

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de DJILALI BOUNAAMA DE KHEMIS MILIANA



Faculté des Sciences et de la Technologie
Département de Technologie

Mémoire du Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention de diplôme

Master

En

«Génie Des Procédés»

Spécialité:

«Génie Pharmaceutique»

Titre :

**Contrôle analytique de deux médicaments amoxicilline et
ibuprofène du marché tchadien: identification et
quantification des impuretés**

Réalisé par :

Moustapha Amine Adam

Thècle AHOUCHE

Encadreur : M^r Larbi Bouamrane O.

Année Universitaire 2015/2016

Dédicaces

Dédicaces

A mes parents **AHOUANDJINOU Félicien** et **SALANON Solange** qui n'ont au plus grand jamais lésiné sur les sacrifices nécessaires à la poursuite de mes études en Master. Cette dédicace étant insuffisante pour exprimer toute ma gratitude, je prierai donc le Tout Puissant de m'aider à vous honorer dans chacune de mes actions, tous les jours de mon existence.

À mon frère Cyr qui même dans sa grande timidité, a été d'un réconfort moral absolu dans mes moments de doute.

A ma soeur Lys, exemple de courage et de persévérance face aux épreuves de la vie.
Aies un témoignage de mon plus grand respect.

A ma sœur Doris, dont je tiens beaucoup. J'ai souvenir encore de quelques moments de folie de mes vacances 2013. Merci

A mes sœurs

Candide AWASSI, Bella GOUSSI, Sophia ALIOU et Hakima DAOUDI, ma sœur algérienne, modèles d'ouverture d'esprit, de générosité, de bienveillance, d'amitié éternelle.

A Mr HOUNKPE Zéphérin, en qui j'ai découvert le dévouement d'un père.

A Dah SODJO Abel et Mr LANPKODJIVI, qui n'ont point hésité à m'aider spontanément.

Aux couples AGOSSA Célestin et DAHOU, vous m'avez montré le vrai sens de l'amour du prochain.

A toute ma promotion 2011 des boursiers béninois en ALGERIE. Cette aventure collective faite de larmes mais surtout de joies a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Je vous en remercie.

A tous les étudiants étrangers de Khémis, en particulier les «taspé» de Souffay à qui je souhaite également beaucoup de succès dans leurs vies.

À ma grande famille, à tous mes amis non oubliés que je n'ai pu citer.

Thèle AHOUANDJINOU

Dédicaces

Dédicaces

Ces cinq années d'études ont été l'occasion de nombreuses rencontres et collaborations, si heureux de commencer ce manuscrit par des remerciements envers toutes les personnes ayant collaboré de près ou de loin à réaliser ce modeste travail.

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu pour la force et la patience qu'il m'a données pour surmonter toutes les épreuves (bonheurs et malheurs) vécues au cours de réalisation ce mémoire.

J'accorde une pensée particulière pour ma mère AZIZA et mon père AMINE qui par leurs sacrifices, leurs amours et leurs encouragements ont été à l'origine de ma réussite aujourd'hui. Vous m'avez toujours soutenu dans tous mes objectifs, merci maman, merci papa, tout ce que je suis est grâce à tout l'amour et le soutien que vous m'avez donnés; Que Dieu vous accorde une longue vie.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à mon promoteur Mr Larbi Bouamrane Omar, pour avoir accepté de me guider vers le monde de la recherche scientifique.

Je profite de cet instant pour remercier les différents responsables de m'avoir ouvert leurs portes pour réaliser ce travail particulièrement Pr. Manssouri et Mr Rachid Zaouani.

Je tiens aussi à remercier ma binôme Mlle Thècle AHOUANDJINOU pour les bons moments passés ensembles durant la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier toute la famille MINAWI particulièrement mes oncles Djamal et Bichara pour leurs soutiens tout au long de mon parcours.

Je tiens à remercier tous mes frères, sœurs, Tantes cousins, amis(es): Ali Hamit, Zenab, Mahamat.

Je tiens à remercier tous mes amis et compatriotes de khemis miliana: Malik, Abdramane, Bakhit, Hamit, Souleyment, Mahamat Ali.

Je tiens à remercier particulièrement mes amis Gbadessi Prosper, Daoudi Hakim, Chemesdine pour le moment inoubliable passé ensemble.

Je tiens à remercier tous mes amis de la 2ème année génie pharmaceutique.

Moustapha Amine

Remerciements

Remerciements

Nous tenons en premier à remercier «ALLAH» le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience, la faculté pour pouvoir poursuivre nos études, réaliser ce modeste travail et choisir un métier aussi noble.

Nous exprimons nos profonds remerciements à notre promoteur Mr Larbi Bouamrane Omar pour nous avoir encadrés tout au long du projet, pour ses précieux conseils, la confiance qu'il nous a témoignée et ses encouragements.

Nous remercions aussi notre encadreur industriel Mr Tayeb Cherif, qui nous a fourni les outils nécessaires à la réalisation de ce travail. Merci de tout coeur.

Nous exprimons également notre gratitude aux membres du jury, qui nous ont honorés en acceptant de juger ce modeste travail.

Un grand merci également à tout le personnel des laboratoires de contrôle de qualité d'Antibiotical Médéa, qui a été d'une aide spontanée et efficace durant toute la durée de notre stage, particulièrement: M^r Fouad, M^r Boukhatem, M^{me} Farida Bakhti, M^{me} Karima, Mr Mahfoud, M^r Tahar Fodil, Mohammed, M^{me} Soumia.

Nos remerciements vont enfin à toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Moustapha et Thècle

Sommaire

Sommaire

Résumés

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Liste des nomenclatures

Introduction générale.....11

Chapitre 1 : Notions essentielles sur le médicament et le contrôle qualité

Introduction 13

1.1. Médicament..... 13

1.3. Médicaments essentiels..... 16

1.4. Contrefaçon de Médicaments..... 17

1.5. Contrôle de qualité 19

1.6. Pharmacovigilance 23

Conclusion..... 25

Chapitre 2: Les impuretés dans les produits pharmaceutiques et leurs dangers

Introduction 26

2.1. Définition..... 26

2.2. Sources des impuretés dans les substances et les produits médicamenteux
..... 27

2.3. Classifications des impuretés 28

2.4. Méthodes de détection des impuretés 32

Sommaire

| | |
|--|----|
| 2.5. Incidences de la toxicité des impuretés | 35 |
| Conclusion | 36 |

Chapitre 3: Matériel et méthodes expérimentales

| | |
|--|----|
| Introduction | 38 |
| 3.1. Cadre d'étude | 38 |
| 3.2. Matériel..... | 38 |
| 3.3. Méthodes physico-chimiques..... | 44 |
| 3.4. Identification et quantification des Impuretés..... | 58 |
| 3.5. Méthodes microbiologiques | 60 |
| Conclusion..... | 61 |

Chapitre 4 : Résultats et discussions

| | |
|---|----|
| 4.1. Contrôles analytiques | 62 |
| 4.2. Identification et quantification des impuretés | 75 |

| | |
|--------------------------|----|
| Conclusion générale..... | 85 |
|--------------------------|----|

Références bibliographiques

Annexes

ملخص

يهدف عملنا لتحديد وقياس الشوائب لأربعة منتجات صيدلانية من بينهم اثنين من المضادات الحيوية (باكتوكس و أمولان) واثنين من الأدوية المضادة للالتهابات (بروفن و ايبوبروفين التي أخذت من السوق التشادي).

وكشفت التحاليل الكيميائية الفيزيائية الصيدلانية أن باكتوكس ، بروفن و الإيبوبروفين لا يتطابقون مع المعايير الصيدلانية

خلاف ذلك ، نلاحظ أن محتوى المادة الفعالة كبسولة باكتوكس وأقراص ايبوبروفين كانت على التوالي 84 % و 92.55 % . هذه القيم أقل من الحدود المذكورة في USP Pharmacopeia (92 في 5 % و 95 %) . وكذلك ، بالنسبة لكبسولات البروفن وجدنا أن سرعة الذوبان منخفضة جدا (12 %) مما هو مطلوب (80 %).

وكشف الفحص بواسطة HPLC للباكتوكس و للبروفن أنه يوجد عدد من الشوائب كالأليغومرات من أموكسيسيلين ، و حامض

البنيسيلين ، بنسيليني حمض 6 - الأمينية و ن بنيسيلين 6 ايل بكميات المولية على التوالي (0.18%), (0.18%), (0.13%), (2%)

أموكسيسيلين، ايبوبروفين، الشوائب، جودة، تحليل

Résumé

Notre travail a pour objectif d'identifier et de quantifier les impuretés de quatre produits pharmaceutiques dont deux antibiotiques (BACTOX et AMOLIN) et deux anti-inflammatoires (BRUFEN et IBUPROFEN) prélevés sur le marché tchadien.

Les tests physicochimiques et pharmacotechniques ont révélés la non-conformité de BACTOX, BRUFEN et IBUPROFEN.

On note une teneur en PA pour les gélules de BACTOX (84%), et les comprimés IBUPROFEN (92.55%) en dessous de la limite inférieure exigée par les pharmacopées (92,5% et 95%). Les comprimés BRUFEN présentent un taux de dissolution (12%) très en dessous de la limite inférieure exigée (80%).

Le dosage par HPLC de BACTOX et AMOLIN a révélé la présence des impuretés telles que co-oligomères d'amoxicilline, l'acide pénicillinique d'amoxicilline, 6-amino acide pénicillinique et N-penicillan-6-yl aux temps de rétention et de teneur respectivement équivalent à (0.68min, 0.18%), (0.78min, 0.18%), (0.87min, 0.13%), (4.5min, 0.2%).

Mots clés: Amoxicilline, Ibuprofène, Impureté, Qualité, Analyse

Abstract

Our work aims to identify and quantify the impurities of four medicinal products including two antibiotics (BACTOX and AMOLIN) and two anti-inflammatory drugs (BRUFEN and IBUPROFEN) taken on the Chadian market.

The physico-chemical and pharmacotechnic tests revealed that BACTOX, BRUFEN and IBUPROFEN are improper drugs.

we notice also that the content of the active ingredient of BACTOX capsule and IBUPROFEN tablets were respectively 84% and 92.55%. These values are below of the limits mentioned in USPharmacopeia (92,5% and 95%). Furthermore, the BRUFEN Tables present a very low dissolution rate (12%) than required (80%).

The assay of BACTOX and AMOLIN by HPLC revealed the presence of the impurities such as Co-oligomers of amoxicilline, the acid penicillinic of amoxicilline, 6-amino acid penicillanic and N-penicillan-6-yl where there retention time and there content are respectively (0.68min, 0.18%), (0.78min, 0.18%), (0.87min, 0.13%), (4.5min, 0.2%)

Key words: Amoxicilline, Ibuprofène, Impurity, Quality, Analyze

Résumés

Liste des tableaux

| | |
|--|-----------|
| Tableau 2.1. Seuils pour les différents types d'impuretés pour PA..... | 29 |
| Tableau 2.2. Concentrations admissibles des impuretés élémentaires..... | 35 |
| Tableau 3.1. Les différents types des appareils, équipements, et verreries utilisés..... | 38 |
| Tableau 3.2. Les différents réactifs chimiques et biologiques utilisés..... | 39 |
| Tableau 3.3. Données d'identifications sur les différents échantillons contrôlés..... | 40 |
| Tableau 3.4. Gradients de la phase mobile..... | 59 |
| Tableau 4.1. Caractères organoleptiques des échantillons contrôlés..... | 62 |
| Tableau 4.2. Masses individuelles des 20 Cp des comprimés pesés..... | 63 |
| Tableau 4.3. Masses individuelles des 20 gélules BACTOX pesées..... | 64 |
| Tableau 4.4. Temps de désintégration des échantillons contrôlés..... | 65 |
| Tableau 4.5. Duretés ou résistances à la rupture de 10 comprimés BRUFEN et IBUPROFEN..... | 67 |
| Tableau 4.6. Principales liaisons chimiques de l'ibuprofène d'identifiées par IR..... | 70 |
| Tableau 4.7. Résultat des tests microbiologiques sur les échantillons contrôlés..... | 72 |
| Tableau 4.8. Temps de rétention (min) des impuretés retrouvées dans AMOLIN et BACTOX..... | 76 |
| Tableau 4.9. Temps de rétention (min) et impuretés correspondantes selon US..... | 77 |
| Tableau 4.10. Identification des impuretés spécifiées USP présentes dans BACTOX et AMOLIN..... | 78 |
| Tableau 4.11. Résultats de quantification des impuretés obtenues..... | 80 |

Liste des figures

| | |
|--|-----------|
| Figure 2.1. Diagramme illustrant les substances, l'équipement et les composants généralement utilisés dans la production d'un produit pharmaceutique..... | 28 |
| Figure 2.2. Seuil pour différents types d'impuretés pour les PF..... | 30 |
| Figure 3.1. La structure chimique de l'amoxicilline..... | 41 |
| Figure 3.2. La structure chimique de l'ibuprofène..... | 43 |
| Figure 4.1. Taux de dissolution de BACTOX et d'AMOLIN..... | 65 |
| Figure 4.2. Taux de dissolution de BRUFEN et d'IBUPROFEN..... | 65 |
| Figure 4.3. Temps de désintégration de AMOLIN, BRUFEN, IBUPROFEN..... | 66 |
| Figure 4.4. Résistance à la rupture (N) de BRUFEN et IBUPROFEN..... | 66 |
| Figure 4.5. Taux d'humidité dans les Cp AMOLIN et Gél BACTOX..... | 68 |
| Figure 4.6. Résultat CCM de BACTOX et AMOLIN..... | 69 |
| Figure 4.7. Spectre d'absorption en IR de l'ibuprofène contenue dans BRUFEN, IBUPROFEN et de la STR..... | 70 |
| Figure 4.8. Teneur en PA(%) de BACTOX et AMOLIN..... | 71 |
| Figure 4.9. Teneur en PA(%) de BRUFEN et IBUPROFEN..... | 71 |
| Figure 4.10. Résultats des tests microbiologiques..... | 72 |
| Figure 4.11. Chromatogramme représentant les impuretés des gélules BACTOX..... | 75 |
| Figure 4.12. Chromatogramme représentant les impuretés des comprimés AMOLIN..... | 76 |
| Figure 4.13. Co-oligomères d'amoxicilline et d'acide pénicillinique d'amoxicilline..... | 78 |
| Figure 4.14. 6-aminopenicillanique..... | 79 |
| Figure 4.15. amoxicillin penilloic derivative..... | 79 |
| Figure 4.16. L-amoxicilline..... | 79 |
| Figure 4.17. D-hydroxyphenylglycyclamoxicilline..... | 79 |

Liste des figures

Liste des abréviations

Liste des abréviations

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché.

ANSM : Agence Nationale de sécurité de médicament

BPF: Bonnes Pratiques de Fabrication.

BS : Soja Bouillon.

CAB : Cétimide Agar Base.

CPA: centre pharmaceutique d'achat

CP : Comprimé

CRPV: Centres Régionaux de Pharmacovigilance

DCI : Dénomination Commune Internationale.

D : dextrogyre

DMF : N, N-Diméthylformamide.

DQT: Dose quotidienne maximale

EJA: Exposition Journalière Admissible

Gel: Gélule

HPLC: High Performance Liquid Chromatography.

HPST: Hôpital, patients, santé et territoires

ICH : International Conference on Harmonization

IR: infra rouge

ISO: International Organization for Standardization.

LNCPP: Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques

L : lævogyre

MCA: Macconkey gélose.

N : Newton

N : Nitro

OMS: Organisation mondiale de la Santé.

Liste des abréviations

OTC: Over the Counter.

P.A: Principe Actif.

PCA: Pharmacie Centrale Algérienne.

PF: Produit Fini

PASP: Pharmacie d'Approvisionnement du Secteur Public PASP

P E: Pharmacopée Européenne.

PR: Président de la République

PUI: pharmacie à usage intérieur

R&D: Recherche & développement.

RS: Référence Standard

RP: Rapport frontaux

SA: Soja Agar.

SAB: Sabouraud.

SNIC: Société Nationale des Industries Chimiques.

STD: standard

STF : Standard témoin de référence

UFC: unité formant colonie.

UNOP: Union Nationale des Opérateurs de la Pharmacie.

USP: United state pharmacopia

UV: Ultra-violet.

XLD: Milieu gélose K.

Liste des abréviations

Nomenclatures

Nomenclatures

pH : potentiel d'Hydrogène.

tr/min : tours / minute.

λ : longueur d'onde.

T: Teneur

%: pourcentage

*Introduction
générale*

Introduction générale

Un médicament n'est pas un produit comme les autres, c'est un produit dynamique c'est-à-dire ses identités chimiques et ses caractères organoleptiques peuvent varier entre le moment de sa fabrication et de sa consommation. Il exige une approche totalement professionnelle et responsable du fait de son équilibre complexe mais aussi et surtout des garanties de qualité, sécurité et efficacité fournies par un respect strict de la réglementation pharmaceutique par tous les acteurs du circuit (production, distribution, dispensation). Ce contrôle de qualité est exigé par la réglementation avant la délivrance de toute autorisation de mise sur le marché [1].

Le contrôle de qualité d'un produit pharmaceutique comporte des méthodes physico-chimiques basées sur les caractéristiques physico-chimiques du médicament, et des méthodes biologiques. Une très large gamme de méthodes physicochimiques est utilisée : cela peut aller de la simple description des propriétés physico-chimiques du produit (poids, densité, solubilité, viscosité, indice de réfraction, rotation optique...) aux tests colorimétriques, en passant par la chromatographie en couche mince, gazeuse ou liquide haute performance, la spectrophotométrie de masse, ou bien encore la spectroscopie NIR [2].

Ces différentes méthodes permettent de vérifier l'absence des substances telles que les impuretés, qui sont des molécules autres que celles spécifiées dans la composition du produit.

L'assurance qualité concerne toutes les activités visant à s'assurer que le consommateur et le patient reçoivent un produit conforme aux spécifications et aux normes existantes de qualité, d'innocuité et d'efficacité. Le marché du médicament a considérablement changé ces dernières années. Comme toute marchandise, il est entré dans la mondialisation. La libre circulation a apporté un certain nombre de dangers, notamment la perte de contrôle sur la qualité de certains produits aussi bien pour les matières premières que pour les produits finis [2].

La pharmacovigilance vient comme un moyen de surveillance après la mise sur le marché des médicaments génériques ou princeps. Cette réglementation de l'industrie pharmaceutique vient assez récemment d'évoluer à travers des nouvelles législations pharmaceutiques européennes applicables depuis juillet 2012.

Introduction Générale

Malheureusement, la commercialisation de médicaments hors du circuit officiel des pharmacies, apparue dans les années 80, a pris de plus en plus d'ampleur dans les pays d'Afrique. Les médicaments de la rue ont fait une percée fulgurante à tel enseigne qu'ils tiennent une place non négligeable pour le tchadien.

Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette ruée vers les médicaments du marché illicite:

- La pauvreté galopante de la population
- Le manque d'informations sur les dangers auxquels s'expose le consommateur de ces médicaments
- La proximité des vendeurs de médicaments de la rue.

