Principe de la chromatographie.....	17
4.1. Classification des méthodes chromatographiques.....	17
4.2. Chromatographie liquide haute performance.....	18
4.3. Conformité du système chromatographique (system suitability test SST).....	18

Chapitre 3: Matériels et Méthodes

1. Contrôle physico-chimiques de l'AUGMENTIN® 1g/125 mg.....	20
2. Protocole analytique.....	20
2.1. Echantillonnage.....	20
2.2. Tests réalisés sur un lot de routine.....	21
2.2.1. Mise en suspension	21
2.2.2. Test de pH	21
2.2.3. Teneur en eau	21
2.2.4. Uniformité de masse	22
2.2.5. Uniformité de teneur	23

2.2.6. Identification et dosage des excipients et conservateurs.....	25
--	----

Chapitre 4: Résultats et discussions

1. Tests réalisés sur un lot de commercialisation N° Lot 6K3C	42
1.1. Mise en suspension	42
1.2. Test de pH	42
1.3. Teneur en eau	42
1.4. Test d'uniformité de masse.....	43
1.5. Test d'uniformité de teneur	45
1.5.1. Identification des principes actifs	45
1.5.2. Validation du système suitability de l'analyse	46
1.6. Identification des conservateurs et dosage des excipients.....	52
1.6.1. Identification de l'Aspartam	52
1.6.2. Identification de l'Arome Pêche- Fraise-Citron (maltodextrine).....	54
1.6.3. Identification de la crospovidone	57

Conclusion et perspectives

- **Glossaire**
- **Résumé**

Introduction

Introduction

L'Antibiotique est parmi les médicaments essentiels qui sont une composante intrinsèque de la politique sanitaire, il se situe à la base de toute prise en charge thérapeutique qui permet à la communauté de se prémunir et de se protéger contre les épidémies et les maladies infectieuses.

Dans le but de répondre à cette confiance et d'assurer l'efficacité de ce médicament ; le laboratoire « **GlaxoSmithKline** » met en évidence un système de maîtrise de processus de fabrication et un Contrôle Qualité correspondant aux gages de sécurité sanitaire. L'Antibiotique **AUGMENTIN® 1g/125mg** prescrit pour les infections bactériennes, en effet comme tout produit fini est soumis alors à un contrôle physico-chimique qui est effectué au sein du **laboratoire Contrôle Qualité GlaxoSmithKline BOUDOUAOU**, dans le but ultime de garantir le produit en terme de sécurité conformément aux spécifications de qualité.

Le produit fini est sujet à des tests monographiés selon la pharmacopée Européenne comprenant la vérification de l'aspect et de la pureté de chaque matière première notamment une analyse d'identification qualitative et quantitative de chaque ingrédient actif dans le produit fini. Les tests sont effectués avec rigueur et précision sont demandés cela se traduit littéralement par l'application des bonnes pratiques de fabrication découlant d'une gestion de la qualité pharmaceutique. Afin de s'assurer que le processus de fabrication de l'Antibiotique **AUGMENTIN® 1g/125mg** réalisé dans les normes de qualité requises le laboratoire **GlaxoSmithKline** fait appel à la validation des procédés de fabrication, en effet ceci reflète la capacité d'un fabricant à maîtriser et contrôler toutes les opérations de la chaîne de valeur de la production industrielle de masse à la distribution en passant par le contrôle qualité ce qui exige une approbation réglementaire. Ce présent travail est divisé en deux parties :

La première partie est proprement théorique relative à la description de l'antibiotique **AUGMENTIN® sachet 1g/125 mg** ainsi que tous les essais exigés par la pharmacopée Européenne appliquées par le **laboratoire contrôle qualité GlaxoSmithKline** ainsi que tout le système du management qualité pharmaceutique. La deuxième partie pratique comportant la partie expérimentale effectuée au sein du laboratoire de contrôle qualité « **GlaxoSmithKline GSK Boudouaou** » relatif aux différents tests et équipements et matériels utilisées à cet effet lors des contrôles qualité physico-chimiques et pharmaco-techniques réalisés sur matières premières et produit fini et comporte également une collecte de données des résultats obtenus pour chaque essai réalisé suivi de leurs interprétations ainsi que les normes appliquées.

Présentation de l'organisme d'accueil

GlaxoSmithKline (GSK) est une multinationale britannique, l'un des dix géants de l'industrie pharmaceutique mondiale. Le laboratoire GlaxoSmithKline est présent dans un grand nombre de domaines thérapeutiques, pour répondre aux attentes des professionnels de santé et des patients de toutes origines, de tous âges et de tous niveaux sociaux. Pour les maladies les plus fréquentes comme pour les maladies rares, l'accès aux traitements pour tous et partout dans le monde est une priorité.

Parmi ces domaines, trois intéressent essentiellement le groupe : les infections, les pathologies du système nerveux central et les troubles gastriques et du métabolisme, contre lesquels il propose divers médicaments et vaccins.

GlaxoSmithKline, Algérie

GSK Algérie, situé dans la zone industrielle de Boudouaou (Boumerdès), a été conçu pour assurer la production des principaux antibiotiques de ce groupe, en l'occurrence Augmentin, Clamoxyl. Le site est conçu selon les dernières recommandations et standards internationaux et équipé par des équipements de production et de contrôle de hautes technologies et veille à assurer que chaque médicament produit doit répondre aux normes réglementaires internationales les plus élevées.

L'unité de production GSK, Boudouaou comporte plusieurs locaux :

- L'administration.
- Une unité de fabrication des produits pénicilliniques en zone antibiotique.
- Une aire de stockage pour matière première et produit fini.
- Un laboratoire de contrôle qualité (LCQ).
- Une station d'épuration d'eau

Présentation du laboratoire de contrôle qualité GlaxoSmithKline

Notre stage s'est étalé sur un mois au niveau du laboratoire de contrôle qualité (LCQ) de la filiale,

L'organisation du laboratoire contrôle qualité des antibiotiques « GSK » est schématisée dans la figure ci-dessous :

Présentation de l'organisme d'accueil

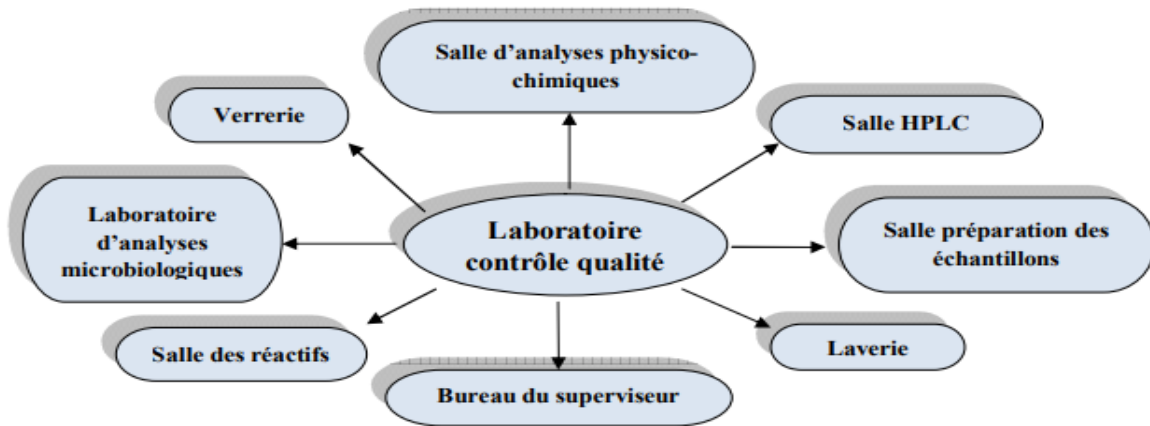


Schéma 1 : Organisation du laboratoire contrôle qualité de l'unité pharmaceutique GSK

Le laboratoire est doté d'équipements technologiques de haute performance pour sa production, notamment pour le contrôle qualité des produits afin de répondre aux exigences des pharmacopées les plus récentes, entre autres :

1. Une salle d'instrumentation : où l'on fait l'analyse qualitative et quantitative par différentes méthodes :

Méthodes chromatographiques : chromatographie liquide (HPLC), chromatographie gazeuse (GC).

Méthodes spectrales : spectrophotométrie d'absorption dans l'UV-Visible, spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge et spectrophotométrie d'absorption atomique.

2. Une salle de préparation : où l'on fait les différents essais, des mesures (pH, poids, conductivité...) et des préparations (solutions standards, échantillons, solutions de dilutions...);
3. Une salle pour les tests physiques tels que : dureté, friabilité... la salle est équipée de : d'uromètre, dessiccateur halogènes ...etc.
4. Une salle pour la conservation des réactifs ;
5. Une échantillothèque au niveau de laquelle les échantillons de matières premières et produits finis sont conservés en vue de contrôle ultérieur ;
6. Salle de stockage des verreries ;
7. Salle pour la documentation ;
8. Bureau du chef de laboratoire ;
9. Unité de contrôle microbiologique

Chapitre 1 :

Présentation de

l'Antibiotique

AUGMENTIN[®] 1g/125 mg

La découverte de nouveaux médicaments s'est longtemps limitée à l'observation empirique des effets produits par certaines substances naturelles sur le cours des maladies humaines ou animales.

C'est **Paracelse**, médecin suisse de son vrai nom « **Theophrast Bombast Von Hohenheim** », qui a joué un rôle considérable dans l'histoire de la médecine ; qui au XVI^{ème} siècle prônera la nécessité d'élaborer un médicament spécifique pour chaque maladie.

Cette "**révolution thérapeutique**" qui est issue de la croissance très rapide de la recherche au sein des laboratoires pharmaceutiques bénéficiant des progrès de la chimie, de la bactériologie et de la physiologie.

Ces disciplines ont, à partir des années 1930 commencées à associer de façon systématique les capacités de synthèses de nouvelles molécules à la modélisation biologique des cibles thérapeutiques.

Grâce à ce processus de criblage (Screening) permettant ainsi de sélectionner des composés méritant d'être essayé en clinique, comme la découverte de **la pénicilline** en 1943 par **FELMING**, d'où l'origine d'une large gamme d'**Antibiotique** utilisés actuellement en thérapeutique.

1. Antibiotiques

1.1 Définition d'un antibiotique

Le terme d'antibiotique dérive de celui d'antibiose (du grec anti « Contre » et bios « la vie »), il désigne une molécule qui détruit ou bloque la croissance des bactéries.

Un antibiotique est toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant (champignons, bactéries ou levure), obtenue par synthèse chimique ou héli synthèse par modification d'une molécule de base naturelle. De très faible concentration capable d'inhiber la croissance voir détruire des microorganismes sans intoxiquer la cellule hôte. [1]

Un même antibiotique peut être **bactériostatique** et à faible dose et **bactéricide** à dose plus élevée.

Tableau 1: Effets antibactérien des antibiotiques.

Classes d'antibiotiques à action	
Bactériostatique	Bactéricide
Macrolides Sulfamides Tétracyclines Nitrofuranes	β-lactames Quinolones Aminoglycosides Nitroimidazoles

Phénicolés	Glycopeptides Polymyxines, Synergistines, Acide fusidique
------------	--

1.2. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent à l'échelle moléculaire à différentes étapes métaboliques de la vie cellulaire d'une bactérie d'où leur classification reposant sur leur mécanisme d'action et leurs structure chimique lesquels conditionnent leur spectre d'activité.

Cependant on distingue plusieurs effets antibiotiques à différentes étapes de la vie cellulaire :

- Antibiotiques inhibiteurs de synthèse de la paroi bactérienne.
- Antibiotiques actifs au niveau de la membrane cytoplasmique
- Antibiotiques inhibiteurs de synthèse protéique
- Antibiotiques inhibiteurs des acides nucléiques. [2]

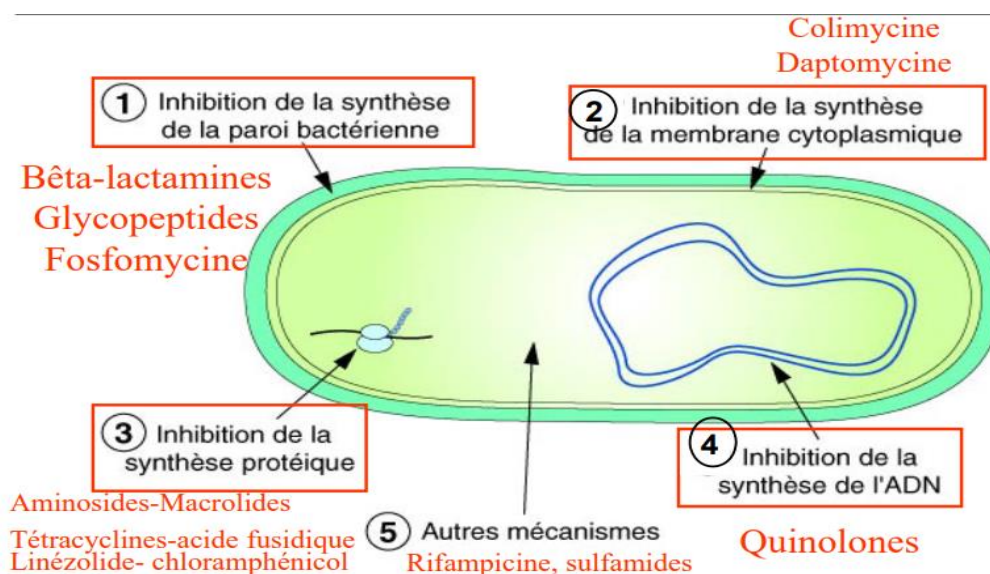


Figure 1: Image illustrant les différents mécanismes d'action des antibiotiques.

1.3. Antibiotiques issus du cycle β -lactame

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotique les plus importantes, regroupent les pénicillines et les céphalosporines, est caractérisée par la présence commune du cycle β -lactame associé à des hétérocycles et des chaînes latérales variables qui expliquent les propriétés pharmacologiques et leur spectre d'activité en clinique les β -lactamines connues pour leur activité antimicrobienne associée à action bactéricide. [3]

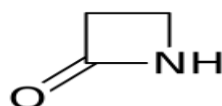


Figure 2: Noyau β -lactame

2. Présentation du produit fini AUGMENTIN® sachet d'1g

L'Augmentin 1g/ 125 mg sous sa forme commerciale est représenté dans la figure 5 ci-dessous :



Figure 3: Produit fini AUGMENTIN® 1g/125 mg.

2.1. Composition du médicament

Augmentin®, formulation d'amoxicilline et d'acide clavulanique, étend le spectre de l'amoxicilline aux bactéries productrices de β -lactamases. Ainsi, cette formulation pourrait représenter un antibiotique de 1ère intention pour le traitement empirique de la plupart des infections communautaires. [4]

2.1.1. Principes actifs

Tableau 2: Principes actifs constituant l'AUGMENTIN®

Poudre pour suspension buvable 1g/125mg	par sachet-dose
Amoxicilline trihydratée exprimée en amoxicilline	1g
Acide clavulanique sel de potassium exprimé en acide clavulanique	125mg

2.1.1.1. Amoxicilline : l'amoxicilline fait partie du groupe des pénicillines à spectre élargi, obtenu par héli synthèse à partir des benzyl-pénicilline (pénicilline G), elle est utilisée sous forme d'Amoxicilline trihydraté.