La vente parallèle de médicaments expose la santé du consommateur par le fait qu'elle est réalisée par des non-professionnels souvent analphabètes. Ce marché se compose d'une part de produits issus du circuit officiel (donc possédant une A.M.M.), d'autre part de produits retrouvés uniquement sur le marché illicite passés en contrebande par des trafiquants. L'origine de ces produits étant souvent méconnue, il est impossible d'établir une traçabilité en cas d'intoxication. Leur état de conservation laissant à désirer, ces produits sont de qualité douteuse voire franchement dangereux.

Dans cette optique, nous avons envisagé de traiter ce sujet en élaborant en premier lieu, une partie théorique sur le médicament et l'importance du contrôle de qualité (chapitre 1), les impuretés présentes dans les produits pharmaceutiques et les moyens nécessaires à leur détection (chapitre 2).

Après l'acquisition de ces diverses notions théoriques indispensables à un travail de qualité, on abordera dans une deuxième partie, un aspect plus pratique de notre étude : la réalisation des méthodes physicochimiques et microbiologiques, la notification de leurs intérêts, principes et mode opératoires, particulièrement l'identification et la qualification des impuretés relatives aux échantillons considérés (chapitre 3).

Enfin, cette deuxième partie débouchera sur des représentations graphiques illustrant les résultats des divers tests réalisés, leurs interprétations conformément aux normes ainsi que des discussions détaillées sur les possibles causes et conséquences des résultats hors normes sur la santé du malade (chapitre 4).

*Chapitre 1:
Notions
essentiellles sur
le médicament
et le contrôle
qualité*

Introduction

L'industrie pharmaceutique regroupe les activités de recherche, de fabrication et de commercialisation des médicaments que ce soit pour la médecine humaine ou vétérinaire. Elle constitue l'une des industries les plus importantes économiquement au monde [2].

Par ailleurs, une grande rigueur a toujours été apportée aux contrôles des médicaments. En effet, ceux-ci doivent avoir une qualité définie en termes de sécurité d'emploi et de protection de la santé publique.

Intéressons nous donc à une meilleure compréhension du terme «médicament» ainsi qu'aux différents concepts touchant le contrôle, assurant sa qualité.

1.1. Médicament

1.1.1. Définition

Un médicament, selon l'O.M.S. On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique [1].

1.1.2. Composition d'un médicament

Le médicament est rarement une substance seule. Il s'agit généralement d'un produit multi-composant, plus ou moins complexe.

1.1.2.1.Principe actif (PA)

C'est une substance susceptible de prévenir ou de faire cesser un trouble déterminé dans l'organisme. En d'autres termes, c'est l'élément possédant les propriétés curatives et/ou préventives du médicament [2].

Il existe deux catégories de principes actifs :

- Les substances obtenues par synthèse dont les caractéristiques chimiques sont bien définies (ex : acide acétylsalicylique, caféine, digitaline).
- Les substances extraites à partir des produits naturels : végétal, minéral, biologique.

1.1.2.2. Excipients et adjuvants

En général, le ou les principes actifs sont associés à un ou plusieurs excipients. Un excipient (du latin excipere: recevoir) est un mélange de substances dites auxiliaires, inactives par elles mêmes sur la maladie, qui facilitent la préparation et l'emploi du médicament. Celui-ci comporte en plus le conditionnement qui en facilite la délivrance, l'utilisation et en assure la conservation [2].

1.1.2.3. Conditionnements

Destiné à contenir le médicament et à le protéger de l'environnement extérieur. Il en existe deux (2) types.

- **Conditionnements primaires**

C'est l'élément indispensable du médicament car il joue un rôle de protection c'est-à-dire isole et conserve le médicament dans le temps. Il peut avoir un rôle fonctionnel en facilitant l'emploi du médicament.

- **Conditionnements secondaires**

Il permet la manipulation et le transport du médicament (carton), ainsi qu'un rôle d'identification et d'information pour le malade [2].

1.1.3. Conservation et date de péremption

1.1.3.1. Conservation

La conservation c'est-à-dire la stabilité du médicament, doit se prolonger pendant tout le temps prévu par le fabricant pour son utilisation. Les causes d'altération des médicaments sont essentiellement dues à :

- ✓ Des agents physiques : il s'agit surtout de la chaleur et/ou de la lumière qui peuvent dégrader les molécules. Pour y faire face, le médicament est conditionné dans un système opaque (verre coloré pour les liquides...).
- ✓ Des agents chimiques : il s'agit essentiellement de facteurs environnementaux. L'air, par exemple, oxyde le médicament. La vapeur d'eau favorise les phénomènes de déliquescence. Pour empêcher ces effets, les solutions sont protégées de l'air grâce à des flacons entièrement remplis ou remplis sous gaz inerte et les comprimés effervescents sont conservés dans les tubes aluminium renfermant un gel de silice qui absorbe l'humidité [3].

1.1.3.2. Date de péremption

Tous les médicaments ont une date de péremption, c'est-à-dire une date limite d'utilisation au-delà de laquelle le produit doit être jeté. Cette date est portée en clair sur l'emballage.

1.1.4. Lot et numéro de lot

1.1.4.1. Lot [4]

C'est la quantité de médicaments qui sont fabriqués au cours d'un cycle donné de fabrication. La qualité essentielle d'un lot de fabrication est son homogénéité.

1.1.4.2. Numéro de lot

C'est la désignation (imprimée sur l'étiquette d'un médicament sous forme de chiffres et/ou de lettres) qui identifie le lot et permet de retrouver et de vérifier toute la série d'opérations, y compris celles de fabrication et de contrôle qui ont abouti à sa fabrication. Le numéro de lot permet la traçabilité du médicament.

1.1.4.3. Formes pharmaceutiques

La forme pharmaceutique appelée aussi forme galénique est la forme sous laquelle sont associés principes actifs et excipients pour constituer un médicament. La nature de ces formes dépend de la voie d'administration possible ou choisie, mais plusieurs formes sont utilisables par la même voie. Un principe actif (un médicament) peut être présenté sous diverses formes.

Les formes pharmaceutiques les plus présentes sur les dépôts et les officines sont :

- **Les comprimés:** Ce sont des préparations de consistance solide, des formes diverses (ovales, ronds,...). On distingue les comprimés à avaler et les comprimés à usage gynécologique.
- **Les gélules:** Ce sont de petites boîtes cylindriques constituées de deux enveloppes rigides en gélatine s'emboîtant l'une dans l'autre et contenant une poudre médicamenteuse.
- **les sirops:** Ce sont des préparations liquides contenant une forte proportion de sucre et destinées à être avalées. La posologie est le plus souvent donnée en cuillère à soupe ou à café.

- **les suspensions:** Ce sont des poudres contenues dans un flacon. Avant utilisation, le malade ajoute un volume précis d'eau propre (indiqué sur le flacon), puis il dissout correctement la poudre en agitant fortement le flacon.
- **Les pommades:** Ce sont des préparations de consistance molle, destinées à être appliquées sur la peau ou les muqueuses. On distingue les pommades dermiques (pour la peau), ophtalmiques (pour les yeux) et anales (pour l'anus).
- **les collyres:** Ce sont des médicaments destinés au traitement des maladies oculaires. Ces préparations stériles sont appliquées directement sur l'œil. Un flacon de collyre ouvert depuis plus de quinze jours ne doit plus être utilisé, car il y a des risques de contamination.
- **les préparations injectables:** Ce sont des solutions ou des poudres que l'on dissout avant l'administration au patient. Ces produits sont destinés à être injectés à travers la peau (injection intraveineuse ou intramusculaire) [4].

1.2. Spécialités et génériques

Tout médicament découvert ou synthétisé par un laboratoire pharmaceutique est la propriété de celui-ci. Cette propriété est protégée par un brevet qui confère le monopole d'exploitation pendant une vingtaine d'année. Le laboratoire donne au médicament un nom de fantaisie ou nom commercial et son conditionnement est particulier. On parle alors de spécialité.

Au moment où le brevet d'exploitation expire, tout laboratoire peut produire ce médicament. Certains laboratoires produisent alors des médicaments génériques, désignés par leur Dénomination Commune Internationale (DCI), qui fait référence au principe actif et est la même dans tous les pays du monde. Il faut remarquer que les spécialités portent aussi un nom DCI qui figure obligatoirement en dessous du nom commercial. Ainsi, un même médicament a un seul nom DCI, mais peut avoir plusieurs noms commerciaux.

Afin de réduire le coût de production, les médicaments génériques sont commercialisés en conditionnements de grande quantité. Sur ces conditionnements figurent le nom DCI, le dosage, la forme, la date de péremption, le numéro de lot de fabrication et l'appartenance aux listes I, II ou stupéfiants [4].

1.3. Médicaments essentiels

Ce sont des médicaments qui satisfont aux besoins fondamentaux de la majorité des populations en matière de soins de santé. Ce sont des médicaments pour lesquels il existe des données sûres et suffisantes sur l'efficacité et les effets secondaires, et qui ont un moindre coût. Ils doivent être disponibles à tout moment. Une liste de médicaments essentiels doit être établie, visant à la prise en charge efficiente des pathologies les plus courantes, soigner le maximum de maladies (95%) avec le minimum de médicaments. [4].

1.4. Contrefaçon de Médicaments

1.4.1. Concept de contrefaçon

Toujours selon le même dictionnaire le terme contrefaçon désigne l'usurpation du droit de propriété littéraire, artistique, commerciale ou industrielle d'un autre.

La contrefaçon est une reproduction servile ou quasi servile, au travers de laquelle il y a toujours une intention délibérée de tromper le consommateur. Il s'agit toujours d'un acte délibéré et illégal de falsification à but lucratif.

En fonction des pays, la définition est restée différente et comprend des notions de qualité, de légalité et d'intention frauduleuse. Il n'existe pas vraiment de définition juridique de la contrefaçon pharmaceutique [5].

Selon l'OMS: «Un médicament contrefait est un produit qui est délibérément et frauduleusement mal étiqueté avec respect d'identité et/ou de sa source. La contrefaçon peut s'appliquer aux produits de marque comme aux produits génériques et peut être constituée d'ingrédients corrects ou différents, sans principe actif ou en quantité insuffisante ou encore avoir un faux conditionnement ».

Cette définition jugée à tort ou à raison trop vague est souvent modifiée afin d'y inclure les faux médicaments (produits ne contenant pas de principe actif) ainsi que les malfaçons (produits de mauvaise qualité en général).

Soulignons dans le cas des malfaçons que le fabricant n'est souvent pas conscient de la qualité inférieure de son produit. Ils ne les commercialisent donc pas délibérément. Leur incidence sur la santé est tout de même établie et ils méritent à notre avis d'être inclus dans la catégorie des contrefaçons [5].

La contrefaçon de médicaments peut prendre des formes diverses. Elle peut toucher le conditionnement extérieur du médicament (la boîte et les différentes mentions obligatoires) ou l'emballage primaire qui enveloppe le produit (le blister) ou encore le médicament lui-même.

On distingue généralement trois types de contrefaçons :

- Les produits contenant le(s) bon(s) principe(s) actif(s), mais souvent de façon sous-dosée.
- Les produits dans lesquels on ne trouve aucune trace de principe actif.
- Les produits contenant des impuretés, d'autres produits que ceux annoncés, voire des substances toxiques qui peuvent parfois s'avérer dangereuses.

La contrefaçon de médicaments peut être ainsi définie comme étant la copie illicite d'une spécialité pharmaceutique. Dans la plupart des cas, les médicaments contre faits ne sont pas équivalents aux produits authentiques du point de vue de la qualité, de l'innocuité et de l'efficacité [5].

1.4.2. Vente de médicaments contrefaits en Afrique : Cas du Tchad

Le marché illicite de médicaments constitue de nos jours en Afrique une préoccupation majeure. Ceci est dû à la pauvreté dans les différents pays mais aussi à la non-application des textes réglementaires. En effet le développement très récent de ce Marché nécessite une mise en application du code pénal et de la législation. Les violations de la réglementation par les pharmaciens constituent une situation dangereuse dans la lutte contre ce marché illicite. Il n'est pas rare de trouver des produits vendus en pharmacie sans ordonnance médicale. Les risques encourus dans l'immédiat ou à long terme ne sont pas bien évalués. Ces risques s'accroissent avec l'automédication encouragée par la non-application des textes législatifs. Cette automédication encourage elle aussi le marché parallèle qui a pris de l'ampleur ces dernières années [6].

1.4.2.1. Sources d'approvisionnements du marché Tchadien

Au Tchad le marché illicite bénéficie d'une double source d'approvisionnement, interne et externe. Les vendeurs illicites seraient ainsi approvisionnés en partie par le marché pharmaceutique national regroupant des grossistes en grande partie des importateurs. Le marché pharmaceutique illicite est difficile à évaluer, compte tenu du nombre de transactions clandestines. Les lieux de ventes sont dispersés à travers tout le pays mais le plus grand marché est celui de Dembé situé N'djamena. Il regroupe près de 40% des vendeurs de médicaments de la rue dans le pays.

Aucun de ces vendeurs n'a reçu de formation médicale mais ils sont cependant tous prêts à établir des diagnostics ou à tenter de déchiffrer les prescriptions afin de vendre

un médicament dont le choix sera surtout guidé par l'état de leur stock plutôt que par la cause de la maladie [7].

1.4.3. Centrale Pharmaceutique D'achat

La Pharmacie d'Approvisionnement du Secteur Public (PASP) a disparu au profit de la Centrale Pharmaceutique d'Achat (CPA) qui est opérationnelle depuis décembre 1996. Cette structure a été créée par la loi N 33/PR/94 du 22 octobre 1994 et ses statuts fixés par le décret N 10/PR/MSP/95. La Centrale Pharmaceutique d'Achat (CPA) est un établissement à but non lucratif doté de la personnalité morale, de l'autonomie financière et de gestion. Elle est placée sous la tutelle technique du ministère de la santé publique. C'est l'un des plus importants instruments de la mise de la politique pharmaceutique National dont l'objectif principal est de rendre disponible et accessible à la population, des médicaments essentiels et génériques de bonne qualité, sûrs, efficaces et à moindre coût. Sa gestion obéit aux principes de gestion d'une entreprise commerciale.

Les statuts de la CPA sont fixés par le décret 10/PR/PM/MSP/95 du 18 janvier 1995. La CPA a effectivement démarré son activité en décembre 1996 [7].

1.4.3.1. Mission de la CPA

La centrale pharmaceutique d'achat a pour mission d'assurer :

- L'approvisionnement en médicament essentiel et génériques des formations sanitaires du secteur public et celles du secteur privé à but non lucratif.
- La passation des commandes des médicaments essentiels génériques et consommables médicaux auprès des fournisseurs à l'intérieur ou à l'étranger conformément aux principes de la libre concurrence afin d'obtenir des produits de qualité à des prix compétitifs.
- Le stockage de ces produits selon les normes de bonnes pratiques pharmaceutiques.

La cession des médicaments essentiels génériques et consommables médicaux à un prix social mais rémunérateur aux formations sanitaires du secteur public et celle du secteur privé à but non lucratif.

1.5. Contrôle de qualité

Tel que défini par les bonnes pratiques de fabrication des produits pharmaceutiques (B.P.F), le contrôle de qualité est la partie des (B.P.F) qui concerne l'échantillonnage, l'établissement des spécifications et le contrôle, ainsi que les procédures d'organisation et de

documentation et de libération qui garantissent que les analyses nécessaires et appropriées ont réellement été effectuées

Le contrôle de qualité est une activité de l'entreprise qui a pour mission d'accepter (ou refuser) un lot de médicaments en l'autorisant à quitter l'entreprise pour parvenir à ses différents utilisateurs [3].

1.5.1. Objectifs du contrôle de qualité

Le contrôle de la qualité pharmaceutique vise à vérifier la conformité de la fabrication du médicament au dossier d'autorisation de mise sur le marché. Il permet aussi grâce à une vérification adéquate de la production et de la qualité d'éviter que des produits insatisfaisants ne soient mis sur le marché [3].

1.5.2. Qualité

Telle que définie par l'Académie des sciences pharmaceutiques, la désignation qualité appliquée à un médicament exige qu'il contienne la quantité de principe actif inscrite sur l'étiquette dans la limite de ses spécifications :

- Qu'il contienne cette quantité dans chaque zone unitaire
- Qu'il soit exempt de substances étrangères
- Qu'il maintienne son dosage, sa biodisponibilité thérapeutique, son apparence jusqu'à l'utilisation
- Qu'après administration, il libère le principe actif avec une entière biodisponibilité.

1.5.2.1. Non-conformité des médicaments

Plusieurs catégories de médicaments non conformes existent: malfaçons, contrefaçons et produits dégradés [8].

a. Les médicaments sous-standard

Les médicaments sous standards, bien que n'ayant pas de définition juridique, également appelés «produits hors spécification» ou «OOS: out-of-spécification» sont des médicaments authentiques produits par des fabricants autorisés par l'autorité nationale de réglementation qui ne remplissent pas les spécifications de qualité élaborées dans le cadre national pour ces produits [8].

Le terme « non conforme » signifie quant à lui qu'un médicament présente certains écarts par rapport aux spécifications requises par le dossier d'enregistrement approuvé par l'autorité d'enregistrement et/ou aux bonnes pratiques de fabrication en vigueur dans le pays d'enregistrement. Il serait également important de distinguer les malfaçons des contrefaçons de médicaments car selon Médecins sans Frontières les problèmes de malfaçons seraient plus répandus [8].

La définition de malfaçon est proche voire identique à celle de « médicament sous-standard ». L'origine de la malfaçon est multiple et peut comprendre le titulaire de droit et ses sous-traitants éventuels. La non-conformité aux normes de qualité et de traçabilité n'est pas constitutive de la contrefaçon mais relève plutôt d'une conséquence potentielle de celle-ci [9].

La qualité d'un médicament est mise en cause lorsqu'une non-conformité aux spécifications décrites dans le dossier d'AMM ou une déviation par rapport aux bonnes pratiques de fabrication (BPF) / aux bonnes pratiques de distribution (BPD) sont identifiées. Les défauts qualité peuvent être découverts à différents niveaux:

- Lors de l'utilisation du produit (par le patient ou un professionnel de santé)
- Lors de la délivrance du produit (par un pharmacien d'officine ou de PUI) par les industriels (fabricants/exploitants/distributeurs)
- Lors d'analyse réalisées dans le cadre de la surveillance du marché
- Lors de la déclaration de cas de pharmacovigilance
- Lors de remontées de cas de pharmacovigilance vers l'industriel [10].

1.5.3. Assurance de la qualité

1.5.3.1. Définition

L'assurance qualité est définie comme un ensemble d'activités préétablies et systématiquement mises en œuvre dans le cadre du système qualité et démontrées en tant que besoins pour donner la confiance appropriée. En ce qu'une entité satisfera aux exigences pour la qualité

Selon l'OMS, la qualité du médicament est déterminée par son efficacité et son innocuité, en accord avec ce qui est indiqué sur l'étiquette ou ce qui a été promu ou énoncé, et par sa conformité aux spécifications concernant son identité, sa pureté et d'autres caractéristiques. Le système d'assurance de la qualité est constitué par l'ensemble des mesures prises pour s'assurer que les médicaments fabriqués ont la qualité requise pour

l'usage auquel ils sont destinés. Cette qualité doit être assurée tout au long de la vie du médicament [5].

Il s'agit non seulement de l'analyse des matières premières, la surveillance des procédures de fabrication, l'analyse du produit fini, le contrôle de sa conformité aux lois et règlements mais aussi de la maîtrise de tous les facteurs susceptibles d'influer sur la qualité du médicament. Le médicament n'étant pas un produit comme tout autre, sa qualité est l'élément majeur de sa fabrication [5].

Chaque élément de l'assurance de la qualité est indispensable à l'ensemble, toute insuffisance ponctuelle aboutit à la mise sur le marché d'un produit défectueux dont l'absorption pourrait avoir des conséquences graves, voire fatales ; Les BPF sont à la base de cet ensemble.

1.5.3.2. Objectifs d'assurance qualité

Les raisons qui conduisent les entreprises à s'investir dans l'assurance qualité sont nombreuses :

➤ Qualité sécurité et santé publique

Si l'on fixe des standards élevés pour l'assurance de qualité dans la production et la distribution des médicaments, c'est que la qualité est indissolublement liée à la sécurité d'emploi des produits et par conséquent à la santé du malade ainsi que celle de la communauté.

Lorsque l'insuffisance du contrôle a pour conséquence des produits insuffisamment efficaces, ou que leur mauvaise formulation provoque une mauvaise biodisponibilité les chances de guérison des malades en seront évidemment diminuées ; le sous dosage des antibiotiques et d'autres antimicrobiens accélère l'émergence de résistants chez les sujets pathogènes [5].

➤ Qualité et économie

L'assurance de la qualité a des conséquences économiques pour les producteurs et pour les acheteurs des médicaments. L'application des règles des BPF est onéreuse, elle aura forcément un effet sur le prix des médicaments. L'expérience montre toutefois qu'il ya un intérêt économique à appliquer les BPF dès le début de la production. Lorsqu'un ingrédient

est mauvais, on gagnerait à s'en apercevoir immédiatement, et à l'écarter plutôt que de le constater plus tard sur une quantité de produits finis, condamné à la destruction [5] .

1.5.3.3. Principes de mise en œuvre

Les principes sont les suivants :

- Ecrire ce que doit faire.
- Définir qui doit le faire et comment, avec qui
- Faire ce qui est écrit
- Saisir et corriger les écarts entre ce qui est doit être fait et ce qui est fait.
- Evaluer périodiquement le système pour assurer les corrections des dérives éventuelles.
- Garder trace de l'ensemble selon les besoins d'historique.
- Transmettre et demander l'application de ces règles à ces fournisseurs.

Ces principes traduisent le passage à une culture de l'écrit; ils sont applicables à tous type d'entreprise et le font progresser vers un produit ou un service plus fiable par rapport aux attentes des clients [5].

1.6. Pharmacovigilance

1.6.1. Définition

La pharmacovigilance est la surveillance, la prévention, l'évaluation et la gestion du risque d'effet indésirable lié aux médicaments quelques soient les conditions d'utilisations, conformes et non conformes aux termes de l'AMM et les situations de surdosage, de mésusage, d'abus et d'erreurs médicamenteuses.

Elle comprend :

- Le recueil basé sur la notification spontanée des effets indésirables par les professionnels de santé et les industriels avec l'appui du réseau des centres régionaux de pharmacovigilance.
- L'enregistrement et l'évaluation de ces informations. La mise en place d'enquêtes ou d'études pour analyser les risques, la participation à la mise en place et au suivi des plans de gestion des risques.
- L'appréciation du profil de sécurité d'emploi du médicament en fonction des données recueillies

- La prise de mesures correctives (précautions ou restriction d'emploi, contre indications, voir retrait du produit) et la communication vers les professionnels de santé et le public.
- La communication et la diffusion de toute information relative à la sécurité d'emploi du médicament.
- La participation à la politique de santé publique de lutte contre l'iatrogénie médicamenteuse. La pharmacovigilance s'appuie sur une base réglementaire nationale et européenne: lois, décrets, directives, bonnes pratiques de pharmacovigilance [11].

1.6.2. Pharmacovigilance européenne

La création le 1^{er} janvier 1995 de l'Agence Européenne des Médicaments: EMA (European Medicine Agency) implantée à Londres a permis d'organiser et de structurer un système de pharmacovigilance au niveau communautaire.

Ce système européen permet :

- ❖ Une identification/communication rapide et efficace sur les problèmes de pharmacovigilance
- ❖ Une coopération dans l'évaluation des risques liés à l'utilisation des médicaments
- ❖ La prise de mesures pour répondre à un problème de pharmacovigilance
- ❖ Et une information commune sur les médicaments [11].

1.6.3. Champ d'application

La pharmacovigilance repose avant tout sur le signalement, par les professionnels de santé et des patients, des effets indésirables susceptibles d'être dus aux médicaments.

Ces déclarations sont ensuite validées, évaluées et enregistrées par les centres régionaux de pharmacovigilance (CRPV) ou par les entreprises.

Ces activités: signalement, évaluation, et transmission des effets indésirables, permettent d'identifier les risques médicamenteux.

Si nécessaire, des études complémentaires sont réalisées et le cas échéant des mesures correctives sont mises en d'une utilisation au cours de la grossesse ou de l'allaitement

- D'une interaction médicamenteuse
- D'une perte d'efficacité
- D'un défaut de qualité [11].

Conclusion

Le marché du médicament a considérablement changé ces dernières années. Comme toute marchandise, il est entré dans la mondialisation. La libre circulation a apporté un certain nombre de dangers, notamment la perte de contrôle sur la qualité de certains produits aussi bien pour les matières premières que pour les produits finis.

Ainsi donc une sécurité sanitaire des populations exige, un contrôle des substances pour usage pharmaceutiques, constituants du médicament.

C'est donc tout naturellement, qu'un contrôle de qualité réel et efficace, en particulier une étude des impuretés de médicaments présentés sur le marché s'explique.

*Chapitre 2 : Les
impuretés dans
les produits
pharmaceutiques
et leurs dangers*

Introduction

Toute molécule pharmaceutique active, présente intrinsèquement une certaine toxicité, les sources de la toxicité pourraient provenir des impuretés issues du principe actif, des excipients ou de la fabrication du produit pharmaceutique final (comprimés, gélules, solutions buvables et injectables, etc.) Ainsi que de la dégradation de celui-ci. Avant de délivrer l'autorisation de mise sur le marché de toute molécule pharmaceutique, un contrôle de qualité extrêmement approfondi sur les impuretés doit être mené. Toutes les impuretés, quelles que soient leurs natures, sont recherchées, déterminées quantitativement et des teneurs maximales sont proposées, fondées sur des évaluations toxicologiques appelées globalement processus de qualification toxicologique.

2.1. Définition

Une impureté est définie comme tout constituant de synthèse ou de dégradation de la substance ou du produit médicamenteux existant qui n'est pas l'entité chimique définie comme étant la substance ou le produit médicamenteux existant [12].

Les impuretés présentes dans les substances actives existantes sont envisagées sous deux angles différents:

- **L'aspect chimique**, comprenant la recherche, la classification et la caractérisation des impuretés en fonction de la voie de synthèse. A l'issue de cette étape, un rapport devra être établi par le fabricant afin d'énumérer les impuretés, de préciser celles qui seront recherchées en routine avec leurs limites de spécification, et un bref exposé des méthodes d'analyse utilisées pour les détecter et quantifier (avec surtout leur limite de quantification).
- **L'aspect de l'innocuité**, reprenant les lignes directrices spécifiques pour la qualification des impuretés qui n'étaient pas présentes dans la substance active du médicament princeps, ou qui l'étaient, mais en concentrations notablement plus faibles, dans les lots de la substance médicamenteuse existante utilisée dans les études d'innocuité et les essais cliniques [13].

2.2. Sources des impuretés dans les substances et les produits médicamenteux

Lorsque l'on examine la production de produits pharmaceutiques, on observe des catégories larges de sources potentielles d'impuretés:

- Les impuretés résiduelles découlant d'éléments intentionnellement ajoutés (p.ex., des catalyseurs) dans la formation de la substance pharmaceutique, des excipients ou des autres composants du produit pharmaceutique. L'évaluation des risques portant sur la substance pharmaceutique doit aborder le potentiel d'inclusion des impuretés dans le produit pharmaceutique.
- Les impuretés élémentaires qui ne sont pas intentionnellement ajoutées et qui peuvent être présentes dans la substance pharmaceutique, l'eau ou les excipients utilisés dans la préparation du produit pharmaceutique.
- Les impuretés qui peuvent être introduites dans la substance ou le produit pharmaceutique par l'équipement de fabrication.
- Les impuretés élémentaires qui peuvent s'infiltrer dans la substance et le produit pharmaceutique à partir du contenant et dispositif de fermeture.
- Les impuretés apparentées au principe actif provenant du procédé de synthèse
- Les impuretés de dégradation et d'interaction du principe actif avec les excipients voire avec le conditionnement primaire du médicament [14].

Le diagramme suivant illustre les substances, l'équipement et les composants généralement utilisés dans la production d'un produit pharmaceutique. Chacune des sources potentielles susmentionnées, individuellement ou en combinaison, peut introduire des impuretés dans le produit pharmaceutique. Au cours de l'évaluation des risques, il faut tenir compte des contributions potentielles de chacune de ces sources pour déterminer l'apport général d'impuretés au produit pharmaceutique.

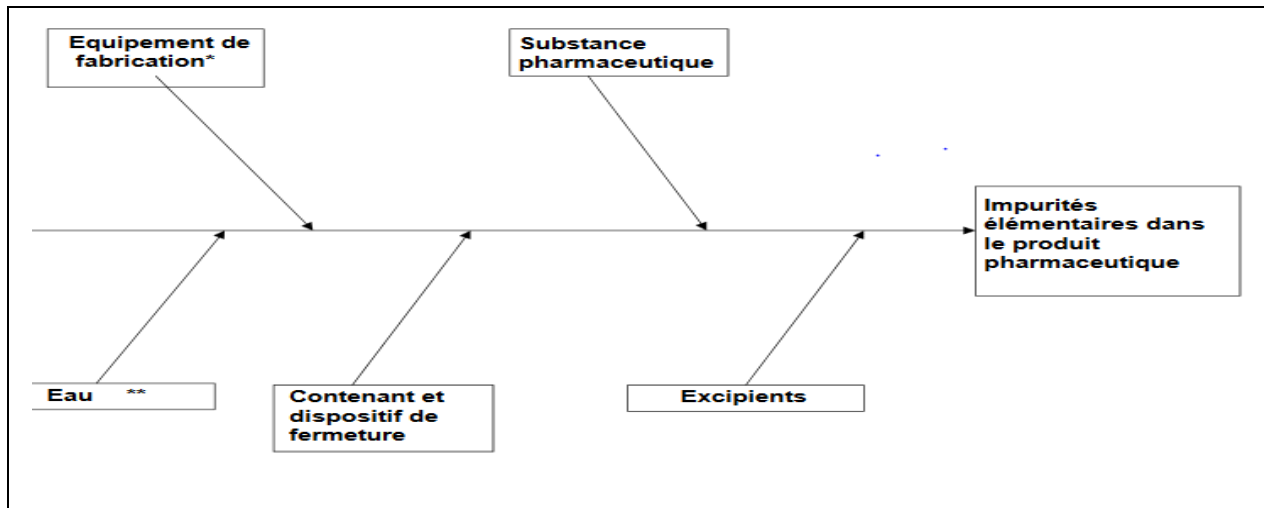


Figure 2.1. Diagramme illustrant les substances, l'équipement et les composants généralement utilisés dans la production d'un produit pharmaceutique [14].

2.3. Classifications des impuretés

2.3.1. Impuretés organiques [12]

Les impuretés organiques peuvent apparaître durant la fabrication et (ou) le stockage de la substance active, avant la mise en fabrication. Elles peuvent être connues ou non, volatiles ou non et elles comprennent :

- les produits de base
- les sous produits
- les intermédiaires de synthèse
- les produits de dégradation
- les réactifs, les ligands et les catalyseurs

Un résumé de toutes ces impuretés organiques (réelles ou théoriques) doit être réalisé en s'appuyant sur l'étude du procédé de production et de dégradation du principe actif mais aussi d'après les résultats obtenus lors de la phase de développement et des études de la dégradation forcées.

2.3.2. Impuretés inorganiques

Les impuretés inorganiques peuvent provenir du procédé de fabrication. Généralement, elles sont connues et identifiées et comprennent :

- Les réactifs, les ligands et les catalyseurs

- Les métaux lourds et autres métaux résiduels
- Les sels inorganiques
- d'autres substances (par exemple. les adjuvants de filtration) [12].

Néanmoins, pour enregistrer une spécialité, il faut réaliser une évaluation de la présence des impuretés dans le PA, au regard de la quantité présente et de la toxicité engendrée. De ce fait, il en découle trois types de statuts, qui sont:

- Impuretés reportées
- Impuretés identifiées
- Impuretés qualifiées

Une impureté dite reportée doit être présente sur le bulletin d'analyse, alors que la caractérisation structurale doit être effectuée pour une impureté identifiée. Pour impureté qualifiée, il faut effectuer un processus d'évaluation et d'acquisition des données afin d'établir l'innocuité biologiques aux teneurs spécifiées.

Pour chacune de ces catégories, il existe des seuils qui sont définis soit en fonction de la quantité quotidienne absorbée soit en pourcentage de présence dans le PA. Naturellement, le seuil appliqué sera toujours le plus restrictif. Les seuils sont spécifiques à chaque statut d'impureté et varient selon la dose maximale quotidienne fixée à 2g/jour [13].

Tableau 2.1. Seuils pour les différents types d'impuretés pour PA [13].

| Dose quotidienne maximale ¹ | Seuils de déclaration ^{2,3} | Seuils de caractérisation ³ | Seuils de qualification ³ |
|--|--------------------------------------|---|---|
| ≤ 2 g/jour | 0,05 % | 0,10 % ou apport de 1,0 mg par jour (la moins élevée des valeurs) | 0,15 % ou apport de 1,0 mg par jour (la moins élevée des valeurs) |
| > 2 g/jour | 0,03 % | 0,05 % | 0,05 % |

Afin d’harmoniser les travaux sur les impuretés, il existe un arbre un arbre décisionnel dans le guide ICH Q3A (R2) qui permet de savoir ce qui est attendu par les autorités réglementaires pour les impuretés devant être identifiées et qualifiées.

| Seuils de déclaration | |
|--|---|
| Dose quotidienne maximale ¹ | Seuil ^{2,3} |
| ≤ 1 g | 0,1 % |
| > 1 g | 0,05 % |
| Seuils de caractérisation | |
| Dose quotidienne maximale ¹ | Seuil ^{2,3} |
| < 1 mg | DQT de 1,0 % ou de 5 µg (valeur la plus faible) |
| 1 mg - 10 mg | DQT de 0,5 % ou de 20 µg (valeur la plus faible) |
| > 10 mg - 2 g | DQT de 0,2 % ou de 2 mg (valeur la plus faible) |
| > 2 g | 0,10 % |
| Seuils de qualification | |
| Dose quotidienne maximale ¹ | Seuil ^{2,3} |
| < 10 mg | DQT de 1,0 % ou de 50 µg (valeur la plus faible) |
| 10 mg - 100 mg | DQT de 0,5 % ou de 200 µg (valeur la plus faible) |
| > 100 mg - 2 g | DQT de 0,2 % ou de 3 mg (valeur la plus faible) |
| > 2 g | 0,15 % |

Figure 2.2. Seuil pour différents types d’impuretés pour les PF [13].

2.3.3. Solvant résiduels

Les solvants peuvent être potentiellement dangereux pour le patient lors de l’utilisation du médicament. Cependant, en raison de la fréquence d’exposition et des quantités manipulées, le personnel chargé de la production du médicament ou de son contrôle peuvent être tout autant soumis aux risques potentiels de ces solvants.

2.3.3.1.Principes généraux de classification des solvants résiduels

On peut citer 3 classes de solvants en fonction de leur toxicité et leurs risques sur la santé humaine.

- **Classe1:** Tels que le benzène et le tétrachlorure de carbone sont des solvants à éviter, carcinogènes connus ou fortement suspectés, dangereux pour l'environnement.
- **Classe2:** tels que le chlorure de méthylène, méthanol, pyridine, diméthylformamide, et l'acétonitrile sont des solvants dont l'utilisation est soumise à limitation Carcinogènes animaux non-génotoxiques ou éventuels agents causals d'autres effets toxiques irréversibles tels que la neurotoxicité ou la tératogénicité.
- **Classe3:** acide acétique, acétone, alcool d'isopropyle, butanol, éthanol, et acétate éthylique sont des solvants à faible potentiel toxique, solvants à faible potentiel toxique pour l'homme; aucune limite relative à l'exposition n'est exigée [14].

2.3.3.2. Incidences de la présence des solvants sur la forme galénique

La présence des solvants lors de la fabrication d'un produit pharmaceutique présente différents type d'interactions avec ce dernier:

- solvants absorbés sur la surface du cristal et qui, en général, seront facilement enlevés au moment du séchage du fait des faibles énergies d'interaction mises en jeu
- solvants occlus et clathrates intégrés plus ou moins dans la maille cristalline et difficilement enlevables sans un chauffage important qui risque en retour de dégrader la molécule.
- solvants liés de façon stœchiométrique (ou quasiment) à la molécule dans la maille cristalline (solvates, hydrates). Ils sont enlevés à des températures de chauffage caractéristiques mais leur départ donne lieu à des produits pouvant présenter des propriétés physico-chimiques différentes de celles de la molécule solvatée [11].

2.3.3.3. Incidences des solvants sur le conditionnement

La présence dans une poudre de solvants résiduels pouvant migrer jusqu'à l'interface contenu/contenant, facilite l'extraction et la migration dans la préparation pharmaceutique d'additifs introduits dans la fabrication des matériaux de conditionnement. Des solvants peuvent par ailleurs être utilisés durant le conditionnement des produits pharmaceutiques. Letavernier et coll, décrivent par exemple le cas de blisters en PVC utilisés pour le conditionnement de suppositoires et scellés à l'aide de cyclohexanone. Après 42 mois de stockage à température ambiante, des quantités de cyclohexanone allant jusqu'à 0,3 mg par suppositoire ont pu être retrouvées [11].

2.3.3.4. Incidences des solvants sur l'acceptabilité du médicament par le patient

La présence de solvants résiduels peut sérieusement obérer l'acceptabilité d'un produit pharmaceutique par l'utilisateur du fait de l'odeur ou de la saveur qu'ils peuvent conférer. Rabiant cite le cas d'un principe actif cristallisé ayant subi un lavage à l'éther isopropylique, a priori non prévu dans le protocole de fabrication. Le soluté buvable préparé à partir de ce principe actif contenait 100 ppm de ce solvant, ce qui suffisait à conférer au médicament une odeur étherée que la majorité des utilisateurs ne supportait pas ; le lot incriminé dut être retiré du marché. L'aspect organoleptique doit donc également être pris en compte au moment d'établir des spécifications.