- **Structure chimique :**

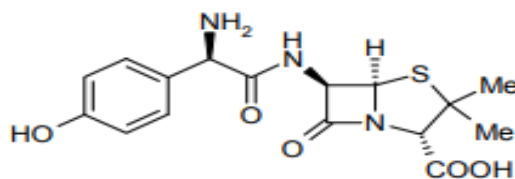


Figure 4: Molécule d'amoxicilline.

- **Nomenclature selon l'IUPAC :**

Acide (2S, 5R6R) -6-[[(2R) -2-amino-2-(4-hydroxyphényl) -acétyl] amino] -3,3-diméthyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0] -heptane-2-carboxylique trihydraté.

- **Propriétés physicochimiques :**

- Formule : $C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$
- Masse molaire : 419,4 g /mol (365,404 g/mol pour le composé anhydre)
- pKa : 2,8
- Teneur : 95,0% à 102,0% (substance anhydre). [5]

2.1.1.2. Acide clavulanique

L'acide clavulanique, d'origine naturelle, produit par « *Streptomyces clavuligerus* », est un puissant inhibiteur des bêtalactamases produites par des bactéries à Gram + et à Gram -. L'acide clavulanique n'a pas, à lui seul, un effet antibactérien cliniquement pertinent, il est utilisé sous forme de clavulanate de potassium. [6]

- **Structure chimique :**

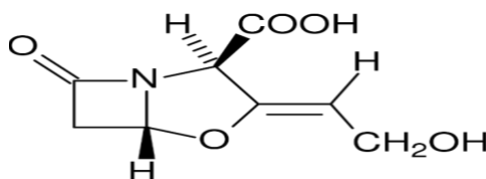


Figure 5: Molécule d'acide clavulanique.

- **Nomenclature selon l'IUPAC**

Acide (2R, 3Z, 5R) -3-(2-hydroxyéthylidène) -7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo [3.2.0] heptane-2-carboxylique. [7]

- **Propriétés physicochimiques**

- ✓ Formule : $C_8H_9NO_5$.

- ✓ Masse molaire : 237,25 g/mol

2.1.2. Excipients

- **Crospovidone** : L'excipient crospovidone appelée aussi crospolyvidone joue un rôle d'un liant et à la fois il favorise la désintégration une fois la dose dans l'estomac.
- **Silice précipitée hydratée** : est utilisée comme agent de remplissage dans les produits pharmaceutiques.
- **Arôme pêche-citron-fraise** : (contient de la maltodextrine et de l'alcool benzylique), aspartam (E951). [8]

2.3. Propriétés pharmacocinétiques

➤ Absorption

L'amoxicilline et l'acide clavulanique sont totalement dissociés en solution aqueuse à pH physiologique. Ces deux composants sont rapidement absorbés après administration orale.

L'absorption de l'amoxicilline/acide clavulanique est améliorée lorsque le médicament est pris en début de repas. Après administration orale, l'amoxicilline et l'acide clavulanique présentent une biodisponibilité d'environ 70 %.

➤ Distribution

Environ 25 % de l'acide clavulanique plasmatique total et 18 % de l'amoxicilline plasmatique totale sont liés aux protéines.

Le volume apparent de distribution est d'environ 0,3 à 0,4 l/kg pour l'amoxicilline et d'environ 0,2 l/kg pour l'acide clavulanique.

➤ Métabolisme

L'amoxicilline est partiellement excrétée dans l'urine sous forme d'acide pénicilloïque inactif, dans une proportion pouvant atteindre 10 à 25 % de la dose initiale. L'acide clavulanique est largement métabolisé chez l'homme et éliminé dans les urines et les selles, et sous forme de dioxyde de carbone dans l'air expiré.

➤ Elimination

La principale voie d'élimination de l'amoxicilline est rénale, tandis que l'acide clavulanique est éliminé à la fois par des mécanismes rénaux et non rénaux.

L'association amoxicilline/acide clavulanique possède une demi-vie d'élimination moyenne d'environ une heure et une clairance totale moyenne d'environ 25 l/h chez les sujets sains. Environ 60 à 70 % de l'amoxicilline et environ 40 à 65 % de l'acide clavulanique sont excrétés

sous forme inchangée dans l'urine au cours des 6 heures suivant l'administration de comprimés uniques. [9]

2.4. L'Association amoxicilline/Acide clavulanique

2.4.1. Antibiorésistance

Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place.

Cependant on distingue deux mécanismes de résistances :

➤ Résistance naturelle

Une résistance intrinsèque se définit comme une caractéristique fonctionnelle ou structurelle conférant une insensibilité totale, à la bactérie vis-à-vis d'une molécule particulière ou vis-à-vis d'une classe d'antimicrobiens. L'origine de cette résistance à un antibiotique est probablement multifactorielle parmi ces facteurs on cite l'inactivation enzymatique innée de l'antibiotique (la production d'une bêta-lactamase). [10]

- **Résistance acquise** : cette dernière est due à des mutations survenues lors de l'échange d'arsenal entre bactéries se traduisant à l'acquisition des gènes de résistances portés par des éléments génétiques mobiles : les plasmides ; les transposons ; les intégrons. [11]

2.4.2. Le but de l'adjonction Amoxicilline/ acide clavulanique

L'une des stratégies thérapeutiques pour contrecarrer la résistance bactérienne consiste à combiner les β -lactamines et l'inhibiteur des β -lactamase. [12]

En revanche, les associations β -lactamines et acide clavulanique sont peu sensibles à l'augmentation de l'inoculum (population bactérienne) expliquant leur succès sur des souches d'*Echericha. Coli* et de *Klebsiella. pneumoniae* productrices de pénicillinases. [13], [14]

Références bibliographiques

- [1]. https://fac.umc.edu.dz/vet/Cours_Ligne/cours_20_21/Pharmaco_A3/Antibiotique.pdf
- [2]. <https://www.infirmiers.com/etudiants-en-ifs/cours/cours-pharmacologie-les-antibiotiques.html>
- [3]. Mainardi, J. L. (2015). Mécanisme d'action et de résistance aux antibiotiques: session interactive autour de l'antibiogramme». *Unité Mobile de Microbiologie Clinique, Service de Microbiologie, Hôpital Européen Georges POMPIDOU et Faculté de Médecine Paris René DESCARTES.*
- [4]. Cavallo, J.D, Fabre, R Jehl,F, Rapp.C & Garrabé,E (2004), bêta-lactamines, EMC-Maladies infectieuses, 1(3),129-202.
- [14]. LUPO, Valérian, *et al.* Origine et évolution des bêta-lactamases de classe D. 2018.
- [15]. <https://pharmadream.io/drugs-detail/25QPGRoV>
- [5]. Wolff, M. (1993). Evaluation de l'Augmentin® dans le traitement des infections communautaires à germes résistants à l'amoxicilline et sensibles à l'association amoxicilline-acide clavulanique. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 23, 49-54.
- [6]. <https://www.vidal.fr/medicaments/augmentin-1-g-125-mg-pdre-p-susp-buv-1730.html>
- [7]. Documentation GSK/Procédure de contrôle de matière première
- [8]. <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/acide-clavulanique-4375.html>
- [9]. Document GSK /Procédure de contrôle des excipients.
- [10]. <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=65541548&typedoc=R#RcpPropPharmacodynamiques>
- [11]. Muylaert, A., & Mainil, J. (2013). Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur" contagiosité". In *Annales de Médecine vétérinaire* (Vol. 156). ULg-Université de Liège, Liège, Belgium.
- [12]. Dupuy Maury, F. (2017). Antibiorésistance : La guerre est déclarée ! *Science & Santé*
- [13]. Faure, S. (2009). Transfert d'un gène de résistance aux bêta-lactamines blaCTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : influence d'un traitement antibiotique (Doctoral dissertation, Université Rennes 1)
- [14]. BISSAGNENE, E., KOUADIO, K., LAGO, H., EHOLIE, S., KAKOU, A., SYLLAKOKO, F. & KADIO, A. (1998). Amoxicilline-acide clavulanique dans le traitement des infections communautaires de l'adulte en zone tropicale. *Médecine d'Afrique Noire*, 45(1), 66-74

Chapitre 02 :

Contrôle Qualité

Pharmaceutique

L'industrie pharmaceutique se présente comme un secteur soumis à une forte contrainte réglementaire. Cependant l'encadrement étatique de la production pharmaceutique a été renforcé drastiquement au fil des années car il veille à élaborer des systèmes de maîtrise de process et de contrôle qualité correspondant aux gages de sécurité sanitaire ; ceci afin d'assurer la garantie des médicaments par ailleurs accentuer la rentabilité du secteur.

1. Notion sur le management de la qualité pharmaceutique

1.1. Conseil international d'harmonisation -ICH

ICH - International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use – est un processus d'harmonisation des exigences réglementaires en matière de médicaments à usage humain.

Ce projet normatif émergent est fondé afin d'assurer une qualité sanitaire requise selon les protocoles que l'industrie tente de faire avaliser sur le plan réglementaire, l'organisation qui en découle, est composée d'experts intergouvernementaux et de sociétés multinationales communément appelés membres observateurs de l'ICH.

L'organe décisionnaire de l'ICH a instauré des lignes directrices (Normes Pharmaceutiques) qui sont en effet présentes à chaque maillon de la chaîne de valeur ; de la R&D à la distribution en passant par la production ; ces règles définissent des modalités de contrôles standardisées caractéristiques de la production industrielle de masse. [1][2]

1.2. Les principales lignes directrices de l'ICH

- **La ligne directrice ICH Q8** « Développement pharmaceutique » a permis de préciser le type d'informations nécessaires dans les dossiers d'enregistrements pour démontrer la connaissance des facteurs ayant un impact sur la qualité du produit. De même, les notions de qualité par conception ont ainsi vu le jour. [3]
- **La ligne directrice ICH Q9** « management du risque qualité » décrit le management du risque et des exemples d'outils possibles pour cette évaluation, qu'elle soit prospective ou réactive. [3]
- **Le document ICH Q10** propose un système de management permettant d'orienter et de contrôler une société pharmaceutique en matière de qualité. Il introduit de façon formelle l'amélioration continue, l'engagement de la direction, la maîtrise des modifications, la maîtrise de la connaissance et, bien sûr, la gestion de la qualité. Ce

document nous rapproche un peu plus des systèmes de management couverts par les normes ISO et permettra un maillage de la qualité plus étroit à l'avenir. [3]

1.3. Assurance qualité

Un système d'assurance de la qualité pharmaceutique est dit efficace auquel la direction, le personnel des différents services concernés doivent y contribuer.

Chaque site de fabrication doit être doté d'un personnel qualifié pour atteindre l'objectif de l'assurance de la qualité pharmaceutique, en revanche ce potentiel humain reçoit d'une manière régulière un panel de formation couvrant les aspects théoriques et pratiques de ce volet.

- Les locaux et les équipements de fabrication utilisés doivent impérativement être soumis à des normes d'hygiène drastique afin d'éviter toute contamination ou effet nocif sur la qualité du produit. Ces équipements utilisés pour des opérations de fabrication décisives font constamment objet d'une approbation adéquate et validée à savoir un calibrage, étalonnage, nettoyage et une maintenance corrective ou préventive (CAPA).
- La production doit être effectuée dans le respect des bonnes pratiques de fabrication et veiller à leur conformité selon les exigences et procédures préétablies. Tout écart dans le procédé, défaut voire un résultat hors spécification doivent être documentés et faire objet d'une investigation.
- Il est du devoir du fabricant à mettre en place un système de documentation couvrant les différentes opérations de pilotage réalisé, ces documents retraceront historiquement chaque lot produit ainsi que toute modification apportée lors de la mise au point d'un médicament. [3]

1.4. Notion sur les bonnes pratiques de fabrications

Les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) dites Good Manufacturing Practices (GMP) désignent un gage de qualité appliqué à la fabrication de médicaments à usage humain ou vétérinaire. Elles sont définies comme « un des éléments de l'assurance de la qualité, garantissant que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon uniforme et selon des normes de qualité adaptées à leur utilisation et spécifiées dans l'autorisation de mise sur le marché ». [3]

2. Contrôle Qualité Pharmaceutique

Toute unité de production pharmaceutique doit s'assurer que la fabrication d'un médicament est conforme à l'information énoncée dans la demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) approuvée par les autorités compétentes.

Durant les opérations de pilotage pharmaceutique, le contrôle qualité occupe une place capitale pour des raisons évidentes de santé publique.

Les contrôles effectués appelés analyses en industrie pharmaceutique sont donc incontournables et soumis à une réglementation stricte.

Plusieurs types d'analyses sont effectués à différents stades de fabrication du médicament à savoir :

- ❖ Analyses physico-chimiques
- ❖ Analyses biologique/ microbiologiques
- ❖ Analyses pharmacologiques (précliniques et cliniques) et toxicologiques.

Ces dernières sont faites sur des prélèvements de matières premières, de produit semi-fini et de produit fini. [4]

2.1. Echantillonnage

Un laboratoire de contrôle qualité peut recevoir des échantillons destinés soit pour des essais de conformité ou d'investigation.

L'échantillonnage des substances matières premières ou produits nécessite d'établir un plan et une procédure de prélèvement qui est mise à disposition des analystes.

Les échantillons doivent être représentatifs du lot à partir duquel ils sont prélevés et l'opération doit être réalisée de façon à éviter toute contamination.

Un formulaire standard doit accompagner chaque échantillon et doit contenir les renseignements suivants :

- ✓ L'origine du produit, numéro de lot.
- ✓ Description complète du médicament, nom (DCI, nom de spécialité).
- ✓ Forme galénique, concentration, dosage.
- ✓ L'analyse à laquelle il sera soumis.
- ✓ La date à laquelle l'échantillon a été recueilli et la date de péremption.
- ✓ Conditions de conservation. [5]

2.2. Validation des méthodes analytiques

Toute analyse doit être accompagnée d'une fiche analytique qui est un document interne, utilisée par l'analyste pour consigner les informations sur l'échantillon, le procédé d'analyse, les calculs et les résultats ainsi que les normes spécifiques.

Une fois toutes les opérations achevées, des données brutes obtenues en cours d'analyse et leurs interprétations et conclusions finales vérifiées, approuvées et signées par le superviseur.

Dans la phase de mise au point d'une méthode analytique ; la robustesse doit également être envisagée ; entre autre la capacité de la méthode à fournir des résultats fiables en termes d'exactitude et de précision acceptables dans des conditions opératoires variables, cette dernière doit démontrer des critères de répétabilité et de reproductibilité et doit être documentée dans le rapport de validation.