2.4. Méthodes de détection des impuretés

- Chromatographie sur colonne
- Chromatographie en phase gazeuse
- Chromatographie sur couche mince
- Chromatographie liquide à haute performance
- Chromatographie ionique
- Électrophorèse capillaire (CE)
- Spectrométrie de masse (SM)

2.4.1. Détection des impuretés élémentaires potentielles

2.4.1.1. Impuretés élémentaires potentielles dérivées de catalyseurs et de réactifs inorganiques intentionnellement ajoutés

Si un élément figurant au tableau 2.3 est intentionnellement ajouté, il doit être pris en compte dans l'évaluation des risques. Dans cette catégorie, l'identité des impuretés potentielles est connue, et les techniques de contrôle des impuretés élémentaires sont facilement caractérisées et définies [15].

2.4.1.2. Impuretés élémentaires potentielles qui peuvent être présentes dans les substances pharmaceutiques ou les excipients

Même si certaines impuretés élémentaires ne sont pas intentionnellement ajoutées,

elles peuvent être présentes dans certaines substances pharmaceutiques ou certains excipients. L'évaluation des risques doit rendre compte de l'inclusion potentielle de ces éléments dans le produit pharmaceutique. L'évaluation des risques portant sur la voie d'administration orale doit étudier l'inclusion potentielle d'impuretés élémentaires du groupe 1 et du groupe 2A dans le produit pharmaceutique. L'évaluation des risques portant sur l'administration par voie parentérale et par inhalation doit étudier l'inclusion potentielle d'impuretés élémentaires du groupe 1, du groupe 2A et du groupe 3 dans le produit pharmaceutique, comme l'indique le tableau 2.3 [15].

2.4.1.3. Impuretés élémentaires potentielles dérivées de l'équipement de fabrication

L'apport d'impuretés élémentaires provenant de cette source peut être limité, et le sous-ensemble d'impuretés élémentaires dont il faut tenir compte dans l'évaluation des risques dépend de l'équipement de fabrication utilisé dans la production du produit pharmaceutique. Les connaissances sur les procédés, le choix de l'équipement, la qualification de l'équipement et les contrôles conformes aux BPF permettent de s'assurer que l'apport provenant de l'équipement de fabrication reste faible. Il convient d'évaluer les impuretés élémentaires préoccupantes précises en fonction des connaissances sur la composition des composants de l'équipement de fabrication qui entrent en contact avec les composants du produit pharmaceutique. L'évaluation des risques portant sur cette source d'impuretés élémentaires peut être utilisée pour de nombreux produits pharmaceutiques qui utilisent les mêmes processus et procédés de transformation [15].

2.4.1.4. Impuretés élémentaires infiltrées en provenance du contenant et du dispositif de fermeture

La détection des impuretés élémentaires potentielles qui peuvent être introduites par le contenant et le dispositif de fermeture doit reposer sur une compréhension scientifique des interactions probables entre un type de produit pharmaceutique donné et son emballage. Lorsqu'un examen des matières de fabrication montre que le contenant et le dispositif de fermeture ne contiennent pas d'impuretés élémentaires, il n'est pas nécessaire d'effectuer une

évaluation des risques supplémentaire. On reconnaît que la probabilité de lessivage d'éléments dans les formes posologiques solides est minime et qu'elle n'a pas à être prise en compte de manière plus poussée dans l'évaluation des risques. Dans le cas des formes posologiques liquides et semi-solides, la probabilité de lessivage d'impuretés élémentaires en provenance du contenant et dispositif de fermeture au cours de la durée de conservation du produit est plus élevée. Il convient de mener des études afin de comprendre les éléments qui pourraient s'infiltrer à partir du contenant et du dispositif de fermeture après le lavage, la stérilisation, l'irradiation, etc.). Cette source d'impuretés élémentaires est généralement prise en compte au cours de l'évaluation du contenant et du dispositif de fermeture du produit pharmaceutique.

Les facteurs à considérer (pour les formes posologiques liquides et semi-solides) comprennent, sans toutefois s'y limiter:

- Le caractère hydrophile/hydrophobe
- La teneur en ions
- Le pH
- La température (température froide p/r à température ambiante et conditions de transformation)
- La surface de contact
- La composition du contenant ou du composant
- La stérilisation en stade terminal
- Le processus de conditionnement
- La stérilisation des composants
- La durée de l'entreposage. **[15]**.

Tableau 2.2: Concentrations admissibles des impuretés élémentaires [15].

| Élément | Groupe | Concentration par voie orale µg/g | Concentration par voie parentérale µg/g | Concentration par inhalation µg/g |
|---------|--------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|
| Cd | 1 | 0,5 | 0,2 | 0,2 |
| Pb | 1 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| As | 1 | 1,5 | 1,5 | 0,2 |
| Hg | 1 | 3 | 0,3 | 0,1 |
| Co | 2A | 5 | 0,5 | 0,3 |
| V | 2A | 10 | 1 | 0,1 |
| Ni | 2A | 20 | 2 | 0,5 |
| Tl | 2B | 0,8 | 0,8 | 0,8 |
| Au | 2B | 10 | 10 | 0,1 |
| Pd | 2B | 10 | 1 | 0,1 |
| Ir | 2B | 10 | 1 | 0,1 |
| Os | 2B | 10 | 1 | 0,1 |
| Rh | 2B | 10 | 1 | 0,1 |
| Ru | 2B | 10 | 1 | 0,1 |
| Se | 2B | 15 | 8 | 13 |
| Ag | 2B | 15 | 1 | 0,7 |
| Pt | 2B | 10 | 1 | 0,1 |
| Li | 3 | 55 | 25 | 2,5 |
| Sb | 3 | 120 | 9 | 2 |
| Ba | 3 | 140 | 70 | 30 |
| Mo | 3 | 300 | 150 | 1 |

2.5. Incidences de la toxicité des impuretés

Ces impuretés, présentes dans les excipients aussi bien que dans les substances actives utilisées dans les médicaments, peuvent engendrer des conséquences plus ou moins graves et plus ou moins réversibles en termes de santé publique. Ces effets toxiques peuvent de plus s'exprimer aussi bien faiblement et de façon très localisée, que toucher un organe entier, voire l'organisme au complet, avec plus ou moins de virulence.

Cette toxicité est à prendre en compte de façon encore plus importante pour les médicaments destinés à être administrés uniquement à des patients dont l'organisme est déjà soumis à des stress ou des complications non physiologiques. Les effets toxiques peuvent donc être potentialisés du fait de cet état général déficient présenté par les patients [14].

Les solvants peuvent pénétrer dans l'organisme suivant des voies différentes :

- voie otorhinolaryngologique (inhalation)
- voie transdermique (contact cutané)
- voie orale (ingestion accidentelle)

- voie parentérale (injection accidentelle dans la circulation sanguine).

Si les impuretés ne sont éliminées vont subir dans l'organisme un certain nombre transformations biochimiques appelées globalement métabolisme. Celui-ci s'effectue principalement au niveau du foie et conduit très souvent à des produits plus hydrosolubles que les composés de départ et donc plus facilement excrétés par les reins. On a affaire dans ce cas à un processus de détoxification. Celui-ci est bénéfique pour l'organisme, mais la capacité d'élimination de ces produits est variable suivant les individus. Cependant, cette détoxification peut se compliquer au cours du métabolisme en faisant apparaître des intermédiaires biochimiques réactifs qui, s'ils n'ont pas la possibilité d'être éliminés par inactivation, vont détruire les constituants essentiels des cellules (protéines, lipides, acides nucléiques, etc.) et provoquer l'intoxication. Celle-ci peut aller des réactions allergiques (interaction avec certaines protéines) au cancer (attaque de l'ADN) en passant par des nécroses tissulaires (attaque de macromolécules cellulaires) [11].

Conclusion

Les impuretés élémentaires présentes dans les produits pharmaceutiques peuvent provenir de plusieurs sources; il peut s'agir de catalyseurs résiduels ajoutés intentionnellement au cours de la synthèse, ou elles peuvent exister sous forme d'impuretés [par exemple (p. ex.), à la suite d'interactions avec l'équipement de transformation ou le contenant et dispositif de fermeture, ou parce qu'elles sont présentes dans les composants du produit pharmaceutique]. Comme les impuretés élémentaires n'apportent aucun bienfait thérapeutique au patient, leur concentration dans le produit pharmaceutique doit être contrôlée afin qu'elle reste dans des limites acceptables.

La présente directive est divisée en trois parties :

- L'évaluation des données sur la toxicité des impuretés élémentaires potentielles.
- L'établissement d'une exposition journalière admissible (EJA) pour chaque élément dont la toxicité est préoccupante.
- L'adoption d'une approche fondée sur les risques pour contrôler les impuretés élémentaires présentes dans les produits pharmaceutiques.

Les requérants ne sont pas tenus de réduire les limites en fonction de la capacité du procédé, à condition que les impuretés élémentaires présentes dans les produits

Chapitre 2 : Les impuretés dans les produits pharmaceutiques

pharmaceutiques ne dépassent pas les EJA. On considère que les EJA établies dans la présente directive protègent la santé publique de toutes les populations de patients.

Dans certains cas, des concentrations d'impuretés élémentaires plus faibles peuvent être justifiées lorsque l'on a démontré que les concentrations inférieures au seuil de toxicité ont une incidence sur d'autres caractéristiques de qualité du produit pharmaceutique (p.ex., une dégradation de la substance pharmaceutique catalysée par un élément) [15].

*Chapitre 3:
Matériel et
méthodes
expérimentales*

Introduction

Les impuretés constituent un écueil vis-à-vis de la qualité des produits pharmaceutiques. Un contrôle physicochimique rigoureux permet d'aboutir à la connaissance de ces matières indésirables.

En effet, cette partie d'étude est réservée au contrôle analytique de nos échantillons, réalisée en deux parties : d'un côté, les tests physicochimiques, et de l'autre les tests microbiologiques utilisés dans le contrôle de médicament définies par les différentes pharmacopées.

3.1. Cadre d'étude

Le Laboratoire National de Contrôle de Produit Pharmaceutique (LNCPP) et les laboratoires physicochimiques et microbiologiques de l'unité Antibiotical – Médéa- spécialisé dans la fabrication d'une gamme des génériques tels que des antibiotiques et des anti-inflammatoires, constituent notre cadre d'étude.

3.2. Matériel

3.2.1. Appareils, Equipements et Verreries

L'ensemble des appareils, équipements, et verreries utilisés lors de la réalisation des différents tests sont reportés sur le tableau 3.1.

Tableau 3.1. Les différents types des appareils, équipements, et verreries utilisés.

| Appareils / équipements/ Verreries | Marque |
|---|----------------------------|
| HPLC | Empower tm 3 software |
| Ultrason | Fisher Scientific FB 15052 |
| pH mètre | Metrohm 827 pH lab |
| Une balance électronique de précision | Sartorius |
| Duromètre | SOTAX |
| Dissolutest | SOTAX AT7 SMART |
| Spectrophotomètre IR | PERKIN ELMER |
| Délitest | ERWEKA |
| Incubateurs de à 25°C, 35°C, et 42°C. | |
| Appareil de mesure de l'humidité de type Karl Fischer | |

| | |
|--|----------------------------|
| Spectrophotomètre ultraviolet(UV)-Visible | Perkin Elmer |
| Ultrason | Fisher Scientific FB 15052 |
| Agitateur. | MY MAG Blackline |
| Centrifuge. | HOPSON 4251 |
| Hotte à flux laminaire. | |
| Filtre hydrophile de porosité 0,45µm | |
| Eprouvettes | |
| Entonnoirs et erlenmeyers (25ml, 100ml, 250ml) | |
| Mortiers et pilons | |
| Béchers (25ml, 100ml, 250ml) | |
| Micropipettes et Pipettes (25ml, 100ml, 250ml) | |
| Spatules | |
| Barreaux aimantés | |

3.2.2. Réactifs chimiques et biologiques

L'ensemble des réactifs chimiques et biologiques utilisés lors de réalisations des différents tests sont reportés sur le tableau 3.2.

Tableau 3.2. Les différents réactifs chimiques et biologiques utilisés

| Réactifs chimiques | Réactifs biologiques |
|---|---------------------------|
| L'acétonitrile de marque grade HPLC SIGMA ALDRICH grade HPLC | Soja agar stérile |
| Méthanol pour analyse de marque grade HPLC SIGMA | Sabouraud agar stéril. |
| L'acide ortho phosphorique pour analyses de marque SIGMA ALDRICH | Milieux de culture |
| Le sodium dihydrogénophosphate monohydraté pour analyses de marque Empower tm3 software grade HPLC | Soja bouillon stérile. |
| Un étalon d'amoxicilline tri hydratée de pureté 98,78% (numéro de lot C09110, date de péremption 10/2017) | Mannitol sel (CHAPMA). |
| Un étalon d'Ibuprofène de pureté 99.31% grade 350 (numéro de lot12BP101, date de péremption 10/2017). | Cétimide agar base (CAB). |

| | |
|---------------|-------------------------|
| NaOH, HCl | Macconkey gélose (MCA). |
| Eau distillée | Milieu gélose K (XLD). |

3.2.3. Echantillons contrôlés

Il s'agit de quatre lots de médicament générique dont deux lots d'antibiotiques et deux lots d'anti inflammatoire.

L'échantillon des antibiotiques est composé de deux lots d'amoxicilline dont l'un est un comprimé dispersible dosé à 500mg et l'autre gélule dosé à 500mg.

L'échantillon des anti inflammatoires est composé de deux lots d'ibuprofène en robés dosés à 400mg.

Tableau 3.3. Données d'identifications sur les différents échantillons contrôlés

| Numéro de Lot | 140105 | 150601 | Sz141 | 150436 |
|--------------------|--|---|--|--------------------|
| DCI | ibuprofène | amoxicilline | amoxicilline | ibuprofene |
| Nom Commercial | IBUPROFEN | AMOLIN | BACTOX | BRUFEN |
| Fabricant | khumpharma | Prost pharma | Innothera chouzy | ZMC |
| Pays | Pays -bas | Chine | France | Chine |
| Excipients | Amidon de mais, sillice colloïdale anhydre ; amidon de mais pregelatinisé ; acide stearique ; amidon de mais desséché ; vernis opaglos regular ; gomme arabe ; saccharose ; carmellose sodique ; | Hypromellos e, cellulose microcristalline, dioxyde de silicium, talc, amidon carboxyméth ylique de sodium, et stearete de magnésium | Stéarate de magnésium Tete de la gelule : erythrosine ; Indigotine ; dioxyde de titane(E171) gelatine oxyde de fer noir Corps de | Non Rapporté |
| Date de péremption | 01/2014 01/2017 | 06/2015 05/2018 | 03/2015 02/2017 | 04/2015 04/2018 |

| | | | | |
|----------------------|-----------------------------------|------------------------|--------------|-----------------------------------|
| Dosage mg | 400mg | 500mg | 500mg | 400mg |
| Forme pharmaceutique | Comprimés enrobés | Comprimés dispersibles | gélules | Comprimés enrobés |
| Classe thérapeutique | Anti inflammatoire non stéroïdien | Antibiotique | Antibiotique | Anti inflammatoire non stéroïdien |

3.2.3.1. Caractéristiques physicochimiques de l'amoxicilline

a. Structure

Nomenclature: acide (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-amino-2-(4-hydroxyphényl) -acetyl] amino-3,3-diméthyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxyliquetrihydretée présente la structure suivante [17].

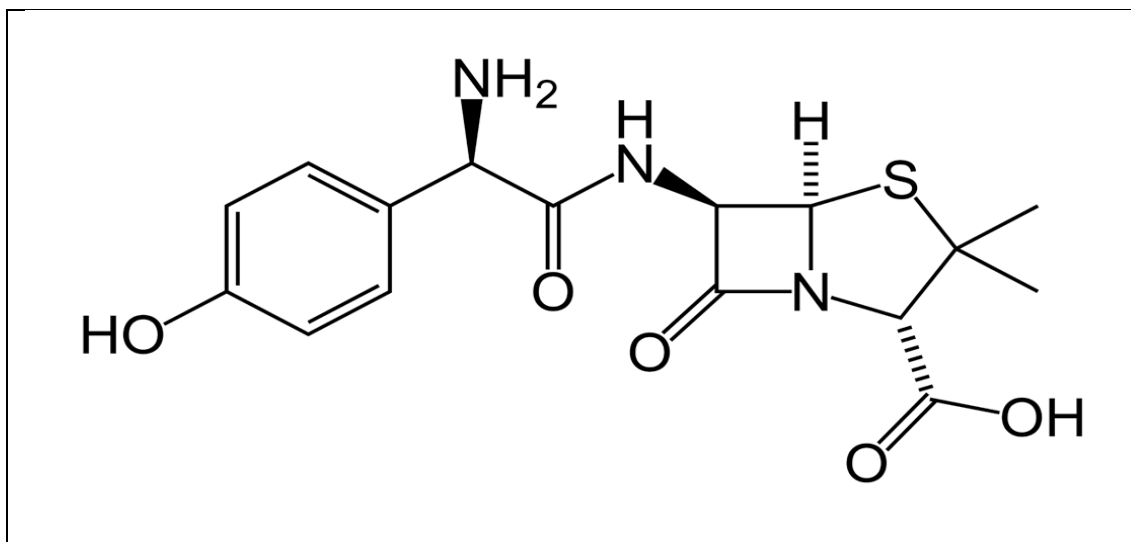


Figure 3.1. La structure chimique de l'amoxicilline [17].

b. Caractères

L'amoxicilline est une poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche.

- Point de fusion: 194 °C
- Masse moléculaire: 365,4 g/mol
- Formule brute: C₁₆H₁₉N₃O₅S

c. Solubilité

Peu soluble dans l'eau, très peu soluble dans l'éthanol à 96%, pratiquement insoluble dans les huiles grasses. L'amoxicilline trihydratée se dissout dans les acides dilués et dans les solutions diluées d'hydroxydes alcalins [17].

d. pharmacologie

L'amoxicilline, dérivé de la pénicilline semi synthétique, est un antibiotique bêtalactamine bactéricide de la famille des aminopénicillines indiqué dans le traitement des infections bactériennes à germes sensibles, son spectre élargi vers les bacilles gram (-) et certains bacilles gram(+). C'est un analogue de l'ampicilline (dérivé 4-hydroxy de l'ampicilline). L'amoxicilline résiste à l'inactivation par l'acidité gastrique. Elle est rapidement et complètement absorbée et cela mieux que l'ampicilline. De plus la présence d'aliments dans l'estomac n'influence pas son absorption [17].

L'amoxicilline présente un intérêt thérapeutique tout particulier dans les indications suivantes: otites moyennes aiguës de l'adulte, sinusites maxillaires aiguës et autres formes de sinusites, surinfections de bronchites aiguës du patient à risque, notamment éthylique chronique, tabagique... Comme pour toutes les pénicillines elle ne doit pas être administrée aux gens hypersensibles à la pénicilline [17].

e. Mode d'action

Les bêtalactamines inhibent la synthèse de la paroi bactérienne en se fixant sur les protéines liant les pénicillines. Ces protéines sont des carboxypeptidases et des transpeptidases nécessaires à la liaison entre les chaînes latérales des peptidoglycanes. L'inhibition d'une ou plusieurs de ces enzymes fait accumuler des précurseurs de peptidoglycanes qui activent le système autolytique de la bactérie et entraînent sa lyse [17].

3.2.3.2. Caractéristiques chimiques de l'ibuprofène**a. Structure**

Nomenclature: **acide (RS)-2-[4-(2-méthylpropyl)phényl]propanoïque**

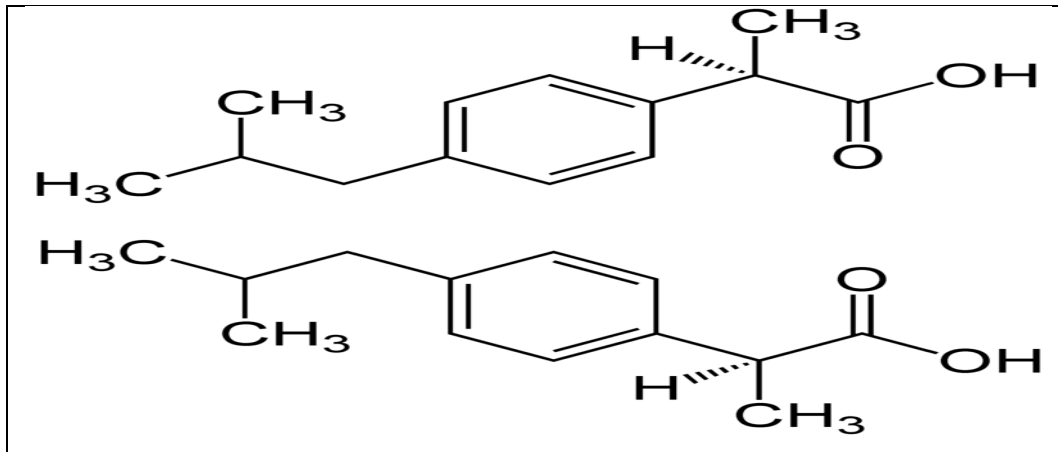


Figure 3.2. La structure chimique de l'ibuprofène [17].

b. Caractères

L'ibuprofène est une Poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche ou cristaux incolores.

➤ Identification

- Point de fusion: 76 °C
- Masse moléculaire: $206,2808 \pm 0,0123$ g/ mol
- Formule brute: $C_{13}H_{18}O_2$

c. Solubilité

Pratiquement insoluble dans l'eau, facilement soluble dans l'acétone, dans le méthanol et dans le chlorure de méthylène. L'ibuprofène se dissout dans les solutions diluées d'hydroxydes et de carbonates alcalins [17].

d. Pharmacologie

- **Anti inflammatoire:** correction des symptômes
- **Antalgiques :** opiacés, non addictifs, en partie indirect: conséquence de l'effet anti- inflammatoire
- **Antipyrétiques:** diminution de température corporelle si fièvre, pas d'effet à temps, normale ou si hyperthermie.
- Inhibition formation centrale (thalamique) des PG par pyrogènes bactériens
- Vasodilatation
- **Antiagrégants**

e. Mécanismes d'action

L'ibuprofène est un inhibiteur non sélectif de la prostaglandine synthase, également appelée cyclo-oxygénase (COX). Cette enzyme catalyse la première étape de la synthèse des médiateurs de l'inflammation: prostaglandines et thromboxanes. L'ibuprofène, comme de nombreux autres AINS, limite ainsi l'activation de cette voie par un mécanisme d'inhibition des deux familles de cyclo-oxygénase [17].

3.3. Méthodes physico-chimiques**3.3.1.Solubilité**

La solubilité est le volume de liquide nécessaire pour dissoudre une quantité donnée d'un constituant dans des conditions données.

Le développement de la biopharmacie a clairement démontré l'influence déterminante de la solubilité des molécules sur leur mise à disposition de l'organisme, et donc leur activité.

Pour le galéniste, les théories sur la solubilité sont d'une grande utilité, il se doit de les connaître pour aborder aussi bien les problèmes technologiques que biopharmaceutiques [16].

3.3.2. Uniformités de masse**3.3.2.1. Intérêt [17,18].**

L'essai d'uniformité de masse des Cp non enrobés permet de s'assurer qu'au cours de la fabrication, la répartition du mélange initial de poudre ou de granulés, en unités de prises (chaque Cp), a été suffisamment précise et uniforme pour garantir une même masse et donc une même teneur en PA pour l'ensemble des comprimés d'un même lot.

Cet essai fait partie des méthodes proposées par les pharmacopées pour vérifier l'uniformité des préparations unidoses que sont les comprimés enrobés.

3.3.2.2.Principe

Le test d'uniformité de masse appliqué aux Cp non enrobés d'un même lot, consiste à vérifier, que les poids individuels d'un nombre spécifié de Cp prélevés sur le lot, se

trouvent dans un intervalle étroit autour du poids moyen des comprimés de l'échantillon prélevé [17,18].

3.3.2.3. Mode opératoire

Peser individuellement à l'aide d'une balance de précision, 20 comprimés prélevés au hasard sur le lot de chaque spécialité contrôlé. Déterminer ensuite la masse moyenne de ces 20 Cp à laquelle on compare la masse individuelle de chaque comprimé [17,].

3.3.3. Dissolution [18]

3.3.3.1. Intérêt

Le test de dissolution in vitro appliqué aux comprimés, permet de s'assurer, qu'une fois administrés, ces derniers libèreront le PA qu'ils contiennent; pour le mettre à la disposition de l'organisme, et ceci dans les limites de concentration et de vitesse déterminées, afin de garantir l'effet thérapeutique désiré.

Utilisé en contrôle de routine de la production, le test de dissolution in vitro permet aussi de démontrer la reproductibilité du procédé de production, la conformité du produit fini avec les lots précédents (reproductibilité inter lot) et d'apprécier la variabilité à l'intérieur d'un même lot de fabrication (reproductibilité intra lot).

3.3.3.2. Principe

L'essai de dissolution in vitro appliqué aux comprimés est destiné à déterminer leur plus ou moins grande aptitude à laisser passer en solution dans un milieu déterminé, le ou les PA qu'ils contiennent. Le passage en solution est apprécié par dosage du PA dans des échantillons prélevés dans le milieu de dissolution à intervalles de temps différents.

Le test de dissolution in vitro des comprimés est le principal essai réalisé pour contrôler la «disponibilité in vitro» du PA qu'ils contiennent. Ainsi, lorsqu'un essai de dissolution est prescrit, un essai de désagrégation peut ne pas être exigé.

3.3.3.3. Appareil

Les pharmacopées préconisent 4 types d'appareils pour réaliser le test de dissolution in vitro des formes pharmaceutiques orales solides :

- L'appareil à palette tournante
- L'appareil à panier tournant
- L'appareil à cylindres réciproques
- L'appareil à flux continu
 - L'appareil à cylindres réciproques a été particulièrement développé pour étudier la dissolution des formes multi particulaires à libération prolongée.
 - L'appareil à flux continu est plus particulièrement destiné à étudier les formes à libération modifiée et les formes multi particulaires
 - L'appareil à palette tournante et l'appareil à panier tournant sont quant à eux plus adaptés pour réaliser le test de dissolution in vitro des formes pharmaceutiques orales solides à libération immédiate que sont les comprimés enrobés. l'appareil à palette tournante est constitué de:

Un récipient cylindrique à fond hémisphérique, d'une capacité de 1000millilitres, en verre borosilicaté ou en un autre matériau transparent, approprié. Le récipient est muni d'un couvercle évitant l'évaporation et comportant un orifice central destiné au passage de la tige de l'agitateur ainsi que de plusieurs autres orifices permettant l'introduction d'un thermomètre et celle des dispositifs de prélèvement du liquide. C'est au fond du récipient que sont placés les comprimés à contrôler ;

- un agitateur: constitué d'une tige verticale à la partie inférieure de laquelle est fixée une palette dont la forme correspond insérée au centre de la tige de façon que sa base soit exactement au niveau de l'extrémité de la tige; la tige est placée de façon que son axe ne s'écarte pas de plus de 2 mm de celui du récipient et que la partie inférieure de la palette soit située à une distance de 25 ± 2 mm du fond intérieur du récipient ; la partie supérieure de la tige de l'agitateur est reliée à un moteur muni d'un à celle de la portion d'un cercle délimitée par deux plans parallèles. La palette est régulateur de vitesse; la rotation de l'agitateur est uniforme, sans oscillation importante ;
- Un bain d'eau thermostaté qui permet de maintenir la température du milieu de dissolution à $37 \pm 0,5$ °C pendant l'essai.
- L'appareil à panier tournant est constitué de: Un récipient identique à celui décrit pour l'appareil à palette
- un agitateur constitué par une tige verticale à la partie inférieure de laquelle est fixé un panier cylindrique ; le panier se compose de 2 parties ; la partie

supérieure est une plaque percée d'un orifice de 2 mm soudée à la tige de l'agitateur ; la partie inférieure, cylindrique, est constituée par une toile soudée ; sauf indication contraire, les fils ont un diamètre de 0,254 mm et l'ouverture des mailles carrées est de 0,381 mm ; elle est bordée à chaque extrémité par une étroite bande métallique; la partie inférieure qui est amovible, est destinée à recevoir l'échantillon à examiner.

Elle se fixe sur la partie supérieure du panier par 3 attaches-ressorts, ou par tout autre moyen approprié permettant de la maintenir en place pendant la rotation de telle sorte que son axe et celui du récipient coïncident ; pour les essais en milieu acide dilué, un panier à placage d'or de 2,5 μm d'épaisseur peut être utilisé ; la distance entre le panier et le fond intérieur du récipient doit être de $25 \pm 2\text{mm}$; la partie supérieure de la tige de l'agitateur est reliée à un moteur muni d'un régulateur de vitesse; la rotation de l'agitateur est uniforme, sans oscillation importante ;

Un bain d'eau thermostaté qui permet de maintenir la température du milieu de dissolution à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

En pratique, la plupart des appareils de test de dissolution in vitro disposent à la fois de plusieurs compartiments (au moins 6) de récipients, d'agitateurs qui permettent de réaliser au même moment le test sur plusieurs comprimés à la fois. On parlera dans ce cas d'appareils à plusieurs palettes tournantes ou à plusieurs paniers tournants.

3.3.3.4. Modes opératoires [18]

a. Protocole de test de dissolution d'amoxicilline gélule BACTOX

Nous avons réalisé le test de dissolution de la gélule d'amoxicilline en utilisant l'appareil à paniers. Ce test a été réalisé dans les conditions suivantes :

- Durée de l'essai : **60 min** ;
- Milieu de dissolution : **eau distillée**;
- Volume du milieu de dissolution : **900 ml** ;
- Température du milieu de dissolution : **$37 \pm 0,5^\circ\text{C}$** ;
- Vitesse de rotation du panier : **100 rotations par minute** (la partie inférieure de la palette étant maintenue pendant l'essai à une distance de **$25 \pm 2\text{mm}$** du fond intérieure du récipient) ;
- Volume de prélèvement du milieu de dissolution : **5 ml** (prélèvement manuel à l'aide d'une pipette en verre du milieu de dissolution dans une zone située à

mi-distance entre la surface du milieu de dissolution et le haut du panier à 10mm au moins de la paroi du récipient) ;

- Prélèvement : à **60 minutes**
- Nombre de prélèvement : unique
- Nombre de gélules prélevées : **6**.
- A la fin de l'essai, 5ml de la solution ont été prélevées et filtrées, puis diluées dans 20 ml d'eau distillée.
- Déterminer la quantité d'amoxicilline ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) dissoute en utilisant l'absorption UV à la longueur d'onde d'absorbance maximale d'environ 272nm en comparaison avec une solution standard ayant une concentration connue dans le même milieu.

➤ **Préparation de la solution de témoin de référence**

Dissoudre 18,1 mg d'amoxicilline standard dans 100 ml d'eau distillée.

Tolérances: pas moins de 80% de la quantité étiquetée d'amoxicilline ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) est dissoute en 60 minutes.

b. Protocole de test de dissolution de l'amoxicilline comprimé AMOLIN

Nous avons réalisé le test de dissolution du Comprimé d'amoxicilline en utilisant l'appareil à palette décrit précédemment. Ce test a été réalisé dans les conditions suivantes :

- Durée de l'essai : **30 min** ;
- Milieu de dissolution : **eau distillée**;
- Volume du milieu de dissolution : **900 ml** ;
- Température du milieu de dissolution : **$37 \pm 0,5$ °C** ;
- Vitesse de rotation de la palette : **75 rotations par minute** (la partie inférieure de la palette étant maintenue pendant l'essai à une distance de **25 ± 2 mm** du fond intérieure du récipient) ;
- Volume de prélèvement du milieu de dissolution : **4 ml** (prélèvement manuel à l'aide d'une pipette en verre du milieu de dissolution dans une zone située à mi-distance entre la surface du milieu de dissolution et le haut de la palette à 10mm au moins de la paroi du récipient) ;
- Prélèvement à : **30 minutes**

- Nombre de prélèvement : unique
- Nombre de Cp prélevés : 6.

A la fin de l'essai, 4 ml de la solution ont été prélevées et filtrées, puis diluées dans 100 ml de tampon pH= 5

➤ **Préparation de la solution tampon : phosphate buffer pH= 5**

Dissoudre 27,2 g de KH_2PO_4 dans environ 3 l d'eau distillée. Ajuster le pH à 5 avec une solution de KOH 45%, goutte à goutte. Compléter la solution avec de l'eau distillée, jusqu'au trait de jauge de la fiole de 4 l.

➤ **Préparation de la solution de témoin de référence**

Dissoudre 12,5 mg d'amoxicilline standard dans 25 ml de solution tampon. On obtient ainsi une solution de concentration **0,045 mg/ml**.

Dosons par HPLC dans les conditions suivantes :

Phase mobile : Acetonitrile et Buffer (1 :39)

Détecteur : UV 230 nm

Colonne : 3.9 mm × 30 cm

Température de la colonne : 40 ± 1 °C

Débit : 0,7 ml min

Volume d'injection : 10 uL

Tolérances: pas moins de 80% de la quantité étiquetée d'amoxicilline en 30min.

c. Protocole de test de dissolution de BRUFEN et d'IBUPROFEN

Préparation de la solution tampon : phosphate buffer pH= 7,2

Dissoudre 54,436 g de KH_2PO_4 dans environ 1,5l d'eau distillée. Ajuster le pH à 7,2 avec une solution de NaOH 10 M, goutte à goutte. Compléter la solution avec de l'eau distillée.

• **Préparation de la solution de témoin de référence**

Dissoudre 44 mg d'ibuprofène standard dans 100 ml de solution tampon. On obtient ainsi une solution de même concentration que la solution échantillon

• **Conditions opératoires**

Nous avons réalisé le test de dissolution des comprimés enrobés d'ibuprofène en utilisant l'appareil à palette décrit précédemment. Ce test a été réalisé dans les conditions suivantes :

- Durée de l'essai: 60 min
- Milieu de dissolution : solution phosphate buffer pH=7,2 ;
- Volume du milieu de dissolution : 900 ml
- Température du milieu de dissolution : $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$;
- Vitesse de rotation de la palette : 50 rotations par minute (la partie inférieure de la palette étant maintenue pendant l'essai à une distance de $25 \pm 2\text{mm}$ du fond intérieure du récipient) ;
- Volume de prélèvement du milieu de dissolution: 100 ml (prélèvement manuel à l'aide d'une pipette en verre du milieu de dissolution dans une zone située à mi-distance entre la surface du milieu de dissolution et le haut de la palette à 10mm au moins de la paroi du récipient) ;
- Prélèvement : 60 minutes
- Nombre de prélèvement : unique
- Nombre de Cp prélevés : 6 par lot d'échantillon contrôlé.

Au cours du test de dissolution, nous avons déterminé le pourcentage de DB dissoute à partir de chaque Cp, en mesurant à 261 nm la DO des milieux de dissolution, précisons non dilués, et d'une solution témoin de référence (STR). Les différents milieux de dissolution non dilués ont été filtrés par des filtres de porosité $0,45\mu\text{m}$ avant la mesure la DO à 261 nm.

3.3.4. Désintégration (test de désagrégation)

3.3.4.1.Intérêt

Le test de désagrégation des comprimés permet de s'assurer, que leur vitesse de désagrégation ne constitue pas le facteur limitant la dissolution du PA qu'ils contiennent [18].

3.3.4.2. Principe

Le test de désagrégation appliqué aux comprimés, est destiné à déterminer leur plus ou moins grande aptitude à se désagréger, en milieu liquide, dans un temps prescrit et dans des conditions expérimentales bien définies [17].

Le test de désagrégation des comprimés fait partie des essais pour contrôler la «disponibilité in vitro » du PA qu'ils contiennent [19].

3.3.4.3. Appareillage

En fonction des dimensions des comprimés à analyser, deux types d'appareils sont utilisés pour le test de désagrégation :

Pour les comprimés de dimensions normales (inférieures à 18 mm), on utilise l'appareil A pour le test de désagrégation. La partie principale de ce l'appareil est constituée par un assemblage rigide supportant 6 tubes cylindriques transparents. Chaque tube a une longueur de $77,5 \pm 2,5$ mm et un diamètre intérieur de 21,5 mm. Chacun de ces tubes est pourvu d'un disque cylindrique (diamètre $20,7 \pm 0,15$ mm et épaisseur $9,5 \pm 0,15$ mm) en matière plastique transparente. Les tubes sont maintenus verticaux par 2 plaques séparées, superposées, en matière plastique rigide et percées chacune de 6 trous. Sous la plaque inférieure est fixée une toile métallique en fils d'acier inoxydable. La plaque supérieure porte fixée en son centre, une tige métallique qui permet de relier l'assemblage à un dispositif mécanique destiné à assurer un mouvement vertical, alternatif et régulier dont l'amplitude est de 50 mm à 60 mm ; le nombre de déplacements complets (montée-descente) est de 29 à 32 par minute. L'appareil est plongé dans un liquide de délitement (eau distillée) contenu dans un vase cylindrique de 1 litre ou dans tout autre récipient convenable. Le volume de liquide à verser dans le récipient est tel que, lorsque l'assemblage est dans la position la plus élevée, le tamis métallique est au moins à 15 mm en dessous de la surface du liquide et, lorsque l'assemblage est dans sa position la plus basse, le tamis est au moins à 25 mm du fond, les extrémités supérieures des tubes ouverts demeurant au-dessus de la surface du liquide. Un dispositif adéquat maintient la Température de l'ensemble à $37 \pm 2^\circ\text{C}$.

Pour les comprimés de grandes dimensions (supérieures à 18 mm), on utilise pour le test de désagrégation, l'appareil B. Ce dernier est semblable à l'appareil A, mais ne comporte que 3 tubes cylindriques transparents de diamètre intérieur $33,0 \pm 0,5$ mm.

Le disque cylindrique de l'appareil B a un diamètre de $31,4 \pm 0,13$ mm et une épaisseur de $15,3 \pm 0,15$ mm [18,19].

3.3.4.5. Mode opératoire

Prélever 6 comprimés du lot de chaque spécialité contrôlée, placer chacun d'eux dans l'un des 6 tubes de l'appareil de désagrégation. Introduire ensuite l'assemblage des 6 tubes dans le vase cylindrique de 1 litre contenant environ 720 ml d'eau distillée qui est

le liquide de délitement maintenu à $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ durant l'essai. Faire fonctionner l'appareil pendant 15 min puis examiner l'état des comprimés analysés [17].