Les essais sont établis lors d'une vérification des méthodes de la pharmacopée, ou des méthodes déjà validées qui nécessitent une revalidation. [5]

2.3. Evaluation des résultats d'analyse

- Les résultats doivent être examinés et évalués statistiquement après que toutes les analyses aient été faites pour déterminer s'ils sont compatibles entre eux et s'ils satisfont aux spécifications.
- Chaque fois que des résultats douteux (atypique, présumé hors spécifications) sont obtenus, il faut mener une investigation afin de vérifier l'ensemble de la méthode d'analyse conformément au système interne de gestion de la qualité.
- L'identification d'une erreur ayant provoqué un résultat aberrant conduisant à un échantillon invalide est nécessaire et imminente. Ce dernier doit alors être de nouveau analysé. Toutefois une nouvelle confirmation au moyen d'une autre méthode validée peut être souhaitable.
- Les investigations faites et leurs conclusions doivent être consignées, en cas d'erreur, toute mesure corrective ou préventive prise doit être enregistrée. [5]

3. Contrôle physico-chimique d'un produit fini AUGMENTIN®

Nous nous appuyons sur le cas d'un laboratoire de contrôle qualité du groupe pharmaceutique GSK (GlaxoSmithKline), qui a mené un travail portant sur les méthodes d'ordonnancement des analyses physico-chimiques d'un produit fini pharmaceutique AUGMENTIN® sachet 1g/ 125mg, poudre pour suspension buvable.

Chaque analyse comporte plusieurs déterminations indépendantes réalisées sur des postes de travail différents par une équipe de techniciens et analystes utilisant des équipements spécifiques et souvent automatisés comme le présente ci bien la **Figure (6)** ci-dessous :

- Paillasse réservées aux analyses réalisées sur paillasse pour le contrôle du produit fini
- Poste pour analyses chromatographiques d'HPLC pour l'identification des principes actifs
- Poste pour analyses chromatographique CPG pour l'identification des excipients (arômes). [4]

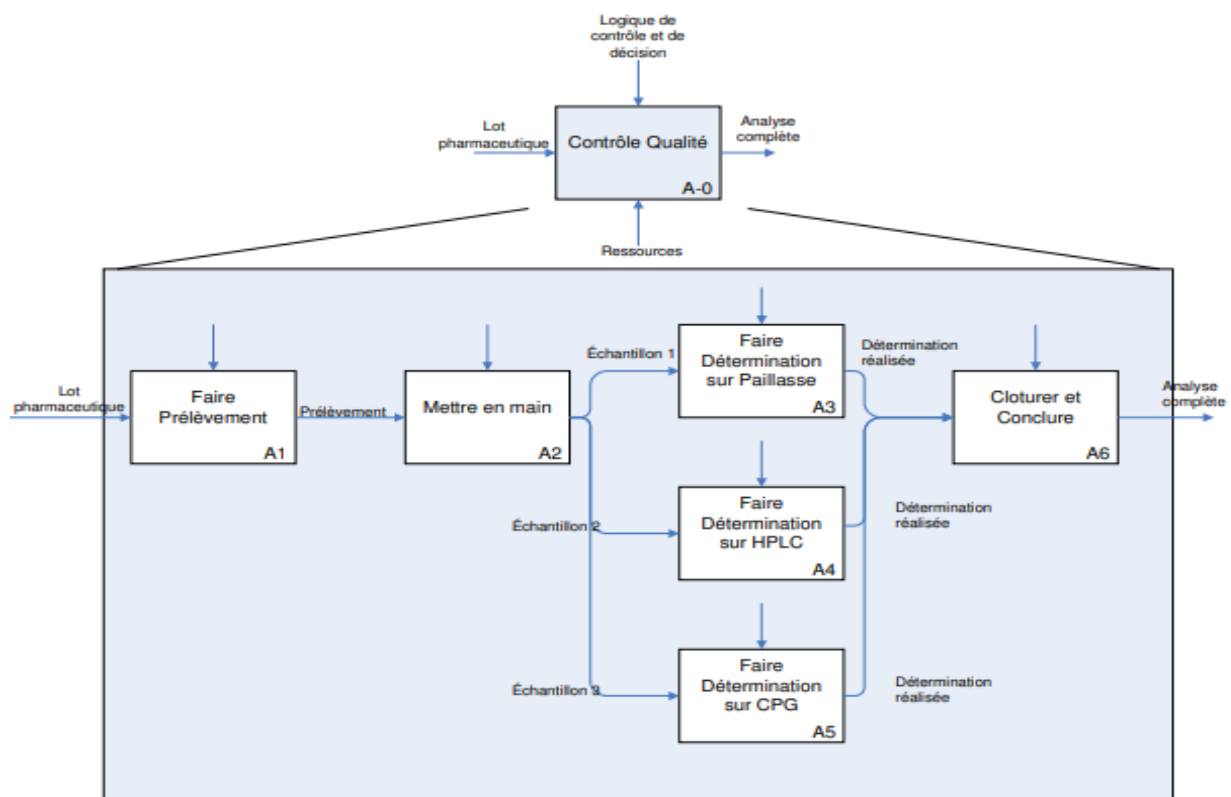


Figure 6: Modélisation du processus de contrôle d'un produit pharmaceutique.

3.1. Méthodes d'analyses réalisées sur paillasse

3.1.1. Détermination de la teneur en eau

Il est important de contrôler la quantité d'eau dans une poudre, car l'eau s'avère avoir des pouvoirs lubrifiants en faibles quantité mais elle peut également avoir des effets défavorables tels qu'induire une prise en masse des particules, ce qui nuit au bon écoulement et au bon mélange de la poudre. [6]. La teneur en eau est généralement mesurée par titration par la méthode de Karl Fischer [7] ; cette méthode est considérée comme la plus efficace pour la

détermination de la teneur en eau, son principe de base est la génération de la réaction de l'iode avec de l'eau en solution alcoolique en présence d'acide sulfureux et une base. [8]

On distingue deux principales versions de la méthode Karl Fischer, la différence entre la version volumétrique et la coulométrique tient compte particulièrement de la méthode d'introduction de l'iode lors de la réaction de titration.

La méthode volumétrique destinée pour des échantillons en phase solide et liquide tant dit que la coulométrique permet un large choix d'échantillon en phase solide, liquide et gazeuse, permettant de détecter de plus petites quantités d'eau, et présente a priori une séquence d'analyse plus courte et simple en comparaison à la volumétrie comme l'illustre la **figure (7)**. [8]

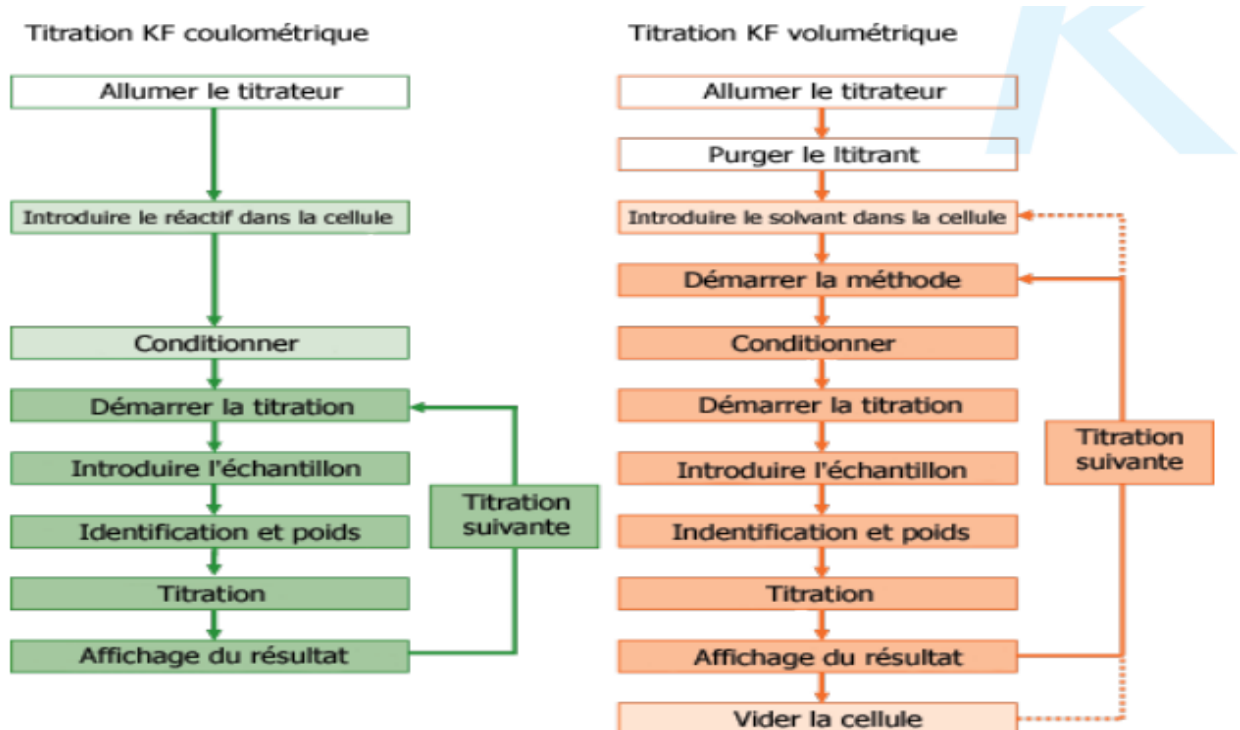


Figure 7: Organigramme présentant la comparaison entre les versions volumétriques et coulométriques de la méthode Karl Fischer.

3.1.2. Perte à la dessiccation

Ce test est effectué pour les excipients de l'AUGMENTIN® (crospovidone, aspartam) qui consiste en la détermination de la teneur en humidité mesurée principalement par la perte de poids au séchage ce qui signifie essentiellement que l'échantillon pesé puis séché ou chauffé pour être à nouveau pesé afin de mesurer la différence de masse.

La teneur en eau est déterminée par une approche thermogravimétrique c'est-à-dire par perte à la dessiccation due à l'évaporation de l'humidité enregistrée ce résultat est fourni par un

instrument de mesure appelé dessiccateur ou au moyen d'une méthode standard qui est une étuve de séchage.

Le dessiccateur halogène fonctionne sur le principe de la thermogravimétrie, c'est-à-dire que le poids de départ de l'échantillon est mémorisé, puis une lampe halogène sèche l'échantillon pendant qu'une balance intégrée enregistre le poids en continu. La perte totale de poids est interprétée comme étant la teneur en humidité, la figure (8) illustre explicitement le principe de la mesure.

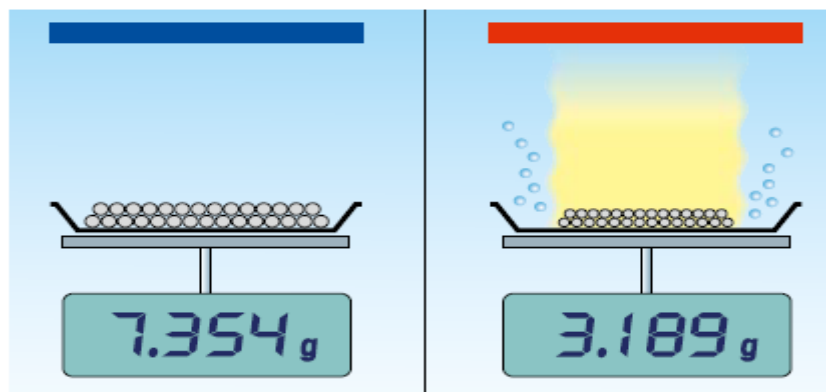


Figure 8: Détermination de la teneur en humidité par dessiccation à l'Infrarouge.

Contrairement à l'étuve traditionnelle dans laquelle l'échantillon est chauffé par convection et durant une longue période, l'échantillon soumis au dessiccateur halogène absorbe la radiation infrarouge (radiation thermique) de la lampe halogène et, de ce fait, monte très rapidement en température. [8]

3.1.3. Uniformité de masse

Qualité demandée par la pharmacopée européenne pour les préparations unidoses en récipients individuels. Cet essai consiste à peser le contenu de 20 unités prélevées au début, milieu et fin de lot, réaliser un pesage des sachets pleins puis un pesage à vide de ces sachets préalablement rincés et séchés à l'étuve pour ainsi déterminer la masse moyenne du contenu de l'ensemble des échantillons.

3.2. Analyses chromatographiques

3.2.1. Uniformité de teneur

L'essai d'uniformité de teneur des comprimés ou sachet (préparation unidose) permet de vérifier l'uniformité de la quantité de substance active sur l'ensemble des unités d'un même lot de spécialité. Ce test consiste à déterminer les teneurs individuelles en PA d'un nombre spécifié

de comprimé ou sachet du lot et à vérifier que chaque teneur individuelle se trouve dans un intervalle étroit autour de la valeur indiquée sur l'étiquette.

Les pharmacopées proposent dans la monographie de chaque préparation, une méthode analytique validée qui permet de doser le PA avec spécificité et précision. La méthode analytique la plus préconisée par les pharmacopées est l'HPLC. Voici un aperçu de la méthode d'analyse présentée dans la **Figure (9)**. [9]

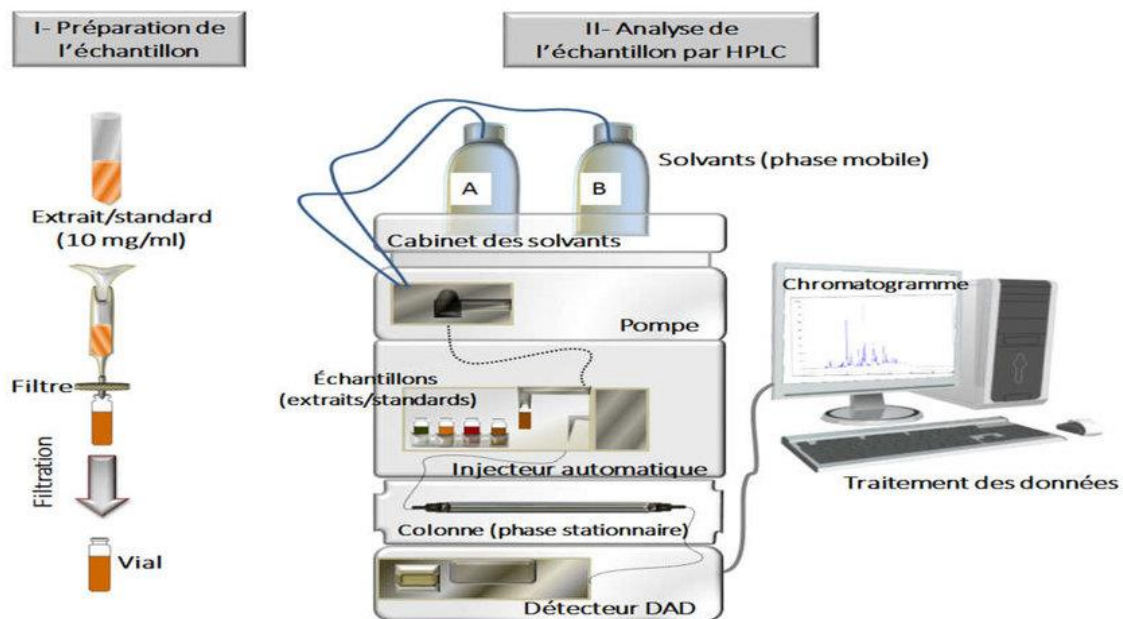


Figure 9: Détermination de l'uniformité de teneur des principes actifs par HPLC.