3.3.5. Friabilité

3.3.5.1. Intérêt

Le test de friabilité permet de s'assurer que les comprimés présentent une résistance mécanique suffisante, pour que leurs surfaces ne soit pas endommagées ou ne présentent pas des signes d'abrasion ou de rupture, sous l'effet de toutes les manipulations (chocs mécaniques, frottements, attrition) qu'ils vont subir jusqu'au moment de leur utilisation [17].

3.3.5.2.Principe

Le test de friabilité appliqué à un certain nombre de comprimés, consiste à apprécier la perte de masse de ces comprimés, sous l'effet des frottements et des chutes qui leurs ont été imposés dans certaines conditions [17].

3.3.5.3. Appareillage

L'appareil utilisé pour le test de friabilité des comprimés est décrit dans la PE04, la PA-07 et la PB-07. Il s'agit d'un tambour rotatif d'un diamètre intérieur de 283 mm à 291 mm et d'une hauteur de 36 mm à 40 mm, constitué d'un polymère synthétique transparent à surfaces intérieures polies ne produisant pas d'électricité statique. L'une des faces du tambour est amovible. A chaque rotation, les comprimés sont projetés du centre du tambour vers la paroi extérieure, selon une trajectoire curviligne de rayon intérieur compris entre 75,5 mm et 85,5 mm. Le tambour est monté sur l'axe horizontal d'un dispositif d'entraînement dont la vitesse de rotation est de 25 ± 1 tr/min

3.3.6. Dureté

3.3.6.1. Intérêt

Cet essai est destiné à déterminer, dans des conditions définies, la résistance à la rupture des comprimés, mesurée par la force nécessaire pour provoquer leur rupture par écrasement.

La dureté des comprimés est un paramètre qui influence le délitement, pour cela il doit être contrôlé à intervalle de temps régulier au cours de la compression pour ajuster la force de compression si nécessaire [17].

3.3.6.2.Principe

La détermination de la dureté d'un comprimé enrobé se fait en mesurant l'intensité de la force qui lui est diamétralement appliquée pour provoquer sa rupture par écrasement [18].

3.3.6.3.Appareil

L'appareil est constitué de 2 mâchoires se faisant face, l'une se déplaçant vers l'autre.

La surface plane des mâchoires est perpendiculaire au sens du déplacement.

La surface d'écrasement des mâchoires est plane et plus grande que la zone de contact avec le comprimé. L'appareil est étalonné à l'aide d'un système précis à 1 newton près [18].

3.3.6.4.Mode opératoire

Placez le comprimé entre les mâchoires en tenant compte, le cas échéant, de sa forme, de la barre de cassure et de la gravure.

Pour chaque détermination, orientez-le comprimé de la même façon par rapport à la direction d'application de la force.

Effectuez la mesure sur 10 comprimés, en prenant soin d'éliminer tout débris de comprimés avant chaque détermination [18].

3.3.7.Détermination de la teneur en eau par la méthode titrimétrique(Karl Fischer)

La détermination de la teneur en eau dans les comprimés peut se faire par :

La méthode de microdosage de l'eau ou méthode de Karl Fischer appliquée aux comprimés. Cette méthode analytique est un titrage coulométrique de l'eau qui repose sur une réaction quantitative de l'eau contenue dans un Cp avec du dioxyde de soufre et de l'iode dans un milieu anhydre, en présence d'une base qui présente une capacité tampon suffisante. La quantité d'eau contenue dans le comprimés est

directement proportionnelle à la quantité d'électricité jusqu'au point de fin de titrage. Le dosage se fait dans un appareil décrit dans les pharmacopées.

La méthode de perte à la dessiccation qui consiste à peser une quantité spécifiée de poudre de comprimés, avant et après un procédé de séchage et à exprimer la perte de masse en pourcentage de la masse initiale de poudre de comprimés séchée. La perte de masse correspond à la quantité d'eau s'étant évaporée au cours du séchage. Le séchage peut se faire de différentes manières (chaleur sèche, chaleur sèche sous vide, infrarouge, déshydratant sous vide) dans un appareil incluant une balance de grande sensibilité.

La détermination de la teneur en eau, n'est pas un essai systématiquement exigé pour tous les comprimés. Il est exigé en fonction de la nature du PA et du procédé de fabrication des comprimés. Des normes de teneur en eau sont fixées dans la monographie du Cp de certains PA [18,19].

3.3.8. Test d'identification du PA

L'identification d'un PA contenu dans un médicament, a pour but de s'assurer que ce dernier contient bel et bien le PA spécifié par le fabricant. Par cet essai, il est possible de déceler des médicaments contrefaits par substitution du PA [3].

L'identification d'un PA contenu dans un comprimé est une analyse de la composition qualitative du Cp, par des méthodes d'analyses physicochimiques spécifiques au PA à identifier. Les méthodes d'identification du PA les plus citées par les pharmacopées sont :

- La spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge
- La spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible
- La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)
- Chromatographie sur couche mince
- Les réactions chimiques caractéristiques du PA (réactions colorées en tube par exemple).

Par exemple, l'identification par HPLC d'un PA contenu dans un comprimé est conforme, si le pic principal du chromatogramme obtenu avec la solution de poudre du Cp analysé a le même temps de rétention que le pic du chromatogramme obtenu avec la solution de référence du PA à identifier [19].

3.1.1.1. Protocole d'identification d'Amoxicilline par CCM

Préparer une solution contenant l'équivalent de 4mg/ml du mélange de poudre d'amoxicilline par addition de l'acide chlorhydrique 0.1N. Laisser la solution se reposer pendant 5min.

Préparer une solution d'amoxicilline standard contenant 4mg/ml toujours dans l'acide Hcl 0.1N.

Déposer séparément 5µl des deux solutions: solution standard et échantillon sur plaque chromatographique, la plaque est couverte d'une couche de 0.25mm de silicagel.

Placer la plaque dans la chambre chromatographique. Laisser développer le chromatogramme avec un mélange composé de (méthanol, chloroforme, eau et pyridine) dans des volumes suivants (90, 80, 30, 10) quand le solvant traverse $\frac{3}{4}$ de la chaleur de la plaque enlever la plaque, le sécher à l'air chaud pendant 10minutes, localiser les taches et asperger la plaque avec une solution alcoolique de ninhydrine 3mg/ml puis mettez-la dans l'étuve pendant 15minutes à 110°C [17].

3.3.8.1. Protocole d'identification d'ibuprofène par FTIR**a. Extraction**

Peser 0,5 g d'ibuprofène de chaque lot a contrôlé dans 20 ml d'acétone, filtrer et évaporer le filtrat dans un bain marie à 55-66°C.

Examinée de 240 nm à 300 nm à l'aide d'un spectrophotomètre dont la largeur de bande est de 1,0 nm et la vitesse maximale de balayage de 50 nm/min, la solution présente un épaulement à 258 nm et 2 maximums d'absorption respectivement à 264 nm et à 272 nm. Le rapport entre l'absorbance mesurée au maximum à 264 nm et celle mesurée à l'épaulement à 258 nm est de 1,20 à 1,30.

Le rapport entre l'absorbance mesurée au maximum à 272nm et celle mesurée à l'épaulement à 258 nm est de 1,00 à 1,10.

b. Formation de la pastille Ibuprofène - KBr

- Ajouter de la poudre KBr à une petite quantité d'ibuprofen.
- Verser le mélange dans le dispositif de formation de pastilles
- Bien fermer, et comprimer à 15 tonnes à l'aide de l'appareil de compression

- Enlever délicatement la pastille et la déposer sur la cellule pour lecture [19].

c. Lecture

3.3.9. Analyse (Dosage du PA)

Le test du dosage du PA permet de s'assurer que la quantité moyenne du PA déterminée sur un certain nombre de comprimés d'un même lot, se trouve dans les limites de concentration exigées par les pharmacopées, pour obtenir l'effet thérapeutique escompté.

A la différence du test d'uniformité de teneur qui s'intéresse à la quantité du PA dans chaque comprimé, le test du dosage du PA s'intéresse à la teneur moyenne du PA dans un nombre spécifié de comprimés.

La PA-12 et la PB-0 préconisent un nombre optimal de 20 comprimés pour le dosage du PA. Ce nombre de comprimés peut diminuer, mais ne doit jamais être inférieur à 5. 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 [18].

3.3.9.1. Protocole Dosage du PA de l'amoxicilline[18]

a. Préparation de la solution standard

Préparer une solution d'amoxicilline standard dans le diluant à 1.2mg/ml

b. Préparation de la solution échantillon

Vider le contenu de pas moins de 20 gélules, mélanger et transférer l'équivalent de 500mg d'amoxicilline d'anhydre dans une fiole de 200ml, dissoudre à l'aide du diluant, porter au volume puis faire passer au bain ultrason pour assurer une complète dissolution faire passer une portion à travers un filtre de fine porosité ou 1 μ m (1.45 μ m).

c. Préparation de la phase mobile

Introduire 13.6g de KH₂PO₄ dans une fiole de 2000ml, dissoudre avec l'eau distillée, ajuster le PH à +ou-5 à l'aide de KOH à 45%.

Utiliser les solutions préparées dans les 6 heures qui suivent la dissolution.

d. Condition opératoire

- Colonne : C18/4mm-250mm
- Débit : 1.5 ml/min
- Longueur d'onde : 230nm
- Volume d'injection : 10 μ l [18]

3.3.9.2. Protocole du Dosage d'ibuprofène

a. Préparation de la solution standard

Peser 200mg d'ibuprofène standard de référence dans une fiole de 100 ml.

Dissoudre et compléter au volume avec la phase mobile.

b. Préparation de la solution de l'échantillon

Peser 285mg d'échantillon dans une fiole de 100ml.

Ajouter 30ml de la phase mobile et agiter pendant 30min puis compléter avec la phase mobile.

Prélever 25ml de la solution précédente, centrifuger pendant 5min à 2500tr/min et injecter le surnageant de la solution.

c. Préparation de la phase mobile

La phase mobile se compose de : 3 Volume d'acido ortho phosphorique, 247 volume d'eau distillée et 750 volume de méthanol pour HPLC. Agiter et filtrer a travers une membrane de 0.45m.

d. Conditions opératoires

Injecter séparément 20 μ l de la solution standard et échantillon sous les conditions suivantes :

- Longueur d'onde λ : 264nm
- Colonne : PR C18 (4.5* 250mm) C
- Débit : 1.5 ml/min
- Température Ambiante

3.4. Identification et quantification des Impuretés

Cet essai consiste à identifier et/ou doser les substances apparentées et les produits de dégradation du PA contenu dans les comprimés. Les substances apparentées et les produits de dégradation du PA proviennent respectivement des étapes de synthèse du PA et des mauvaises conditions de conservation du PA. Ils sont considérés comme des impuretés qui peuvent avoir des effets toxiques sur le consommateur. Cet essai permet donc de :

- s'assurer que les teneurs en substances apparentées et produits de dégradation dans les comprimés, se situent dans les normes de concentrations tolérées par les pharmacopées
- D'évaluer la qualité de la matière première (PA) utilisée pour la production des comprimés.

Les pharmacopées proposent dans la monographie de chaque préparation, des méthodes validées d'identification et/ou de dosage des substances apparentées au PA, suivies de leurs critères d'acceptation. L'HPLC est l'une des méthodes d'analyse les plus utilisées pour identifier et /ou doser les substances apparentées au PA [14].

3.4.1. Essais d'identification et de dosage de diverses impuretés

En dehors des substances apparentées au PA, d'autres impuretés peuvent être recherchées dans les comprimés. Il peut s'agir de :

L'eau pouvant provenir des matières premières utilisées pour la fabrication des comprimés, du procédé de granulation utilisé (voie humide) ou de l'humidité atmosphérique. L'eau est considérée comme une impureté dans les formes pharmaceutiques sèches que sont les comprimés, car en plus d'être un facteur d'instabilité pour certains PA, elle peut faciliter la prolifération des micro-organismes.

Solvants résiduels (éthanol par exemple) ayant été utilisés à une étape quelconque de la production des comprimés.

D'autres impuretés suspectées (métaux lourds dans le PA, impuretés provenant des excipients, etc.) Peuvent être recherchées par des méthodes analytiques appropriées [14].

3.4.1.1. Mode opératoire**a. Protocole des Substances apparentées d'amoxicilline [20]**

- **Préparation de la solution A:**

2.72g/l de phosphate mono potassique. Ajuster avec de l'hydroxyde de potassium 1N acide phosphorique 20% à PH 5.0

- **Préparation de la solution B:**

Méthanol

Tableau 3.4. Gradients de la phase mobile

| Temps (min) | Solution (A%) | Solution (B%) |
|-------------|---------------|---------------|
| 0 | 97 | 3 |
| 10 | 97 | 3 |
| 22 | 75 | 25 |
| 26 | 97 | 3 |

- **Préparation de la solution standard :**

12.5g/ml d'amoxicilline standard dans la solution A.

- **Préparation de la solution de conformité de système :**

12.5g/ml d'amoxicilline de chaque amoxicilline substance de référence dans la solution A.

Solution à examiner : 12.5 g/ml de chaque lot a contrôlé dans la solution A.

Stocker la solution dans 4c et dans les 4heures qui suivent la préparation.

- **Système chromatographique :**

Longueur d'onde $\lambda = 230\text{nm}$

Colonne : 4.6nm **10-cm** (gel de silice octadécylsifylé pour chromatographie 5)

Température de la colonne : 40°C

Débit : 1.5ml/min

Volume a injecté : 10 μ l

Température d'auto injection: 4°C

- **Conformité du système :**

Echantillons : solution standard et solution de conformité de système.

Identifier les pics d'après le temps de rétention des impuretés.

Résolution: pas moins de 2.5 entre l'amoxicilline substance relative A et le second pic de l'amoxicilline substance relative D pour la solution de conformité du système.

Ecart type relatif : pas plus de 10% pour la solution standard.

- **Analyse:**

Solution standard et solution à examinée

3.5. Méthodes microbiologiques

Ces essais permettent de contrôler la qualité microbiologique des médicaments, en vérifiant que les limites de contaminations microbiennes, par lot contrôlé ne sont pas dépassées. Pour contrôler la qualité microbiologique d'un lot de Cp enrobés (sans matières premières d'origine naturelle), les pharmacopées préconisent.

Le dénombrement des germes aérobies viables totaux (bactéries, moisissures et levures) par la méthode de filtration sur membrane ou par dénombrement sur plaque. La recherche de ces germes se fait sur des échantillons de lots prélevés. L'échantillonnage se fait suivant plusieurs facteurs (taille du lot, risque sanitaire présumé et autres). Les limites de contaminations microbiennes à ne pas dépasser sont de 10³ bactéries et 10² moisissures et levures par gramme de comprimés d'un lot.

La recherche d'Escherichia coli par une méthode appropriée qui utilise une série bien ordonnée de milieux de culture sélectifs. Les pharmacopées ne préconisent que la recherche d'Escherichia coli soit négative : absence d'Escherichia coli sur 1 g de comprimés prélevé sur un lot.

Si les comprimés à examiner contiennent des PA à activité antimicrobienne (antibiotiques par exemple), celle-ci doit être neutralisée par des inactivateurs non toxiques à l'égard des micro-organismes recherchés [18,19].

Voici le protocole appliqué à notre travail [18]

- **Préparation des échantillons**

Peser 10g de l'échantillon à tester et, diluer dans premier flacon de 90 ml de solution de pH 7 stérile, puis agiter bien, pour l'homogénéisation.

Pour les deux tests, filtrons sur du papier filtre stérile, 10ml de la solution obtenue pour retenir le principe actif ;

3.5.1. Dénombrement des germes aérobies viable totaux

Déposer avec précaution ce papier à la surface d'une boîte de Pétri de milieu soja agar(SA).

Fait incuber la boîte de Pétri à 35C° pendant 05 jours.

3.5.2. Dénombrement des moisissures et levures

Procéder pour l'analyse comme précédemment en utilisant une boîte de Pétri du milieu sabouraud (SAB).

Incuber à 25C° pendant 07jours.

3.5.3. Recherche des micro-organismes spécifiques

- **Escherichia coli**

Prélever 10ml de la solution du 1^{er} flacon et diluer dans deuxième flacon de 90ml de milieu de soja bouillon (BS), faire l'agitation. Incuber à 30 à 35 C pendant 18 à 24h.

Lecture

- **Repiquage sur bouillon Macconkey**

Prélever 1ml de la solution précédente trouble et l'introduire dans 9 ml de bouillon Macconkey. 1ml de cette solution dans 9 ml de Mac Conckey liquide .Incuber entre 42 à 44 C pendant 24 à 48h.

- **Repiquage sur gélose Macconkey :**

Prélever à l'aide d'une anse de platine une goutte du bouillon Macconkey trouble et la repiquer sur gélose Macconkey. L'incuber à 35°C- 37°C, pendant 18 - 72h.

Lecture de la gélose Macconkey :

(La croissance de colonies rouges, généralement non-muqueuse, indique la présence probable de d'Escherichia coli).

Conclusion

La réalisation des méthodes analytiques constitue une étape clé de notre travail. Elle fournit des résultats donnant lieu à des interprétations et discussions.

*Chapitre 4:
Résultats et
discussion*

Dans cette partie, nous rapportons nos résultats expérimentaux ainsi que leurs interprétations. Nous discutons respectivement les résultats relatifs aux analyses physico-chimiques, et à la recherche des impuretés.

4.1. Contrôles analytiques

4.1.1. Caractéristiques organoleptiques

Les observations macroscopiques relatives aux caractères organoleptiques des échantillons sont illustrées dans le tableau 4.1.

Tableau 4.1. Caractères organoleptiques des échantillons contrôlés

| Echantillons Caractères | BRUFEN | IBUPROFEN | AMOLIN | BACTOX |
|--|-----------------|------------------|---|----------------|
| Forme galénique | Comprimé enrobé | Comprimé enrobé | Comprimé nu, non gravé, de forme houblon | Gélule |
| Couleur | rose | rouge | beige | beige et rouge |
| Odeur | sans odeur | sans odeur | Légère odeur, caractéristique d'antibiotiques | sans odeur |

D'après le tableau 4.1, on constate que tous les échantillons sont conformes.

4.1.2. Uniformité de masse

❖ Comprimés

Les tests d'uniformité de masse des comprimés AMOLIN, IBUPROFEN et de BRUFEN sont rapportés dans le tableau 4.2.