4. Principe de la chromatographie

La chromatographie est une technique d'analyse qui permet la séparation des constituants d'un mélange en phase homogène liquide ou gazeuse. La séparation est basée sur l'entraînement des constituants présents dans la colonne en phase mobile, ces derniers parcourent avec des temps proportionnels à leur propriété intrinsèque (taille de la molécule, structure,) ou à leur affinité avec la phase stationnaire (polarité). A la sortie de la colonne les constituants du mélange passent à travers un détecteur qui mesure en continu la quantité de chacun en fournissant un chromatogramme en guise d'une réponse signalétique sous forme de pic adoptant une allure gaussienne. [9]

4.1. Classification des méthodes chromatographiques

- Selon la nature de la phase mobile, on distingue :
 - La chromatographie en phase liquide (HPLC)
 - La chromatographie en phase gazeuse (CPG)

- La chromatographie en phase supercritique (CPS)
- Selon le phénomène mis en jeu, on distingue :
 - Chromatographie de partage (la plus répandue, la plus utilisée)
 - Chromatographie d'adsorption
 - Chromatographie échangeuse d'ions
 - Chromatographie par exclusion de taille

4.2. Chromatographie liquide haute performance

La chromatographie liquide haute performance (HPLC) est une technique de séparation chromatographique reposant sur la distribution différentielle des espèces à séparer entre deux phases non miscibles, une phase stationnaire contenue dans une colonne et une phase liquide qui traverse par percolation, cette approche est fondée essentiellement sur les mécanismes de partage. [9]

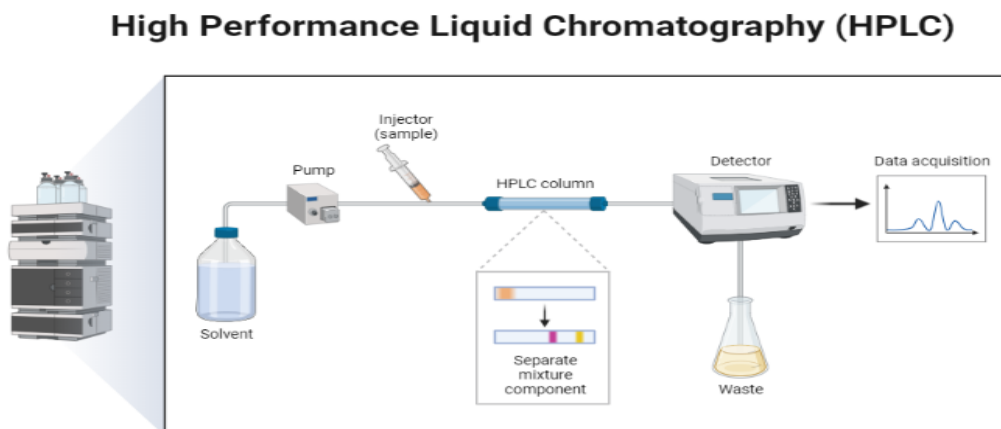


Figure 10: Schéma représentant le fonctionnement d'une chaîne d'HPLC

4.3. Conformité du système chromatographique (system suitability test SST)

- Les différents éléments de l'appareillage doivent être qualifiés et permettre d'atteindre la performance requise pour la réalisation de l'essai ou du dosage considéré.
- Les essais de conformité du système font partie intégrante de la méthode et visent à vérifier les performances du système chromatographique.

- Les paramètres généralement utilisés pour l'évaluation des performances de la colonne sont l'efficacité, facteur de rétention, calcul du nombre de plateaux théoriques, la résolution et le facteur de symétrie (caractéristiques intrinsèques des pics d'un chromatogramme) ainsi la répétabilité liée au système. [9]

➤ **Répétabilité liée au système**

La répétabilité de la réponse est exprimée en pourcentage, par l'écart-type relatif à RSD (%) estimé à partir d'au moins trois mesures consécutives effectuées par injection de la solution témoin (solution standard de référence) et calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{RSD (\%)} = \frac{100}{\bar{y}} \sqrt{\frac{\sum(y_i - \bar{y})^2}{n-1}}$$

- Y_i : Valeur individuelle (aires)
- \bar{Y} : Moyenne des valeurs individuelles
- N : Nombre de valeurs individuelles

Le système doit répondre aux critères de conformité pendant toute la procédure chromatographique. En effet la norme de « RSD » exigée par la pharmacopée est de

$$\text{RSD} \leq 2\%. [9]$$

L'analyse pharmaceutique du médicament (matières premières, produit fini) permet de garantir la qualité des médicaments administrés aux patients ; leur contrôle est basé sur le respect des bons pratiques de fabrication qui servent de référence indispensable aux praticiens lui permettant ainsi de conclure la conformité ou non des produits.

Références bibliographiques

- [1]. Muller, S. (2011). L'industrie pharmaceutique et l'État. *Savoir/Agir*, 16(2), 37-42.
- [2]. Labrousse, A. (2013). Une industrie normée ? Gouvernement par les normes, jeu sur les normes et internationalisation des chaînes de valeur dans le secteur pharmaceutique. *Économie et institutions*, (18-19).
- [3]. Sennoun, R. (2012). *Relations de l'ICH Q10 "Système qualité pharmaceutique" avec les standards ISO, les GMP et son application chez SGS Life Science Services* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- [4]. Fontanili, F., Lamothe, J., Dupuy, M., & Nexon, C. (2006, April). Etude dynamique de l'ordonnancement d'un laboratoire de contrôle qualité pharmaceutique. In *6e Conférence Francophone de Modélisation et Simulation, Maroc*.
- [5]. https://extranet.who.int/pqweb/sites/default/files/documents/TRS957_annex1_FRENCH.pdf
- [6]. PERNOT, Justin. *Amélioration de l'uniformité de teneur d'une poudre destinée à la voie orale*. 2020. Thèse de doctorat. Université de Lorraine.
- [7]. https://www.mt.com/ca/fr/home/applications/Laboratory_weighing/moisture-content-determination.html
- [8]. https://www.mt.com/ca/fr/home/applications/Laboratory_weighing/moisture-content-determination.html
- [9]. Bose, A., 2014. HPLC calibration process parameters in terms of system suitability test. *Austin Chromatogr*, 1(2), pp.1-4.

Partie

Expérimentale

Chapitre 3 :

Matériels et Méthodes

Cette partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de contrôle qualité de l'unité de production pharmaceutique de **GlaxoSmithKline (GSK) de BOUDOUAOU**.

1. Contrôle physico-chimiques de l'AUGMENTIN® 1g/125 mg

Cette partie du travail a pour objet, le contrôle qualité physico-chimique du produit AUGMENTIN® 1g/125 mg et les matières premières afin de déterminer sa conformité par rapport aux normes de la pharmacopée britannique 9ème édition et aux spécifications internes du laboratoire « **GlaxoSmithKline** ».

Mettre un lot de médicament sur le marché, nécessite sa conformité aux normes de qualité et de sécurité revendiquées par le laboratoire. Le protocole d'analyses décrit ci-dessous contrôle cette conformité sur le plan physico-chimique.

2. Protocole analytique

2.1. Echantillonnage

Le prélèvement du produit fini (PF) est effectué par les opérateurs de production de manière à avoir un prélèvement représentatif du lot et en quantité nécessaire aux différents contrôles effectués sur le médicament. Ci-dessous un tableau illustrant d'une façon globale les différents plans d'échantillonnage appliqués sur un lot de routine selon les essais auxquels ils sont destinés.

Tableau 3 : Tableau représentatif des prélèvements effectués requis pour chaque essai.

TEST	LOT DE ROUTINE
• Caractère	➤ 1 sachet D, 1 sachet M, 1 sachet F
• Identification et dosage par HPLC : -Amoxicilline -Acide clavulanique	➤ Prélever 10 sachets dans 3 cartons différents du 1 ^{er} au dernier carton (prendre au moins un sachet par tête).
• Masse moyenne	➤ 20 sachets
• Uniformité de teneur	➤ 10 sachets
• Mise en suspension et pH	➤ 1 sachet part lot
• Teneur en eau	➤ 1 sachet par lot

Avec **D** : Début ; **M** : Milieu ; **F** : Fin

2.2. Tests réalisés sur un lot de routine

La qualité du médicament fait l'objet de nombreux contrôles tout au long de sa production puis de son cycle de vie. Dès l'arrivée des matières premières dans l'usine avant la formulation au contrôle post-commercial de validation, de nombreux protocoles et méthodes analytiques sont mis en œuvre pour garantir la conformité réglementaire et sanitaire du produit.

2.2.1. Mise en suspension

- **Objectif** : Obtention d'une suspension, qui au repos forme un sédiment blanc en 3 min environ.
- **Principe** : Introduire le contenu d'un sachet dans 15 ml d'eau purifiée, agité pendant 30 secondes environ.

2.2.2. Test de pH

- **Principe** : Le contrôle de pH est réalisé simultanément avec le test de mise en suspension sur la solution précédente qui doit être agitée pendant 30 secondes environ. Une sonde du pH-mètre préalablement rincée est trempée dans la solution d'une manière verticale.

- Lecture du résultat au bout de 5 min sur l'écran du pH-mètre.



Figure 11: Représentation du test de mise en suspension et le contrôle de pH.

2.2.3. Teneur en eau

- **Objectif** : Déterminer le taux d'Humidité Relative présente dans la substance en question.

- **Principe** : Peser 100 mg à partir d'un sachet d'AUGMENTIN® 1g/125mg à l'aide d'une spatule, déposer la masse sur une coupelle de pesée préalablement nettoyée ; verser le contenu dans le titreur volumétrique **Karl Fischer**.

- Temps d'agitation : 90 secondes.

Le schéma ci-dessous illustre descriptif de cette méthode analytique appliquée :

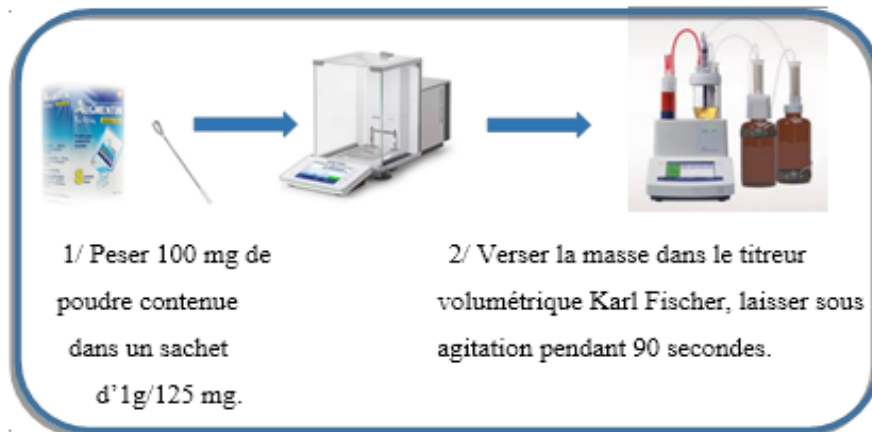


Schéma 2 : Schéma illustrant la méthode de Karl Fischer.

2.2.4. Uniformité de masse

- **Objectif** : Déterminer la masse moyenne calculée.
- **Principe** : Peser individuellement 20 sachets pleins. Puis vider ces derniers et les rincer à l'intérieur avec de l'eau déminéralisée et les sécher à l'étuve pendant une heure à 80°C.

Laisser les sachets reprendre la température ambiante pendant deux heures minimums.

- **Protocole** : Différents échantillons à différents temps de production sont prélevés :
 - 7 sachets début de la production
 - 6 sachets milieux
 - 7 sachets fins à partir du lot à contrôler.

Le calcul du poids moyen de chaque sachet se fait selon la formule suivante :

$$P_m = P_1 - P_2$$

Avec : **P₁** : poids de sachet rempli ; **P₂** : poids du sachet vide séché ;

Le calcul du poids moyen du lot se fait selon la formule suivante :

$$P_{ml} = \text{moyenne (1)} - \text{moyenne (2)}$$

Avec :

- Moyenne (1) : moyenne du poids des sachets remplis ;
- Moyenne (2) : moyenne du poids des sachets vide

2.2.5. Uniformité de teneur

2.2.5.1. Identification des principes actifs

Les identifications de l'Amoxicilline et de l'acide clavulanique ont été réalisées par HPLC en comparaison avec des substances chimiques de référence (SCR) lors du dosage des substances en question.

2.2.5.2. Préparation des standards de référence/Etalons

Mode Opératoire

La préparation des standards des principes actifs (*Amoxicilline trihydraté* et *Acide clavulanique*) s'est fait comme suit :

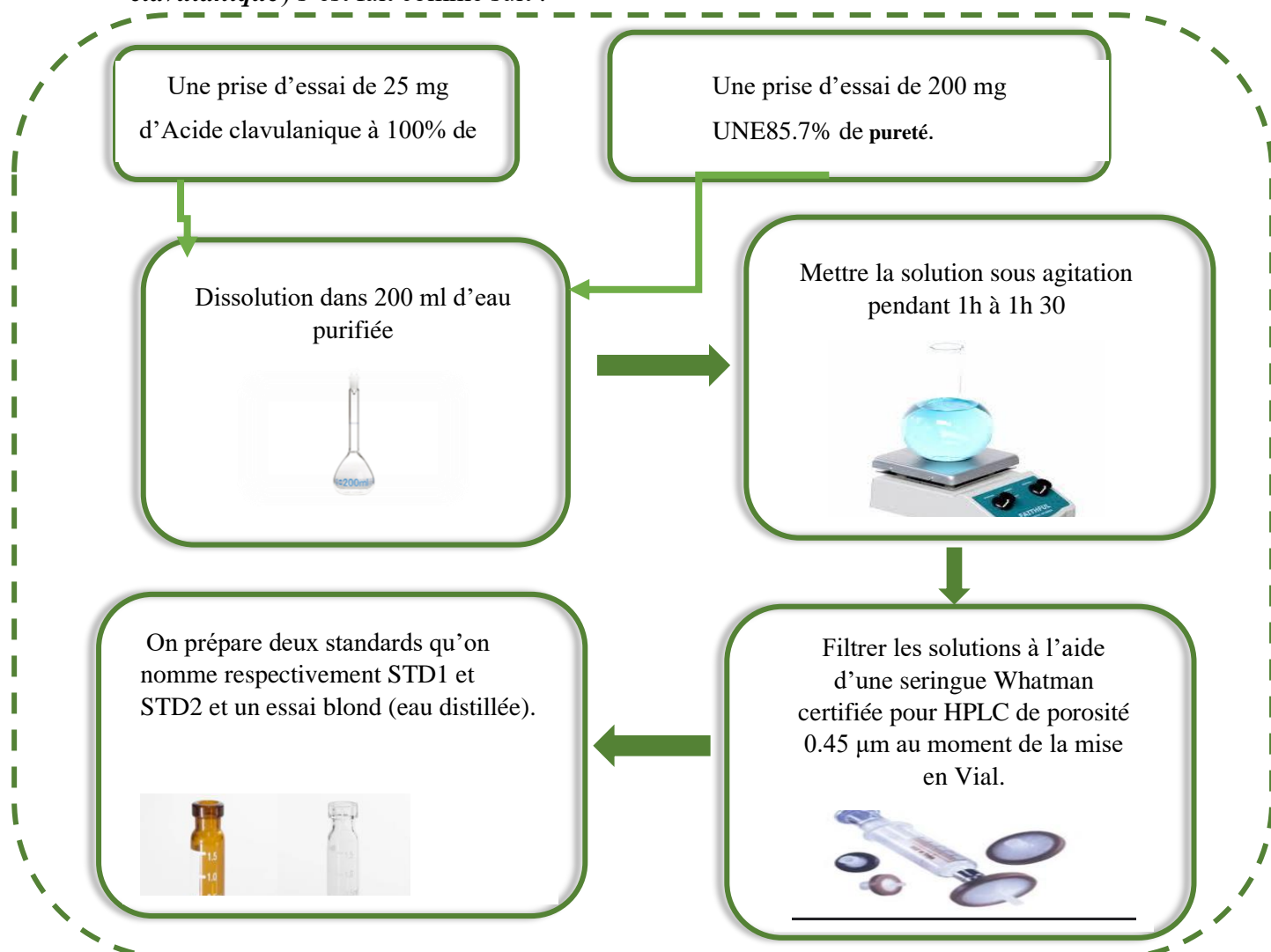


Schéma 3 : Schéma illustrant la préparation des standards de références.

- **Objectif :** Vérification de la teneur en Amoxicilline et en acide clavulanique.
- **Principe :** Le test d'uniformité de teneur est réalisé sur 10 unités de prise.
- **Mode Opérateur :** Un prélèvement de 10 sachets à différents moments de production, puis dissoudre chaque sachet d'AUGMENTIN® 1g dans 1000 ml d'eau purifiée et mettre sous agitation magnétique pendant 1h.

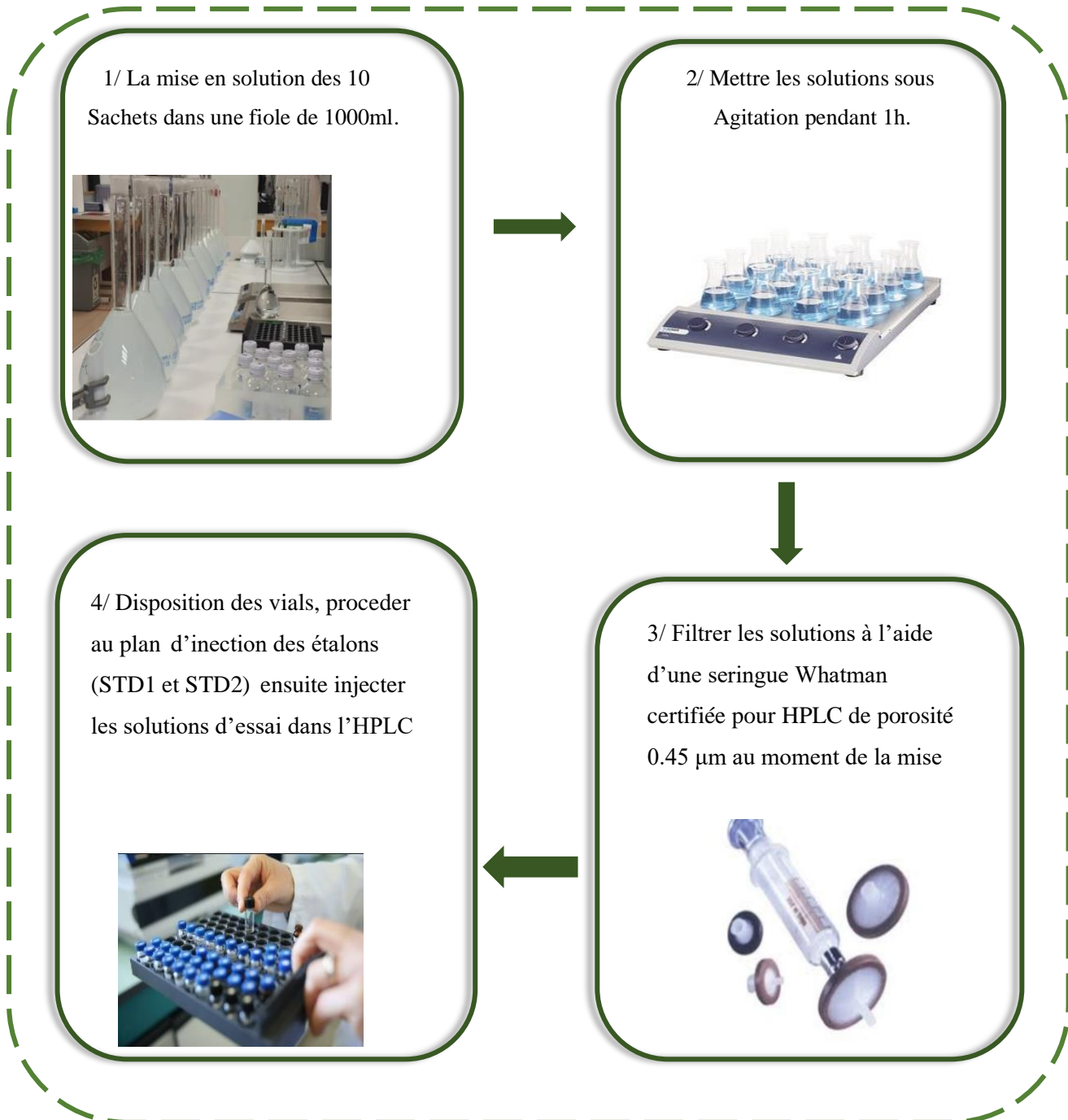


Schéma 4 : Schéma illustrant la préparation des solutions d'essai et leur dosage par HPLC.

2.2.5.3. Préparation d'une solution tampon pour phase mobile

Dans le cas de l'Amoxicilline trihydraté et de l'acide clavulanique, la phase mobile est un mélange de : tampon phosphate à pH 4, et le méthanol. L'élution est en mode gradient pour les échantillons, et en mode isocratique pour les standards (95% tampon phosphate et 5% méthanol).

Le tampon phosphate à pH 4 est préparé selon la procédure décrite par figure ci-dessous :

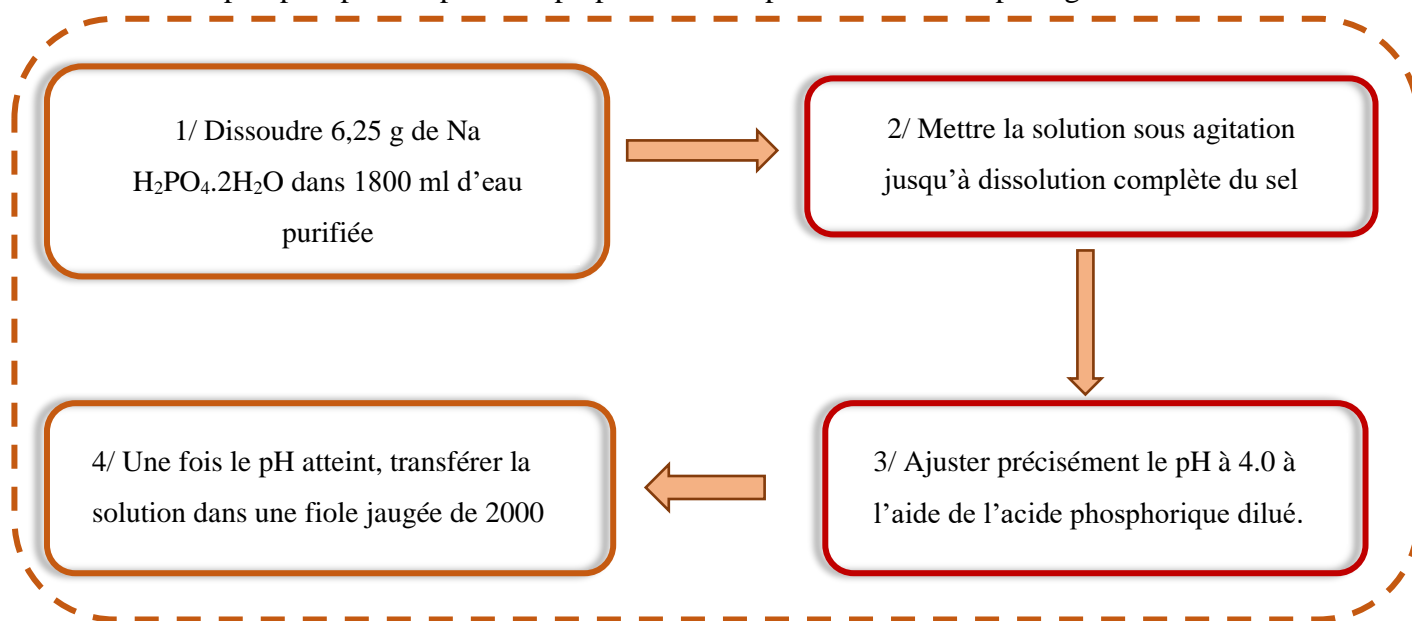


Schéma 5 : Schéma illustrant la préparation de la solution tampon ($\text{Na H}_2\text{PO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$) pour phase mobile.

2.2.6. Identification et dosage des excipients et conservateurs

2.2.6.1. Identification de l'Aspartam (E951)

- **Caractère** : Poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche légèrement hygroscopique, assez soluble ou peu soluble dans l'eau et dans l'éthanol à 96%, pratiquement insoluble dans le chlorure de méthylène et dans l'hexane.
- **Identification de l'aspartame par spectroscopie IR**
 - Examiner l'aspartam par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge (**IR**) en comparant le spectre obtenu avec l'**Aspartam SCR** ; examiner les substances sous forme de pastilles.
- **Identification de l'aspartame par UV-Visible**
 - La spectrophotométrie d'absorption dans l'UV visible. Dissoudre **0.1g** d'aspartam dans l'éthanol à 96 % et on complète à 100 ml avec le même solvant.

- On examine notre analyte entre $230 - 300 \text{ nm}$, la solution présente des maximums à environ 247 nm , 252 nm , 264 nm .
- **Perte à la dessiccation** : Déterminer à l'étuve à 105°C sur 1g d'aspartam la perte à la dessiccation est inférieure ou égale à $4,5\%$ selon la formule de calcul suivante :

$$\text{Perte à la dessiccation} = \frac{(\text{Prod} - \text{Résidu}) \times 100}{(\text{Prod} - \text{tare})}$$

- Tare = Tare du cristalliseur
- Prod = Tare + Produit
- Résidu = Tare + Résidu

2.2.6.2. Identification de l'Arôme Pêche – Fraise – Citron (maltodextrine et alcool benzylique) :

- **Caractère** : L'arôme pêche- fraise – citron est un arôme adsorbé sur maltodextrine résultant substances aromatiques naturelles qui sont les huiles essentielles :
 - D'orange
 - De bergamote orangée
 - De citron
- **Identification des substances aromatiques par CPG** :

Principe : Les arômes secs sont constitués de substances volatiles adsorbés sur une base inerte. La chromatographie en phase gazeuse est utilisée pour l'identification de ces substances. Cet essai fournit une empreinte de l'échantillon, qui par comparaison à un chromatogramme de référence permet une identification de l'arôme en question.

Préparation de la solution à analyser : La préparation de la solution à analyser se fait de la manière suivante comme la **Figure (6)** la représente :

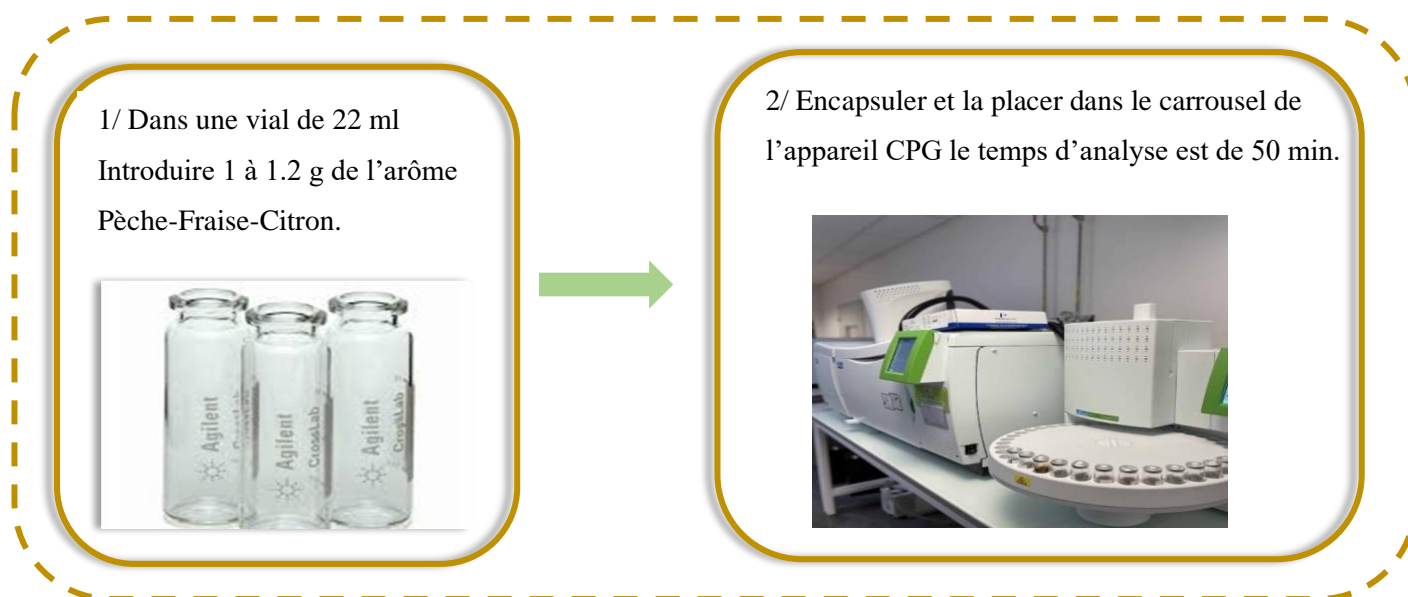


Schéma 6 : Schéma illustrant technique d'identification de l'arôme Pêche- Fraise-Citron par chromatographie en phase gazeuse.