Tableau 4.2. Masses individuelles des 20 Cp des comprimés pesés.

| Nombre de Comprimés pesés | Masse (g) des Cp AMOLIN | Masse (g) des Cp IBUPROFEN | Masse (g) des Cp BRUFEN |
|----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| Cp1 | 0.8505 | 0.5445 | 0.5299 |
| Cp2 | 0.8476 | 0.5492 | 0.5386 |
| Cp3 | 0.8552 | 0.5445 | 0.5448 |
| Cp4 | 0.8541 | 0.5465 | 0.5471 |
| Cp5 | 0.8547 | 0.5424 | 0.5557 |
| Cp6 | 0.8639 | 0.5565 | 0.5406 |
| Cp7 | 0.8027 | 0.5489 | 0.5388 |
| Cp8 | 0.8579 | 0.5240 | 0.5529 |
| Cp9 | 0.8527 | 0.5344 | 0.5332 |
| Cp10 | 0.8588 | 0.5304 | 0.5453 |
| Cp11 | 0.8477 | 0.5592 | 0.5340 |
| Cp12 | 0.8430 | 0.5444 | 0.5404 |
| Cp13 | 0.8514 | 0.5594 | 0.5528 |
| Cp14 | 0.8447 | 0.5499 | 0.5432 |
| Cp15 | 0.8551 | 0.5381 | 0.5464 |
| Cp16 | 0.8527 | 0.5510 | 0.5240 |
| Cp17 | 0.8501 | 0.5472 | 0.5448 |
| Cp18 | 0.8200 | 0.5421 | 0.5476 |
| Cp19 | 0.8604 | 0.4916 | 0.5467 |
| Cp20 | 0.8544 | 0.5357 | 0.5353 |
| Moyenne | 0.84838 | 0.54200 | 0.54211 |
| Maximum | 0.8639 | 0.5594 | 0.5557 |
| Minimum | 0.8027 | 0.4916 | 0.5240 |

Les masses individuelles de tous les comprimés AMOLIN, IBUPROFEN et BRUFEN pesés, varient respectivement de 802.7 mg à 863.9 mg, 491.6 mg à 559.4 mg, 542.11 mg à 555.7 mg et leurs masses moyennes respectives sont de 848.38 mg, 542 mg et 542.11 mg. La PE exige que les masses individuelles des comprimés de masse moyenne supérieure ou égale à 250 mg soient comprises dans la limite $\pm 5\%$ de leur masse moyenne [17].

Ainsi les comprimés AMOLIN, IBUPROFEN et BRUFEN contrôlés satisfont à l'essai d'uniformité de masse.

❖ Gélules

Les résultats du test d'uniformité de masse des gélules BACTOX sont rapportés dans le tableau 4.3.

Tableau 4.3. Masses individuelles des 20 gélules BACTOX pesées.

| Nombre de gélules pesées | Masse (g) de la gélule pleine BACTOX | Masse (g) de la gélule vide BACTOX | Masse de la poudre BACTOX (g) |
|--------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| Gél 1 | 0.6926 | 0.0954 | 0.5972 |
| Gél 2 | 0.6966 | 0.1068 | 0.5898 |
| Gél 3 | 0.6854 | 0.0978 | 0.5876 |
| Gél 4 | 0.6908 | 0.1019 | 0.5889 |
| Gél 5 | 0.6801 | 0.0983 | 0.5840 |
| Gél 6 | 0.6894 | 0.1054 | 0.5840 |
| Gél 7 | 0.6915 | 0.0955 | 0.5960 |
| Gél 8 | 0.6818 | 0.1017 | 0.5801 |
| Gél 9 | 0.6956 | 0.1032 | 0.5924 |
| Gél 10 | 0.6895 | 0.0926 | 0.5969 |
| Moyenne | / | / | 0.5894 |
| Maximum | 0.6966 | 0.1068 | 0.5972 |
| Minimum | 0.6801 | 0.0926 | 0.5801 |

Les masses individuelles de la poudre contenue dans les gélules BACTOX pesées, varient respectivement de 580.1 mg à 597.2 mg et sa masse moyenne est de 589.4 mg.

Les normes de la même pharmacopée exigent que les masses individuelles de la poudre des gélules de masse moyenne supérieure ou égale à 300 mg soient comprises dans la limite $\pm 7.5\%$ de leur masse moyenne. On pourra conclure que les gélules de BACTOX satisfont à l'essai d'uniformité de masse.

4.1.3. Dissolution

❖ comprimés AMOLIN et gélules BACTOX

Le test de dissolution des comprimés AMOLIN et gélules BACTOX dans les milieux respectifs, solution phosphate buffer (pH=7.2) et eau distillée, est rapporté par la fig 4.1.

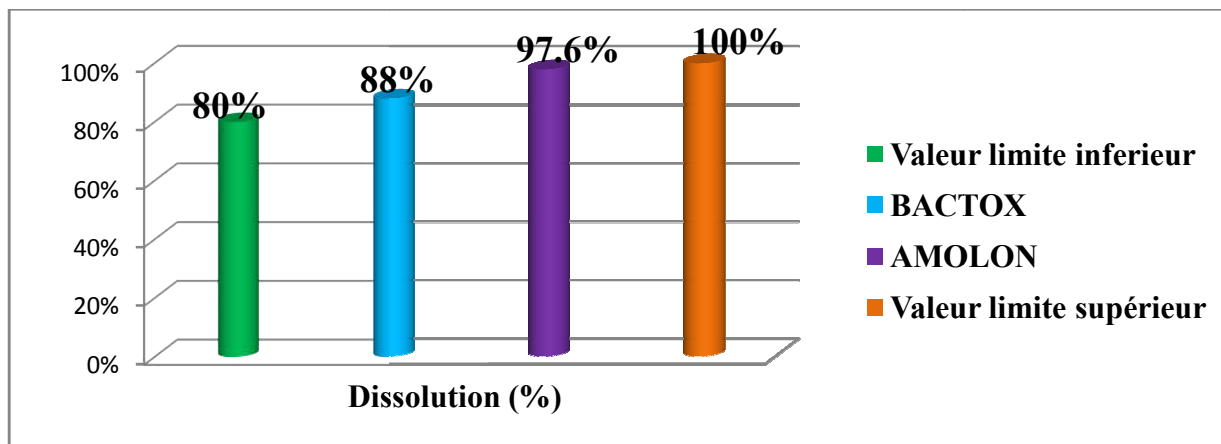


Figure 4.1. Taux de dissolution (%) de BACTOX et AMOLIN

D'après les résultats illustrés dans la fig 4.1, les comprimés AMOLIN ont un taux de dissolution de 97.6 % et les gélules BACTOX, 88%.

Les normes USP, exigent que le taux de dissolution ne soit pas être inférieur à 80%. Les comprimés AMOLIN et gélules BRUFEN satisfont donc au test de dissolution du PA d'où leur conformité.

❖ comprimés IBUPROFEN et BRUFEN

Le test de dissolution des comprimés IBUPROFEN et BRUFEN est rapporté par la figure 4.2.

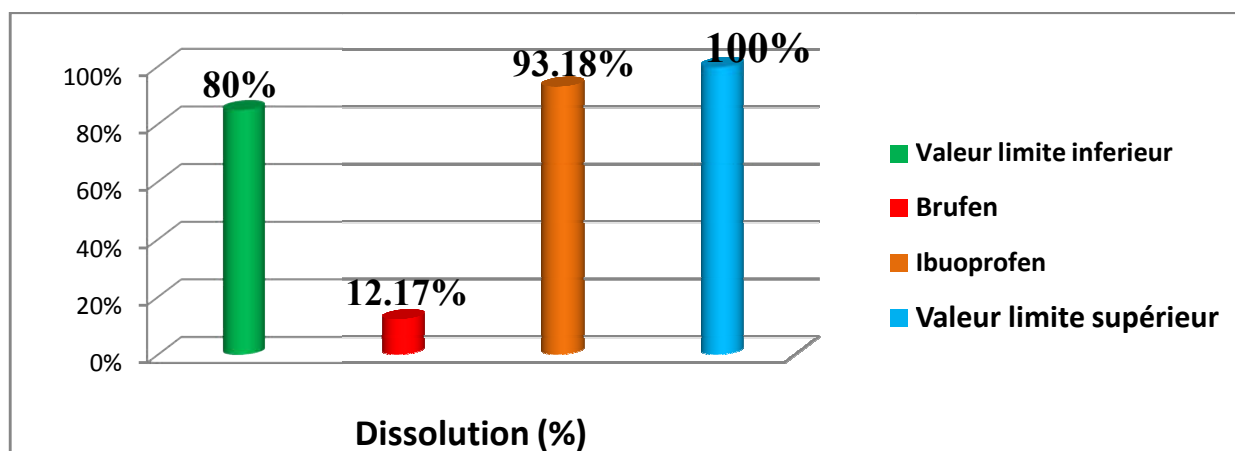


Figure 4.2. Taux de dissolution (%) de BRUFEN et d'IBUPROFEN

D'après les résultats illustrés par la (fig 4.2.), les taux de dissolution des comprimés BRUFEN et IBUPROFEN sont respectivement de 12.17% et 93.18%.

Les normes USP exigent que le taux de dissolution ne soit pas inférieur à 80%.

Les comprimés IBUPROFEN satisfont au test de dissolution d'où leur conformité. On remarque que les comprimés BRUFEN présentent un taux de dissolution en dessous de la limite inférieure d'où leur non-conformité.

4.1.4. Désintégration (test de désagrégation)

❖ Comprimés

Le test de désintégration est illustré dans le tableau 4.4 et la fig 4.3.

Tableau 4.4. Temps de désintégration des échantillons contrôlés.

| Echantillons | AMOLIN | IBUPROFEN | BRUFEN |
|------------------------------|--------|-----------|--------|
| Paramètres | | | |
| Temps de désagrégation (min) | 4 :21 | 3 :30 | 13 :50 |

Le tableau 4.4. nous donne la fig 4.3.

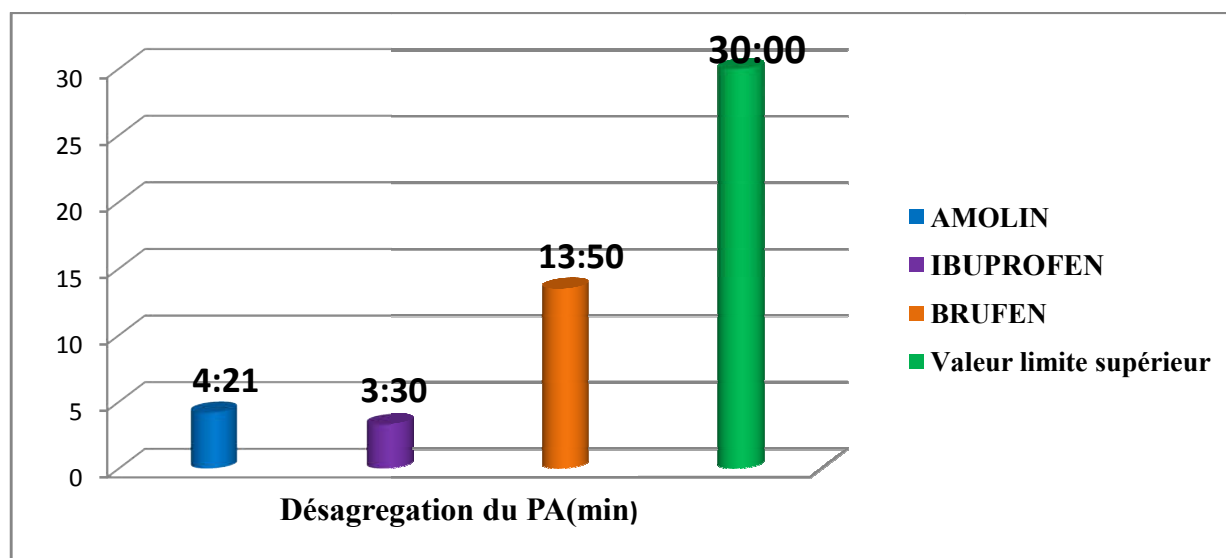


Figure 4.3. Temps de désintégration (min) des comprimés AMOLIN, IBUPROFEN et BRUFEN

Par le tableau 4.4 et la figure 4.3, on constate que le temps de désintégration des comprimés nus AMOLIN est de 4minutes 21 secondes et celui des comprimés enrobés BRUFEN et IBUPROFEN, respectivement de 13 minutes 50 secondes et 3 minutes 30 secondes.

Les normes de la pharmacopée USP exigent qu'au bout de 15 min (pour les comprimés nus) et 30 minutes (comprimés enrobés), de fonctionnement de l'appareil de désagrégation, qu'on retrouve sur la grille des résidus de comprimés constitués seulement de masse molle sans noyau palpable et non imprégné.

On conclut alors que tous les trois lots de comprimés AMOLIN, BRUFEN et IBUPROFEN satisfont au test de désagrégation, d'où leur conformité.

4.1.5.Dureté

❖ Comprimés BRUFEN et IBUPROFEN

Les résultats du test de la dureté sont illustrés dans le tableau 4.5 et la fig 4.4.

Tableau 4.5.Dureté ou résistance à la rupture de 10 comprimés BRUFEN et IBUPROFEN

| Nombre de comprimés | Dureté des Cp BRUFEN (N) | Dureté des Cp IBUPROFEN (N) |
|---|--------------------------|-----------------------------|
| Cp 1 | 129 | 109 |
| Cp 2 | 130 | 89 |
| Cp 3 | 143 | 96 |
| Cp 4 | 146 | 102 |
| Cp 5 | 142 | 66 |
| Cp 6 | 124 | 64 |
| Cp 7 | 146 | 112 |
| Cp 8 | 114 | 74 |
| Cp 9 | 122 | 68 |
| Cp 10 | 141 | 97 |
| Moyenne | 133.7 | 87.7 |
| Minimum | 122 | 64 |
| Maximum | 146 | 112 |
| Intervalle de la dureté moyenne à 5% de risque (N) | 60-100N | 60-100N |

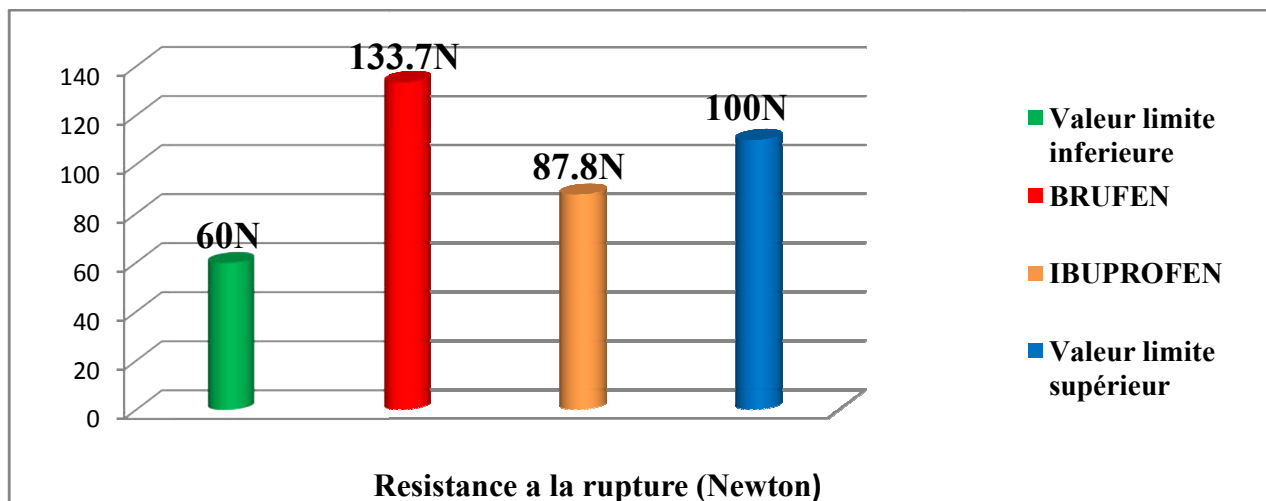


Figure 4.4. Resistance a la rupture (Newton) de BRUFEN et IBUPROFEN

D'après la fig 4.4, les comprimés de BRUFEN qui ont une dureté moyenne de 133.7 N sont plus durs que les comprimés d'IBUPROFEN qui ont une dureté moyenne de 87.7 N.

L'intervalle de la dureté moyenne est de (60N à 100N), on remarque que les comprimés de BRUFEN sont bien au dessus de l'intervalle exigé d'où leur non-conformité au test de dureté contrairement aux comprimés d'IBUPROFEN qui sont conformes

4.1.6. Détermination de la teneur en eau par la méthode (Karl Fischer)

❖ comprimés AMOLIN et gélules BACTOX

Le test de Karl Fischer est illustré par la fig 4.5.

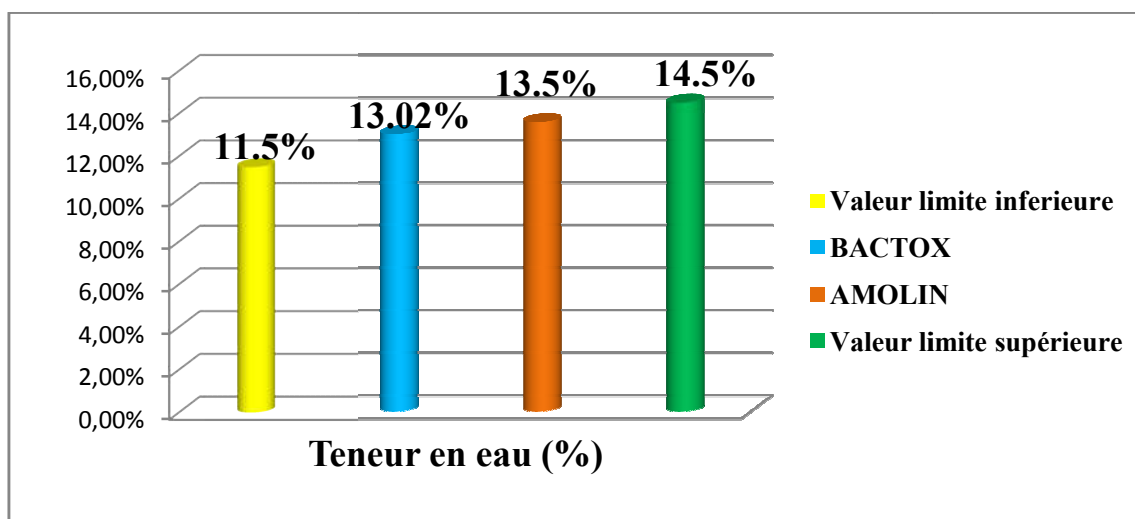


Figure 4.5. Taux d'humidité dans les comprimés AMOLIN et gélules BACTOX

D'après la figure 4.5, on voit que les comprimés AMOLIN ont un taux d'humidité de 13.59% et les gélules BACTOX, de 13.02%.

Les normes USP demandent que la teneur en eau dans l'amoxicilline soit comprise dans l'intervalle de 11.5 à 14.5%.

Nos deux échantillons satisfont donc au test d'humidité.

4.1.7. Identification par chromatographie sur couche mince.

❖ comprimés AMOLIN et gélules BACTOX

Le test d'identification du PA de l'amoxicilline par chromatographie sur couche mince est illustré par la fig 4.6.