2.2.6.3. Identification de Crospovidone

- **Caractère :** La crospovidone est présentée sous forme de poudre ou paillettes blanches ou blanc-jaune, hygroscopique ; pratiquement insolubles dans l'eau, dans l'éthanol 96° et dans le chlorure de méthylène. La crospovidone utilisée est :
 - De qualité granulométrique de type A.
 - Un homopolymère réticulé de la 1-éthényl-pyrrolidin-2-one.
 - De formule chimique : $(C_6H_9NO)_n$.
 - De masse molaire : **111,1 g/mol.**

1^{ère} Identification de crospovidone par spectroscopie Infra-rouge (Spectre IR)

- Le spectre Infra-rouge à obtenir doit être conforme à celui de la substance de référence.

2^{ème} Identification de crospovidone

- A 10 ml d'eau, ajouter en agitant 0,1g de crospovidone. Il se forme alors une suspension et on ne peut être obtenu une solution limpide qu'après 15 minutes de temps de repos.

3^{ème} Identification de la taille granulométrique de la crospovidone :

- Les tamis analytiques doivent être propres et secs. A cet effet, laver les tamis à l'eau chaude et laisser sécher jusqu'au lendemain dans une armoire de séchage à 105°C.
- Placer 20 g de crospovidone (substance desséchée) dans une fiole conique de 1000 ml.
- Ajouter 500 ml d'eau et agiter la suspension pendant 30 min.
- Verser la suspension à travers un tamis analytique de 63µm d'ouverture, préalablement taré et rincer le tamis jusqu'à ce que le filtrat soit limpide.
- Sécher le tamis et le résidu d'échantillon à 105°C pendant 5h environ dans une armoire de séchage, sans circulation d'air. Refroidir dans un dessiccateur pendant 30 min et peser.
- ❖ Remarque : Si le résidu du tamis est supérieur à 15%, la crospovidone est de type A. S'il est inférieur ou égale à 15% la crospovidone utilisée est de type B.

➤ Perte à la dessiccation :

Ce test est déterminé à l'étuve à 105°C sur une prise d'essai exactement pesée d'environ 0.500g de poudre de crospovidone.

- Le résultat de la perte à la dessiccation ne doit pas être supérieur à 5.0%.

Chapitre 4 :

Résultats et Discussions

1. Tests réalisés sur un lot de commercialisation N° Lot 6K3C

1.1. Mise en suspension

Après 24h, la solution reconstituée reste en suspension en formant une couleur blanchâtre et laisse déposer un léger sédiment blanc après repos.

1.2. Test de pH

Le test est réalisé sur la solution précédente. Les résultats obtenus sont illustrés par le tableau ci-dessous.

Tableau 4 : Résultat du test de pH.

	<u>Valeur du pH</u>
• Norme	<i>[4,0 – 6,0]</i>
• Résultat	<i>4,53</i>

Après lecture sur l'écran du pH-mètre, on obtient une valeur de pH égale à **4,53**, cette dernière est alors comprise dans la norme **[4,0 – 6,0]** ce qui répond aux exigences du laboratoire GSK et par ailleurs les normes de la pharmacopée européenne.

1.3. Teneur en eau

Détermination de la teneur en eau par potentiomètre selon la méthode de Karl Fischer sur deux prises d'essai d'environ 100 g.

Tableau 5 : Résultats du test de teneur en eau.

	<u>Essai 1</u>	<u>Essai 2</u>
• Masse pesée en (gramme)	<i>0,1025</i>	<i>0,1023</i>
• Teneur en eau exprimée en %	<i>10,12</i>	<i>10,04</i>
• Normes selon (pharma. EUR) en %	<i>[9,5 – 11,5]</i>	

La teneur en eau dans environ **100 g** d'AUGMENTIN® est de **10,12 %** pour le 1^{er} essai et de **10,04 %** pour le 2^{ème} essai ce qui fait une moyenne de **10.08** qui est comprise dans la norme **[9,5 – 11,5] %**.

1.4. Test d'uniformité de masse

Après pesage des 20 sachets d'AUGMENTIN® (**7 sachets Début, 6 sachets Milieu, 7sachets Fin de production**) ; pleins ensuite vides, nous avons obtenu les résultats qui sont tabulés ci-dessous.

Tableau 6 : Résultats du pesage des échantillons Lot N°6K3C.

N° Echantillon	Ech pleins (g)	Ech vides (g)	Contenu (g)
D1	2,4214	0,8724	1,5490
D2	2,4305	0,8740	1,5565
D3	2,3738	0,8656	1,5082
D4	2,3995	0,8628	1,5367
D5	2,3632	0,8553	1,5079
D6	2,3996	0,8472	1,5524
D7	2,4431	0,8836	1,5595
M1	2,5027	0,8771	1,6256
M2	2,4871	0,8725	1,6146
M3	2,4642	0,8655	1,5987
M4	2,4671	0,8619	1,6052
M5	2,4665	0,8881	1,5784
M6	2,4459	0,8902	1,5557
F1	2,4766	0,8821	1,5945
F2	2,4485	0,8899	1,5586
F3	2,4578	0,8538	1,6040
F4	2,4422	0,8570	1,5852
F5	2,4881	0,8734	1,6147
F6	2,4369	0,8718	1,5651
F7	2,4460	0,8785	1,5675

D : Début, **M** : Milieu, **F** : Fin, **Ech** : Echantillon.

Tableau 7 : Vérification de l'exactitude des données introduites.

Moyenne Ech pleins	2,44304
Moyenne Ech vides	0,87114

Tableau 8 : Vérification du poids moyen.

MM Théo (g)	1,60
MM Théo (g) +/- 5%	1,5153- 1,6748
MM (g)	1,5719
Résultat MM	MM CONFORME

MM : Masse Moyenne

Les résultats de la masse moyenne expérimentale du contenu de l'ensemble des échantillons (20 sachets) du lot commercial N° 6K3C tels qu'ils représentés dans le tableau (6).

La masse moyenne théorique est de 1,60 g. Cette valeur théorique doit être comprise entre [1,5153 – 1,6748] ±5% comme indiqué dans le tableau (8).

Selon les résultats du tableau (8) la masse moyenne du contenu de l'ensemble des échantillons pesés par la balance analytique est de 1,5719 g, cette valeur obtenue est incluse dans l'intervalle des deux normes exigées.

A savoir la tendance 1 [1,45 – 1,69] reflétant la norme spécifique au laboratoire de Contrôle Qualité GlaxoSmithKline, ainsi que la tendance 2 relevant de la pharmacopée européenne qui est de [1,34 – 1.81]. Comme indiqué dans tableau (9).

Tableau 9 : Vérification de l'uniformité de masse.

Normes selon GSK	Tendance 1	1,45	1,69
Normes selon Pharmacopée. EUR	Tendance 2	1,34	1,81

Cependant aucune de ces valeurs de masse ne s'est avérée hors spécification en comparaison avec la T1 et T2 ; ce qui nous renseigne sur le bon déroulement du processus de remplissage des sachets d'AUGMENTIN et qu'une répartition de la poudre a été démontré avec succès. Par conséquent la conformité du produit fini est approuvée ainsi que la validation du lot commercial.

1.5. Test d'uniformité de teneur

1.5.1. Identification des principes actifs

- **Identification de l'Amoxicilline /Acide clavulanique par HPLC**

Le test d'uniformité de teneur a été réalisé sur 10 unités de prise. Un prélèvement des sachets à différents moments de production a été effectué, chaque sachet d'AUGMENTIN® 1g est dissout dans 1000 ml d'eau purifiée et mis sous agitation magnétique pendant 1h. Par la suite, les solutions préparées ont été prédisposées dans des vials pour être analysés par HPLC.

➤ Appareillage :

- **HPLC de marque WATERS.**
- **Colonne de phase : C18 (Bondapack).**
- **Longueur : 15 cm.**
- **Ø interne : 3.9 mm**
- **Ø particules : 10 µm**
- **T° d'utilisation : Ambiante (≈ 20°C)**

➤ Conditions analytiques :

- **Débit : 1.5 ml/min**
- **Détection UV : 220 nm**
- **Volume d'injection : 10 µl**
- **Température échantillons : 5°C**
- **Température colonne : 20°C**
- **Temps d'analyse échantillon : 15 min**
- **Temps d'analyse standard : 07 min**
- **Phase mobile : la phase mobile doit être en mode **gradient d'élution** pour l'injection des solutions (échantillons) et en mode **isochratique** (1.5 ml/ min) pour les injections des solutions étalons.**

Comme le **tableau (10)** ci-dessous indique les conditions auxquelles est soumis l'appareil chromatographique :

Tableau 10 : Données déterminant le mode d'éluion durant le temps d'analyse.

Temps en min	Tampon phosphate 0,02 M à pH 4,0 (% V/V)	Méthanol (%V/V)	Débit (ml/min)
0	95	5	1,5
3,5	95	5	1,5
7	50	50	1,5
10	50	50	1,5
11	95	5	1,5
15	95	5	1,5

1.5.2. Validation du système suitability de l'analyse

La détermination de la teneur en amoxicilline et en acide clavulanique a été réalisée par analyse chromatographique HPLC, par comparaison à la substance de référence de titre connu. La détection en sortie de colonne s'est effectuée par spectrophotométrie dans l'UV à 220 nm.

D'après le chromatogramme HPLC du standard 2 (**figure 12**), on remarque que les temps de rétention de l'acide clavulanique et de l'amoxicilline sont respectivement de : 1,08 min \approx 2 min et 3,482 min \approx 4 min ceci étant en relation avec leurs structures et leurs degrés de polarité.

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	STD2-4	Acquired By:	RB737906
Sample Type:	Standard	Sample Set Name:	646G 6K3C agilent 05
Vial:	3	Acq. Method Set:	Aug Amox STD MS Agilent
Injection #:	1	Processing Method:	Aug sachet Agi
Injection Volume:	10.00 ul	Channel Name:	VWD.0.0
Run Time:	7.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	VWD: Signal A, 220 nm
Date Acquired:	06 June 2022 17:34:59 CET +01:00		
Date Processed:	07 June 2022 08:30:23 CET +01:00		

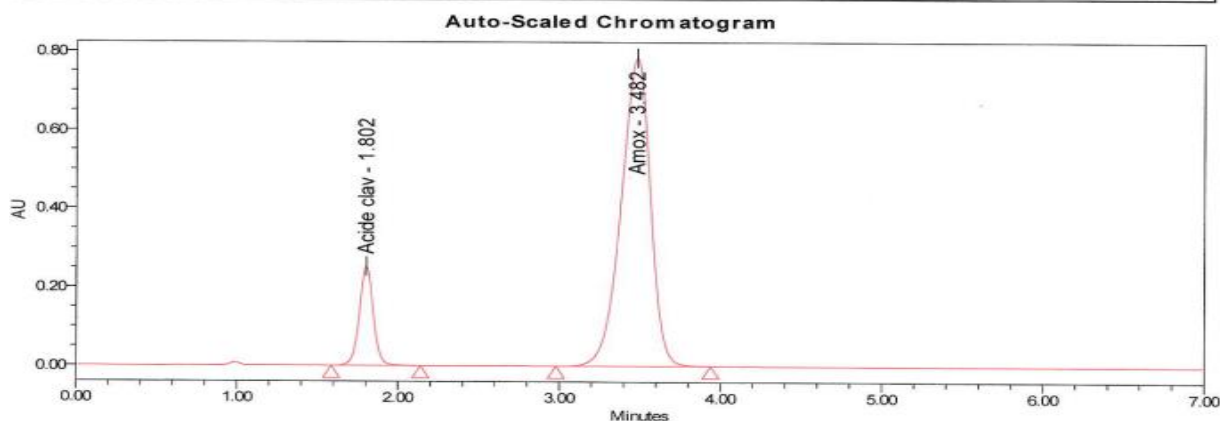


Figure 12: Chromatogramme des substances de référence (STD2_4) des principes actifs.

Les paramètres du chromatogramme obtenu à partir des solutions standard de référence sont présentés dans **tableau (11)** à savoir le temps de rétention des deux molécules l'amoxicilline, acide clavulanique et les caractéristiques des pics de ces dernières notamment la surface des pics, leur hauteur, le nombre de plateaux théorique ainsi que la résolution des pics.

Tableau 11 : Données des surfaces des pics du chromatogramme du STD1.

	PEAK NAME	Tr	Air	Hauteur	Nombre de plateaux	Resolution	Facteur de symétrie
1	ACIDE CLAV	1,802	1540524,02	252968	2155		1,0
2	AMOX	3,482	9911547,61	783732	1795	6.96	0,9

Les résultats du chromatogramme de l'échantillon **8** contenu dans la **Vial N°11 (figure 13)**, présente une similitude à celle du **standard 2_4** contenu dans la **Vial N°3 (figure 12)**. Les temps de rétention ainsi que les surfaces des pics des deux principes actifs à savoir l'acide clavulanique et de l'amoxicilline sont respectivement de 2min et 4min (**tableau 12**). Ces résultats nous confirment que l'échantillon **8** est conforme aux exigences revendiquées par le laboratoire contrôle qualité « **GSK** »

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Aug sch 1g 646G E8	Acquired By:	RB737906
Sample Type:	Standard	Sample Set Name:	646G 6K3C agilent 05
Vial:	11	Acq. Method Set:	Aug Amox ECH MS Agilent
Injection #:	1	Processing Method:	Aug sachet Agi
Injection Volume:	10.00 ul	Channel Name:	VWD.0.0
Run Time:	15.0 Minutes	Proc. Chnl. Descr.:	VWD: Signal A, 220 nm
Date Acquired:	06 June 2022 16:14:54 CET +01:00		
Date Processed:	07 June 2022 08:30:19 CET +01:00		

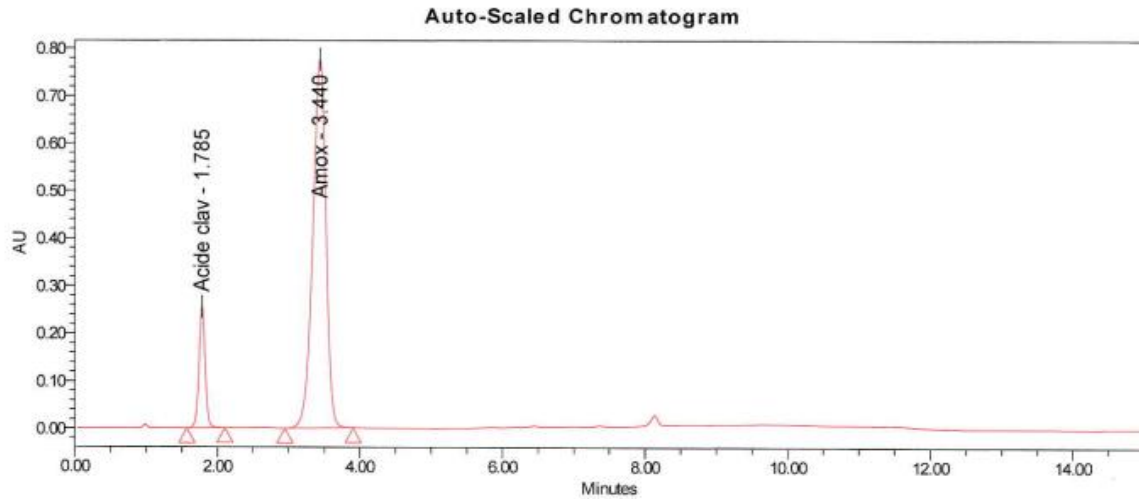


Figure 13: Chromatogramme de l’Ech (8) AUGMENTIN® Sch 1g lot N° 6K3C.

Tableau 12 : Données des surfaces des pics du chromatogramme de l’Ech (8) lot N°6K3C.

	PEAK NAME	RT	AREA	HEIGHT
1	ACIDE CLAV	1,785	1542737,4	252968
2	AMOX	3,44	9883332,73	783732

Les paramètres du chromatogramme obtenu à partir des solutions échantillons sont présentés dans **tableau (12)** qui sont identiques au chromatogramme obtenu précédemment pour les solutions standard de référence. L’acide clavulanique est libéré à 1,785 min et l’amoxicilline à 3.44 min.

Les teneurs unitaires en amoxicilline et en acide clavulanique sont données par les formules suivantes :

$$\text{Acide clavulanique} = \frac{A_{Ec}}{A_{Tc}} \times \frac{V_e}{V_t} \times \frac{T_c \times P_c}{100} = \text{Résultat } C_1$$

$$\text{Amoxicilline} = \frac{AEa}{ATa} \times \frac{Ve}{Vt} \times \frac{Ta \times Pa}{100} = \text{Résultat } A_1$$

Avec :

AEa : Surface du pic d'amoxicilline de la solution échantillon.

AEc : Surface du pic d'acide clavulanique de la solution échantillon.

ATa : Surface du pic d'amoxicilline de la solution témoin (solution standard de référence).

ATc : Surface du pic d'acide clavulanique de la solution témoin (solution standard de référence).

Ta : Titre du standard de référence en amoxicilline exprimé en %.

Tc : Titre du standard de référence en acide clavulanique exprimé en %.

Pa : Prise d'essai du standard de référence en amoxicilline.

Pc : Prise d'essai du standard de référence en acide clavulanique.

Ve : Volume de la solution échantillon.

Vt : Volume de la solution témoin.

Résultat C₁ : Teneur en acide clavulanique exprimée en mg/ sachet.

Résultat A₁ : Teneur en amoxicilline exprimée en mg/sachet.

Le **Tableau (13)** comprend une base de données du déroulement du processus d'analyse.

Tableau 13 : Tableau regroupant le traitement de données par logiciel des analyses par HPLC.

		Acide Clavulanique		Amoxicilline		
		Tr	Surfaces	Tr	Surfaces	
STANDARDS	Moyenne_6_STD1	1,79	1538826,53	Moyenne_6_STD1	3,47	9907728,89
	Ecarttype_6_STD1	0,01	2520,20	Ecarttype_6_STD1	0,04	15858,17
	RSD_6_STD1	0,50	0,16	RSD_6_STD1	1,03	0,16
	Moyenne_All_STD	1,79	1539241,34	Moyenne_All_STD	3,46	9909623,21
	Ecarttype_All_STD	0,01	2564,41	Ecarttype_All_STD	0,03	13675,69
	RSD_All_STD	0,44	0,17	RSD_All_STD	0,80	0,14
	Moy STD2		1539741,43		Moy STD2	
ECHANTILLONS	1	1,790	1484690,45	1	3,449	9759421,02
	2	1,786	1430118,45	2	3,444	9588773,64
	3	1,787	1494623,12	3	3,441	9455669,72
	4	1,790	1551337,23	4	3,449	9710370,08
	5	1,790	1582139,49	5	3,453	10099914,7
	6	1,795	1553748,32	6	3,474	9999048,17
	7	1,801	1507732,75	7	3,494	9667541,56
	8	1,785	1495157,74	8	3,461	9822439,97
	9	1,788	1523141,20	9	3,453	9958645,57
	10	1,785	1491789,26	10	3,435	9831716,33

Les résultats des réponses de facteurs de recouvrement **RFEt₁** et **RFEt₂** sont tabulés ci-dessous dans le **tableau (14)**, ces dernières sont calculées selon les formules suivantes :

$$RFEt_1 = \frac{Surface1 \times 100}{Prise\ d'\ essai1 \times Titre} \quad ; \quad RFEt_2 = \frac{Surface2 \times 100}{Prise\ d'\ essai2 \times Titre}$$

RFEt : réponse de facteur d'étalon.

$$\text{Taux de recouvrement} = \frac{RFEt_1 - RFEt_2}{RFEt_1} \times 100$$

Ce dernier ne doit pas dépasser **1,5**.

Tableau 14 : Les réponses des facteurs de recouvrement et le taux de recouvrement des pics des principes actifs.

	Acide clavulanique	Amoxicilline
RFEt₁	1,61456E - 05	2,01762E - 05
RFEt₂	1,61403E - 05	2,01619E - 05
TRF	0,0	0.1

Tableau (15) ci-dessous comportent les teneurs des deux principes actifs exprimées en mg/sch pour 10 unités de prise.

Tableau 15 : Teneurs en principes actifs exprimées en mg/sch.

	Pe éch (mg)	Clav (mg/sch)	Amox (mg/sch)
E1	1549 ,0	121,66	999,29
E2	1508,2	120,36	1008,37
E3	1507,9	125,81	994,57
E4	1559,5	126,27	987,57
E5	1614,6	124,38	992,13
E6	1605,2	122,86	987,98
E7	1555,7	123,02	985,62
E8	1558,6	121,76	999,54
E9	1585,2	121,96	996,40
E10	1565,1	120,98	996,33
Moyenne		122,91	994,78
Ecart type		2,00	6,85
RSD %		1,62	0,69

- Calcul de teneur en principes actifs pour un profuit fini, les résultats exprimés en **mg/sch** sont donnés par les formules suivantes :

$$C_2 = \frac{C_1 \times PM}{\text{Poids sch pleins} - \text{Poids sch vides}} ; A_2 = \frac{A_1 \times PM}{\text{Poids sch pleins} - \text{Poids sch vides}}$$

PM : Poids moyen des sachets.

C₁ : Teneur en acide clavulanique exprimée en % calculée en haut.

A₁ : Teneur en amoxicilline exprimée en % calculée en haut.

- **Système suitability** : Un système de suitability est dit validé si les paramètres suivants sont vérifiés conformes :
 - ✓ Les RSD doivent être inférieure ou égale à **0,85%** selon les tendances du laboratoire GSK,
 - ✓ Inférieure ou égale à **2%** selon les normes de la pharmacopée Eup.
 - ✓ Le facteur de symétrie relatif aux pics obtenus d'acide clavulanique et d'amoxicilline qui sont respectivement **1,0** et **0,9** sont inclus dans l'intervalle [**0,8 – 1,5**].
 - ✓ Le nombre de plateaux pour les deux pics est supérieur ou égale à **2000 plateaux** conforme à la norme dictée par la pharmacopée Eup d'où la bonne séparation des constituants.
 - ✓ Les pics ont une résolution de **6,69** qui est nettement supérieure à **2**.
 - ✓ Tous les paramètres sont a priori vérifiés ce qui nous renseigne sur la validation et la conformité du système suitability. La méthodologie standard de vérification est un outil de collecte de données sur le processus de mesure pour exposer les erreurs qui peuvent éventuellement affecter l'analyse au fil du temps. L'étalon de contrôle doit être considéré comme une base de données de mesure.

1.6. Identification des conservateurs et dosage des excipients

1.6.1. Identification de l'Aspartam

- **Caractère** : Aspect et caractère conforme à la description sur la procédure (poudre blanc-jaune, hygroscopique) et peu soluble dans l'eau et dans l'éthanol à 96%, pratiquement insoluble dans le chlorure de méthylène et dans l'hexane.

➤ **Identification de l'Aspartam par spectrophotométrie infrarouge**

1^{ère} Identification : L'introduction de l'aspartame sous forme de pastille dans un spectromètre infrarouge, donne le spectre suivant :

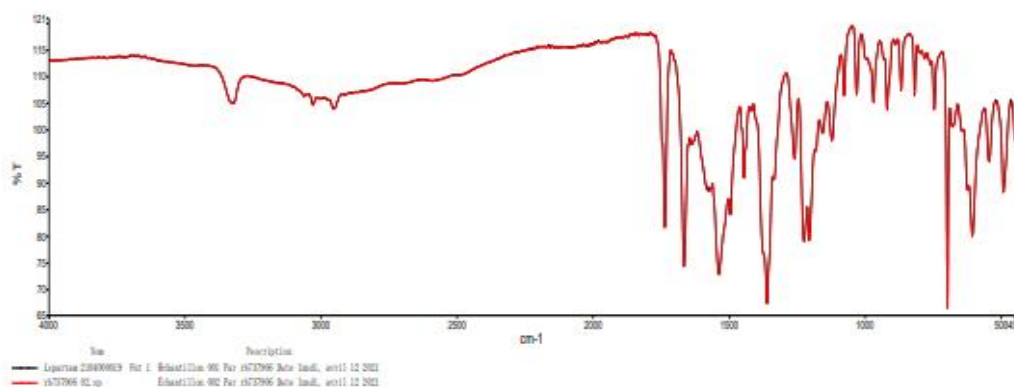


Figure 14: Spectre Infrarouge d'un échantillon d'aspartame.

Le spectre obtenu **Figure 14** pour l'aspartame est semblable au spectre de référence, les deux spectres présentent les mêmes bandes caractéristiques comme l'indique le **tableau (16)**

Tableau 16 : Interprétation spectrales de l'aspartame.

Liaison	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Intensité de la bande	Groupement fonctionnel
N-H	3300 -3500	M (2 bandes)	Amine primaire
N-H	3300 – 3500	M (1 bande)	Amine secondaire
N-H	3100 – 3500	Moy .large	Amide
C _{tet} -H	2850 – 3000 et 1430 – 1480	Forte et intense	Alcane
O-H	2500 – 3200	F à moy large	Acide carboxylique
C _{tri} =O	1700 – 1725	Forte et intense	Acide carboxylique
C _{tri} =O	1735 – 1750	Forte et intense	Ester
C _{tri} =O	1630 – 1700	Forte et intense	Amide

2^{ème} Identification : D'après le résultat de cet essai, il apparaît une coloration rouge-brun comme mentionner dans la procédure d'analyse. Ces résultats sont conformes à ceux décrits dans la procédure, on déduit alors que ce résultat est conforme.

Les résultats de la perte à la dessiccation sont comme suivis :

- **Perte à la dessiccation :** Déterminer à l'étuve à 105°C sur 1g d'Aspartam la perte à la dessiccation est inférieure ou égale à 4,5%.

La perte à la dessiccation a été calculée selon la formule préalablement donnée dans le chapitre 3.

- Tare = Tare du cristalliseur

- Prod = Tare + Produit

- Résidu = Tare + Résidu

Tare = 0.006 g

Prod = 1.009 g

résidu = 0.9906 g

$$\text{Perte à la dessiccation} = \frac{(1.009 - 0.9906) \times 100}{(1.009 - 0.006)}$$

$$\text{Perte à la dessiccation} = 1.89\%$$

1.6.2. Identification de l'Arôme Pêche- Fraise-Citron (maltodextrine)

- **Caractère :**

L'examen visuel de l'arôme montre un aspect semblable aux caractéristiques décrites dans la procédure et dépourvue de toute contamination visible.

- **Identification des substances aromatiques (l'Arôme P-F-C) par CPG :**

Le chromatogramme obtenu en utilisant la méthode HEADSPACE injections avec un détecteur à flamme ionisée.

- **Conditions analytiques :**

Les conditions opératoires sont tabulées ci-dessous en **tableau (17)**

Tableau 17 : Conditions opératoire d'analyse chromatographique par CPG en mode HEADSPACE injection.

Colonne	Type	Capillaire
	Phase stationnaire	Poly-éthylène glycol (ex: SGE, ID BP 20 0,025)
	Longueur	50 m
	Diamètre interne	0,22 µm
Gaz Vecteur	Nature	Azote U
	Pression	32 PSI
Injecteur	Mode	HEADSPACE
	Temperature	220°C
HEADSPACE	Temperature	140°C
Four CPG	Temperature initiale	40°C pendant 10 min
	Programmation	De 40°C à 150°C à raison de 4°C/min
		De 150°C à 220°C à raison de 10°C/min
		220°C pendant 03 min
Détecteur	Nature	Détecteur à flamme Ionisée
	Temperature	270°C
Paramètres HEADSPACE	Temperature du four	140°C
	Temperature d'aiguille	145°C
	Temperature de transfert	150°C
	Durée de cycle GC	60 min
	Durée thermos	40 min
	Durée de presssure	1,0 min
	Durée d'injection	0,05 min
	Durée du retrait	0,2 min
	Aération flacon	ON
	Mode HEADSPACE	Constant
	Dernier flacon	exemple 6 ou 11

• **Résultat du chromatogramme :**

Le chromatogramme obtenu de l'analyse de l'échantillon d'arôme est présenté en **figure (15)**, qui forme des pics similaires au chromatogramme de la solution standard de référence ; ce qui nous renseigne sur la conformité de l'arôme analysée.

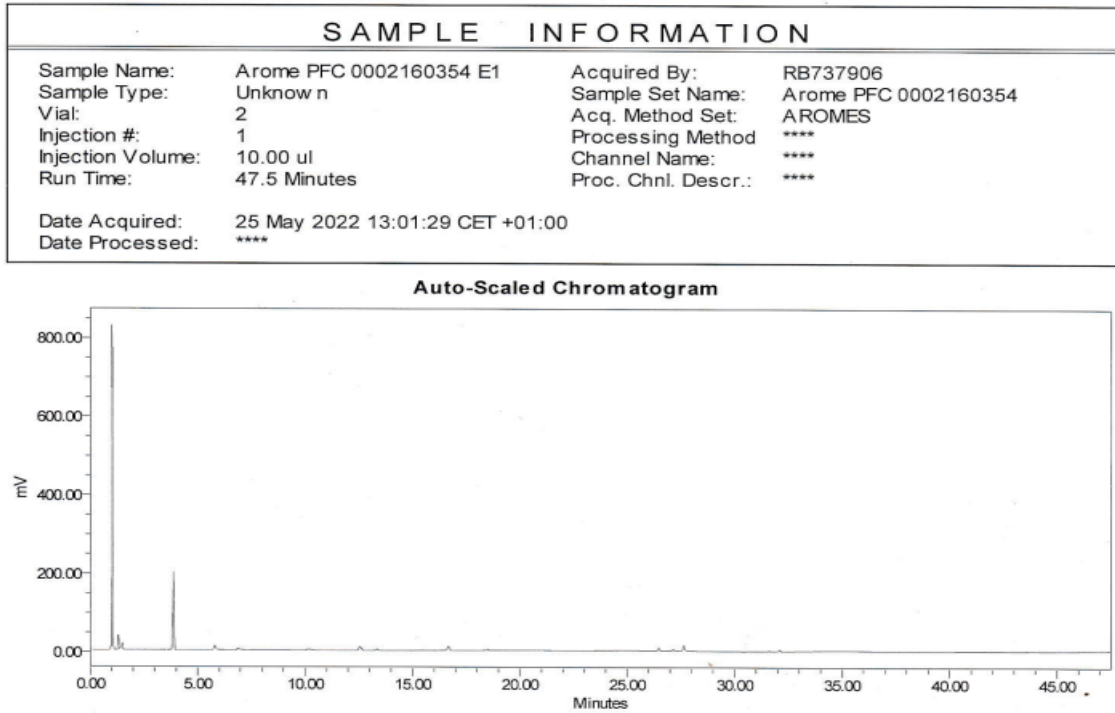


Figure 15: Chromatogramme obtenu par CPG de l'arôme Pêche- Fraise- Citron.

Les paramètres de l'analyse chromatographie sont tabulés ci-dessous en **tableau (18)** entre autre le volume d'injection et le temps d'analyse.

Tableau 18 : Données du chromatogramme d'échantillon d'arôme P-F-C obtenu par CPG.

	Vial	Inj Vol (uL)	# of Injs	Label	SampleName	Level	Sample Matrix	Function	Method Set / Report or Export Method	Label Reference	Processing	Run Time (Minutes)
1	1	10.0	1		Blanc			Inject Samples	AROMES		Normal	47.50
2	2	10.0	1		Arome PFC 0002160354 E1			Inject Samples	AROMES		Normal	47.50

	Data Start (Minutes)	Next Inj. Delay (Minutes)	Bath	Vessel	Transfer Time	RI Sensitivity	Solvent	Column Position	Auto Additions	SampleWeight	Dilution
1	0.00	0.00								1.0000	1.0000
2	0.00	0.00								1.0000	1.0000

1.6.3. Identification de la crosprovidone

- **Caractère :** L'aspect de la poudre est conforme au caractère décrit sur la procédure (poudre de couleur blanc-jaune), hygroscopique et insoluble dans l'eau, l'éthanol à 96° et le chlorure de méthylène.
- **1^{ère} Identification par spectroscopie d'absorption Infra-rouge :**

On introduit la solution contenant la poudre de crosprovidone dissoute dans l'appareil nous révèle le spectre suivant **Figure (16)**

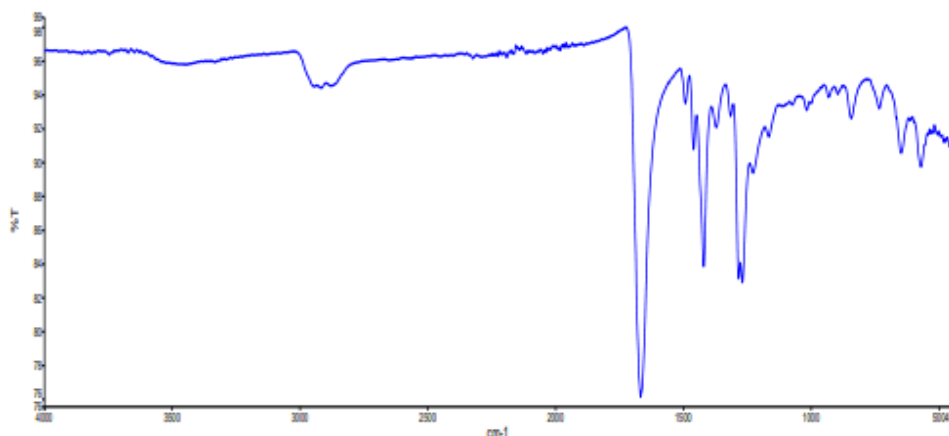


Figure 16 : Spectre correspondant à la molécule de crosprovidone à partir d'un échantillon analysé.

Le spectre obtenu correspondant à la molécule de crosprovidone est semblable au spectre de référence, ces derniers représentent des bandes caractéristiques similaires comme indiqué dans le **tableau (19)**.

Tableau 19 : Interprétation spectrales de la crosprovidone.

Liaison	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Intensité de la bande	Groupe fonctionnel
C=O	1650 – 1730	Forte et intense	Cétone
C – N	1400 – 1500	Moyennement forte	Amine tertiaire
C – H	2850 – 2950	Bande moy large faiblement intense	Méthylène
C – C	1200 – 1250	Moy Intense	Chaîne carbonée de pyrrolidine

➤ **2^{ème} Identification**

- Après l'ajout de 0.1g de Crospovidone dans 10 ml d'eau. Il résulte la formation d'une suspension et on n'obtient pas de solution limpide en 15minutes.
- Ces résultats sont identiques à ceux décrits dans la procédure, on déduit alors que ce résultat est conforme.

➤ **3^{ème} Identification de la taille granulométrique de la poudre de crospovidone :**

- Le calcul du résidu de tamisage (fraction des particules d'échantillon de diamètre supérieur à 63µm) en pourcentage % :

$$M\% \text{ résidu} = \frac{(m_1 - m_3)}{m_2} \times 100$$

M_1 : masse du tamis et du résidu d'échantillon après séchage de 15hen (g).

M_2 : masse initiale de l'échantillon en (g).

M_3 : masse du tamis en (g).

$$M_1 = 781.67 \text{ g}$$

$$M_2 = 19.8 \text{ g}$$

$$M_3 = 780 \text{ g}$$

$$M\% \text{ résidu} = \frac{(781.67 - 780)}{19.8} \times 100$$

$$M\% \text{ résidu} = 8.43 \%$$

- Le résidu du tamisage est inférieur à 15% cela nous détermine que la poudre utilisée est de type B

Cependant la taille du granulé est conforme à la norme exigée.

➤ **Perte à la dessiccation :**

Les résultats de ce test sont déterminés par le calcul préalablement cité en chapitre 3.

- Tare : Tare du creuset
- Prod : Tare + Produit
- Résidu : Tare + Résidu

Tare = 0.004g

Prod = 0.512g

Résidu = 0.498g

$$\text{Perte à la dessiccation} = \frac{(0.512 - 0.498)}{(0.512 - 0.004)} \times 100$$

$$\text{Perte à la dessiccation} = 2.75 \%$$

- Le résultat du test de perte à la dessiccation est inférieur à 5.0% comme mentionné sur la procédure d'analyse.
- On déduit que le résultat obtenu est conforme à la norme en vigueur.
- Tous les essais effectués sur la crospovidone ne présentent aucun résultat hors spécification cependant on peut conclure la bonne conformité de l'excipient en question.

Conclusion et

Perspective

Conclusion

Notre présent travail réalisé au sein du laboratoire de contrôle qualité de l'unité de production GlaxoSmithkline GSK, Boudouaou ; avait pour objectif la mise en évidence de la qualité du produit fini antibiotique AUGMENTIN® sachet 1g/125mg pour suspension buvable et cela tout au long du processus de fabrication.

Nous avons réalisé un contrôle qualité sur les mélanges de matières premières (principe actif et excipients) à chaque arrivage de lot de produit en vrac. Des essais physicochimiques effectués sur produit fini à savoir la mise en dissolution et mesure de pH, des tests d'uniformité de masse et des essais chimiques dans le but d'identification et dosage de principe actifs ainsi des essais d'uniformité de teneur.

Les résultats des différents essais ont montré la qualité requise du produit fini AUGMENTIN® sachet 1g/125mg conformément aux normes de la pharmacopée européenne 10^{ème} édition et spécifiquement aux normes exigées par le laboratoire GSK, en effet le lot N°6K3C a été validé dans les règles de l'art donc prêt à la libération.

Perspectives

Un médicament, vecteur de lutte contre la maladie est l'un des éléments qui peut faire exception dans toute une série de lois et règlements nationaux et internationaux. Jusqu'à ce jour les médicaments fabriqués en Algérie ont démontré leur qualité par le contrôle de l'agence nationale des produits pharmaceutiques ce qui atteste le sérieux de la jeune industrie. Cependant le marché mondial pourrait s'accroître davantage, cette croissance sera entraînée par les pays émergents comme l'Algérie et que la politique de santé de notre pays s'inspirera des marchés matures.

Glossaire

AMM : un acte administratif qui permet à un fabricant de commercialiser une spécialité pharmaceutique et un médecin de la prescrire.

Assurance qualité : un ensemble de mesures prises pour s'assurer que les préparations sont de qualité requise pour l'usage auquel elles sont destinées. Elle est obtenue par la mise en œuvre d'un ensemble approprié de dispositions préétablies et systématiques, destinées à donner confiance en l'obtention de la qualité requise.

BPF : constituent un des éléments de l'assurance de la qualité, elles garantissent que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon cohérente, selon les normes de qualités adaptées à leur emploi et requises par l'autorisation de la mise sur le marché.

BPL : constituent un système de garantie de la qualité du mode d'organisation et de fonctionnement des laboratoires (dénommés "installations d'essai") qui réalisent des essais de sécurité non cliniques sur les produits chimiques.

Contrôle en cours de fabrication : Contrôle effectué au cours de la fabrication d'un médicament en vue de surveiller et si nécessaire d'ajuster le processus afin de s'assurer que le produit est conforme à ses spécifications. Le contrôle de l'environnement ou du matériel peut également être considéré comme un élément du contrôle en cours de fabrication.

Dossier de lot : Élément essentiel en termes d'assurance de la qualité et de traçabilité de toute préparation. Le dossier de lot contient toutes les informations et documents relatifs aux matières premières mises en œuvre, à la préparation, à son étiquetage, à son contrôle, à sa libération, à sa conservation, à sa dispensation, aux anomalies et sa destruction éventuelle.

ISO : (Organisation internationale de normalisation) est une organisation internationale non gouvernementale, indépendante, dont les 167 membres sont les organismes nationaux de normalisation.

Libération : dossier clair d'acceptation ou de refus d'une matière première, d'un article de conditionnement ou d'un produit fini, par le pharmacien auquel il a donné délégation.

Lot : quantité définie d'une matière première, d'un article de conditionnement ou d'un produit fini en une opération ou en une série d'opérations, telle qu'elle puisse être considérée comme homogène.

Pharmacopée : ensemble des textes réglementaires destiné aux professionnels de santé qui définit : les critères de pureté des matières premières ou des préparations entrant dans la fabrication des médicaments (à usage humain et vétérinaire), ainsi les méthodes d'analyses à utiliser pour en assurer leur contrôle.

Produit intermédiaire : Produit partiellement manufacturé qui doit encore subir d'autres Etapes de fabrication avant de devenir un produit vrac.

Spécification : Document énonçant des exigences auxquelles doivent répondre les produits utilisés ou obtenus au cours de la préparation tout en indiquant les moyens et les critères suivant lesquels la conformité peut être vérifiée.

Système qualité : Ensemble de l'organisation, des procédures, des processus, et des moyens nécessaires pour mettre en œuvre la gestion de la qualité.

Traçabilité : Aptitude à retrouver l'historique, l'utilisation ou l'état d'avancement d'un produit ou d'un processus au moyen d'informations et d'identifications enregistrées et documentées et archivées.

Validation : Confirmation par examen et apport de preuve tangibles que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, produit, activité ou système permet réellement d'atteindre les résultats escomptés.

Abstract

The pharmaceutical industry wishes to constantly reinforce its requirements in terms of quality management system, according to the ICH Q10 directive which is based on a purely scientific and technical approach including risk management and this in all activities from upstream to downstream of the production chain and whose operation is based on technologies which tend to optimize the management of drug flows.

The present work concerns the demonstration of the quality of an antibiotic AUGMENTIN® sachet 1g essential drug which is produced within the pharmaceutical industry GlaxoSmithKline, Boudouaou.

The objective of this study is to monitor the physico-chemical quality control of the finished product AUGMENTIN® sachet 1g with the ultimate aim of establishing the conformity of all its intrinsic substances, namely the raw materials (active ingredients and excipients) upstream of the production. of a batch; as well as the control of the finished product

The control is done by the application of various tests, among others the visualization of the character of the raw materials used, physico-chemical tests are implemented such as chemical tests are implemented such as dissolution, pH measurement, as well as tests required for this pharmaceutical form such as mass uniformity, Uniformity of content based on HPLC assay to identify and quantify the proportions of active ingredients (Amoxicillin and Clavulanic Acid) and gas chromatography assay for an excipient of the drug which is aromatic in nature and also by infrared absorption spectroscopy for the two excipients crospovidone and aspartame

With reference to the European Pharmacopoeia and GlaxoSmithKline's internal monograph, the results of the analyses performed demonstrate the required quality resulting from systematic error-free handling and validation of the manufacturing processes, including computerized validation of the suitability in accordance with GSK's laboratory trends and specifications of the finished product AUGMENTIN 1g sachet and batch no. 6K3C ready for release.

Keywords: AUGMENTIN 1g sachet, physicochemical quality control, Pharmacopoeia.

Résumé

L'industrie pharmaceutique souhaite constamment de renforcer ces exigences en termes de système de management de la qualité, selon la ligne directrice l'ICH Q10 qui est basée sur une approche purement scientifique et technique incluant la gestion du risque et cela à toutes les activités de l'amont vers l'aval de la chaîne de production et dont le fonctionnement repose sur des technologies qui tendent à optimiser la gestion de flux du médicament.

Ce présent travail s'intéresse à la mise en évidence de la qualité d'un antibiotique AUGMENTIN[®] sachet 1g médicament dit essentiel qui est produit au sein de l'industrie pharmaceutique GlaxoSmithKline, Boudouaou.

L'objectif de cette étude est le suivi du contrôle qualité physicochimique du produit fini AUGMENTIN[®] sachet 1g dans le but ultime d'établir la conformité de toutes ses substances intrinsèques à savoir les matières premières (principes actifs et excipients) en amont de la production d'un lot ; ainsi que le contrôle du produit fini.

Le contrôle a été fait en appliquant différents essais entre autre la visualisation du caractère des matières premières utilisées, des essais chimiques sont mis en œuvre comme la mise en dissolution, la mesure de pH , ainsi que des essais exigés pour cette forme pharmaceutique comme l'uniformité de masse, l'uniformité de teneur qui repose sur un dosage par HPLC afin d'identifier et de quantifier les proportions des principes actifs (Amoxicilline et Acide clavulanique) et un dosage par chromatographie en phase gazeuse pour un excipients du médicament qui de nature aromatique et aussi par spectroscopie d'absorption Infrarouge pour les deux excipients crospovidone et aspartame.

En se référant à la pharmacopée européenne et à la monographie interne de la société GlaxoSmithKline, les résultats des essais réalisés démontrent la qualité requise émanant d'une manipulation exempte d'erreur systématique et une validation des procédés de fabrication notamment une validation informatisée du système de suitabilité conformément aux tendances et spécifications du laboratoire GSK produit fini AUGMENTIN sachet 1g et que le lot N° 6K3C prêt à la libération.

Mots clés : AUGMENTIN sachet 1g, contrôle qualité physicochimique, pharmacopée.