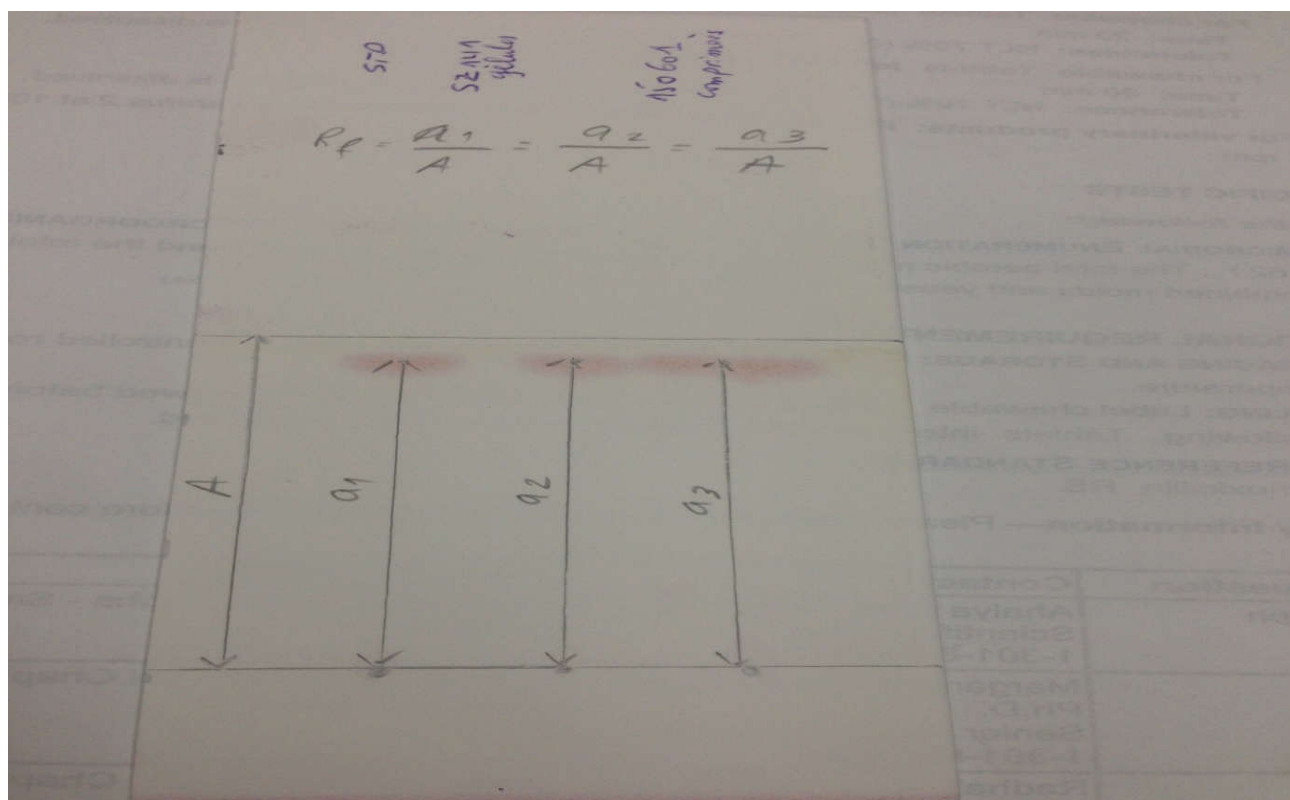


Figure 4.6. Résultat CCM de BACTOX et AMOLIN

D'après les résultats illustrés par la fig 4.6, les rapports frontaux des comprimés AMOLIN (a2), des gélules BACTOX (a1) et de l'amoxicilline standard (a3) sont respectivement de 6.4, 6.2 et 6.2.

Les normes USP exigent que les rapports frontaux des échantillons soient équivalents à celui du standard. Par comparaison, on peut conclure qu'AMOLIN et BACTOX contiennent de l'amoxicilline, d'où leur conformité.

4.1.8. Identification par spectrophotomètre Infra rouge

❖ comprimés BRUFEN et IBUPROFEN

Le test d'identification de l'ibuprofène par infra rouge est illustré par la fig 4.7.

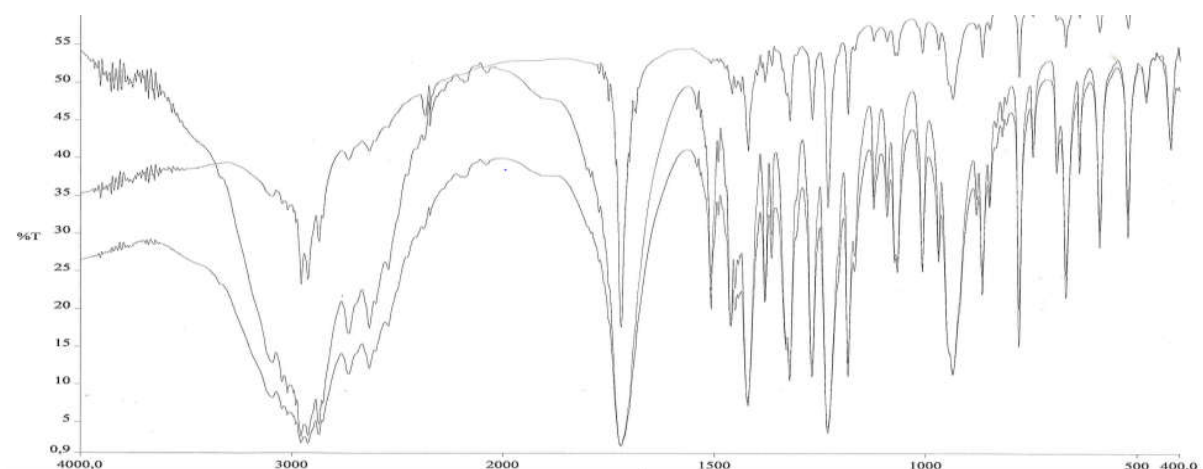


Figure 4.7 : Spectres d'absorption en IR de l'ibuprofène contenue dans BRUFEN, IBUPROFEN et de la STR

Le **tableau 4.6.** récapitule les principales liaisons chimiques de l'ibuprofène, identifiées par spectrophotométrie infrarouge (IR).

Tableau 4.6. Principales liaisons chimiques de l'ibuprofène d'identifiées par IR

| Type de liaison | Nombre d'onde (cm ⁻¹) |
|--|-----------------------------------|
| O-H d'un acide carboxylique | 2500-3200 |
| C-H des groupes CH ₂ , CH ₃ , CH dans les alcanes, des alcènes et les cycles aromatiques | 2900-3100 |
| C=C dans un cycle aromatique | 1500-1600 |
| C=O d'un acide carboxylique | 1700-1725 |

La figure 4.7 montre que le spectre d'absorption de 500 à 4000 nm de la solution à examiner des comprimés de BRUFEN (premier spectre) et celui de la solution à examiner des comprimés IBUPROFEN (deuxième spectre), se superposent au spectre d'absorption de l'ibuprofène (troisième spectre) contenue dans la solution témoin de référence.

On conclut alors que les comprimés BRUFEN et IBUPROFEN contiennent l'ibuprofène.

4.1.9. Teneur en PA

❖ comprimés AMOLIN et gélules BACTOX

Le test de dosage de l'amoxicilline par HPLC est illustré par la fig 4.8.

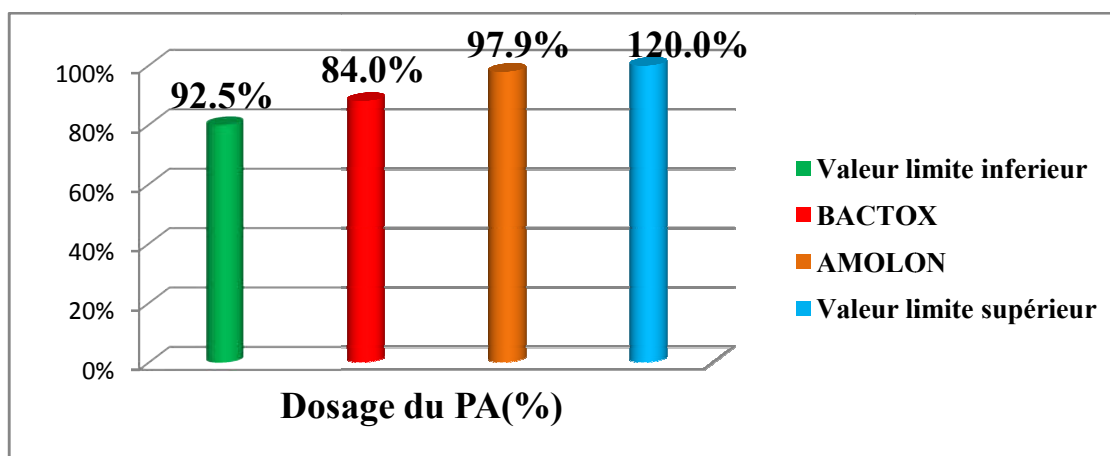


Figure 4.8. Teneur en PA(%) de BACTOX et AMOLIN

D'après les résultats illustrés par la fig 4.8, les comprimés AMOLIN ont respectivement une teneur en amoxicilline de 97.9% et de 84%.

Les normes USP exigent que la teneur en principe actif des comprimés d'amoxicilline soit comprise dans un intervalle de (92.5 à 110%). Donc les comprimés AMOLIN satisfont au test de dosage du PA d'où leur conformité, contrairement aux gélules BACTOX sous dosées, d'où leur non-conformité.

Le test de dosage du PA dans les comprimés BRUFEN et IBUPROFEN est illustré par la fig 4.9.

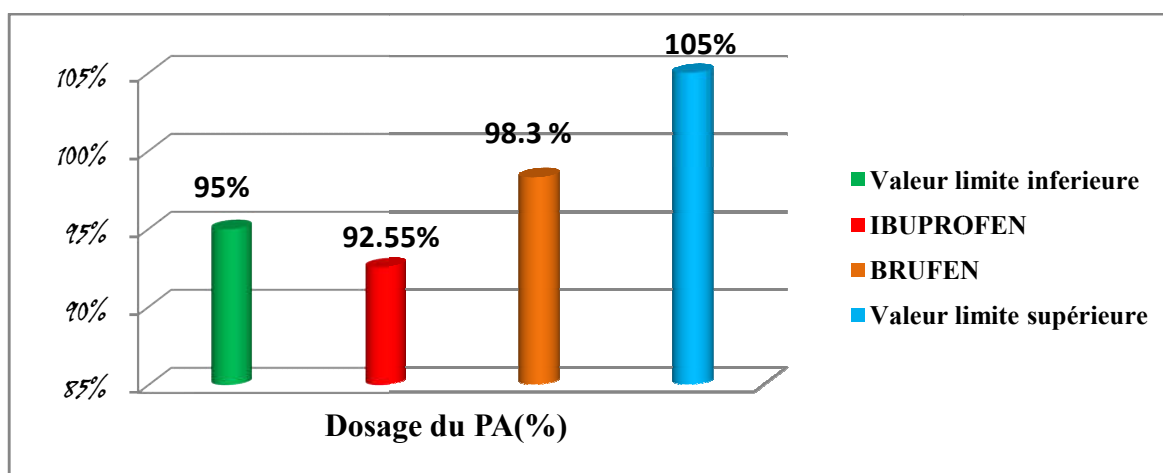


Figure 4.9. Teneur en PA(%) de BRUFEN et IBUPROFEN

D'après la fig 4.9. les comprimés BRUFEN et IBUPROFEN ont respectivement une teneur en ibuprofène de 98.3% et 92.55%.

En se référant aux normes USP, la teneur des comprimés en ibuprofène doit être comprise dans un intervalle de (95.0 à 105%). Donc les comprimés BRUFEN satisfont au test de dosage du PA d'où leur conformité. Par contre les comprimés IBUPROFEN sont en dessous de la limite inférieure (sous dosés) d'où leur non-conformité.

4.1.10. Résultats microbiologiques

Les résultats des tests microbiologiques sur les échantillons contrôlés sont illustrés par la fig 4.10 et le tableau 4.6.

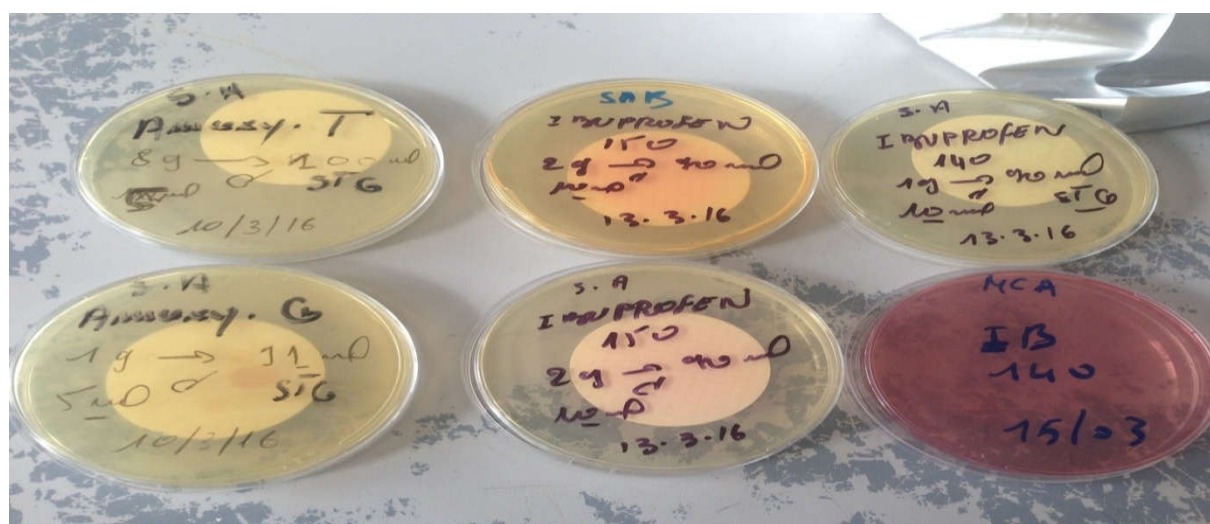


Figure 4.10. Résultats des essais microbiologiques

Le dénombrement des germes observés en figure 4.6 est rapporté dans le tableau 3.12.

Tableau 4.7. Tests microbiologiques des échantillons contrôlés

| Dénombrement de germes | BACTOX | AMOLIN | BRUFEN | IBUPROFEN |
|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Germes aérobies viables totaux | 00 UFC/ml | 00 UFC/ml | 00 UFC/ml | 00 UFC/ml |
| Levures et moisissures | 00 UFC/ml | 00 UFC/ml | 00 UFC/ml | 00 UFC/ml |
| E. coli | Absence | Absence | Absence | Absence |

L'absence des germes aérobies viables totaux, des levures et moisissures et des microorganismes montre la confirmation de la qualité microbiologique de BACTOX, AMOLIN, BRUFEN, IBUPROFEN.

Après l'interprétation des résultats de nos différents essais, une discussion générale s'impose.

❖ Discussion

Nos échantillons se présentent conformes aux exigences des pharmacopées utilisées, concernant les essais d'uniformité de masse, de désintégration et d'identification des P.A.

Au terme du test de dissolution, les 6 comprimés IBUPROFEN examinés sont conformes aux normes britanniques. Ce n'est point le cas d'aucun des 6 comprimés BRUFEN.

Le test de dissolution étant l'une des méthodes de pharmacotechnie les plus importantes pour contrôler la qualité des comprimés enrobés [22].

Il est important d'expliquer ses résultats en les comparant aux autres tests physicochimiques réalisés.

Les comprimés BRUFEN bien dosés ont un bon taux en ibuprofène, de 98.30%, une dureté anormalement élevée, de 133.7 N et se délitent relativement bien en 13minutes 50 secondes. Ces mêmes comprimés ont un taux de dissolution alarmant de 12.17% donc une vitesse de dissolution médiocre.

Le faible pourcentage du PA dissout en 60 minutes pour les comprimés de BRUFEN pourrait s'expliquer par deux hypothèses :

- Un dosage insuffisant en principe actif des comprimés de BRUFEN
- Une vitesse de libération lente du PA contenue dans les Cp de BRUFEN.

La première hypothèse n'est pas valable puisque le test de dosage par HPLC a montré que les Cp de BRUFEN ont une bonne teneur en principe actif (98.30%).

Quant à la deuxième hypothèse, nous savons d'une part, que les comprimés de BRUFEN se sont désagrégés relativement bien (13minutes 50 secondes) et d'autre part que la dureté des comprimés de BRUFEN est anormalement élevée, nous sommes portés à croire, que la dureté plus importante des comprimés de BRUFEN entraîne une faible vitesse de leur désagrégation et par conséquent une libération lente du PA. Cette deuxième hypothèse est d'autant plus justifiée, que la vitesse de dissolution d'un PA contenu dans un comprimé, dépend entre autres du degré de compression (influençant la dureté), et de la vitesse de désagrégation de ce comprimés qui est influencée par la nature des excipients utilisés dans la formulation [22].

La non dissolution des comprimés BRUFEN est acceptable sur le plan thérapeutique mais aurait été mortelle dans le cas de la prise de médicaments d'urgence de traitements de malaises cardiaques ou autres par exemple. De même sur le plan toxicologique, une mauvaise dissolution donc une accumulation d'un PA dans l'organisme d'où des impacts néfastes sur la santé du patient. On peut observer une insuffisance rénale et hépatique, une perforation digestive, hypersensibilité potentiellement mortelle [6].

Les comprimés IBUPROFEN sous dosés ont un taux en ibuprofène, légèrement bas, de 92.55%, une dureté moyenne, normale, de 87.8 N et se délitent très rapidement en 3minutes 30 secondes. Ces mêmes comprimés ont un taux de dissolution de 93.18% donc une vitesse de dissolution excellente.

Ainsi, ce sous dosage des comprimés IBUPROFEN n'a pas influencé négativement la dissolution de ces comprimés, favorisée probablement par leur bonne dureté et leur temps de désintégration très court.

Le sous dosage des comprimés IBUPROFEN est acceptable sur le plan thérapeutique. Après la dissolution, tous les comprimés AMOLIN et BACTOX satisfont aux exigences de la pharmacopée britannique. On enregistre 100% des comprimés AMOLIN examinés contre 100% de gélules BACTOX examinés ont libéré dans le temps exigé, 80% de leur teneur théorique.

Toutefois, les comprimés AMOLIN présentent une meilleure vitesse de dissolution que les gélules BACTOX.

Ces résultats sont corrélés par le test de dosage qui révèle une teneur d'amoxicilline des comprimés AMOLIN nettement supérieure à celle des gélules sous dosées BACTOX (97,9% contre 84%).

Donc la valeur critique de la teneur en principe actif des gélules BACTOX, a probablement engendré une libération plus lente du principe actif dans son milieu de dissolution.

Le faible taux de libération du principe actif dans le temps requis, ainsi que le sous dosage du médicament augmentent la morbidité et la mortalité dues à la maladie en raison de l'inefficacité thérapeutique.

L'échec thérapeutique se traduira par une aggravation de l'état général de la personne au cours du temps, entrecoupée par de brèves périodes de soulagement du fait de la prise d'un traitement symptomatique [23].

Le risque de développer des résistances est aggravé par le sous-dosage en principe actif, ce qui a des conséquences non seulement pour le patient lui-même mais aussi le phénomène de prolifération de sélection de souches multi-résistantes.

Sous l'effet du phénomène de «pression sélective» exercée par l'antibiotique, les bactéries sont soit éliminées par le traitement, soit sélectionnées. Celles qui s'adaptent et survivent, portent des gènes de résistance qu'elles peuvent ensuite transmettre. La sélection de ces germes est favorisée lorsque les doses d'antibiotique sont insuffisantes ou administrées sur une trop courte période [24].

4.2. Identification et quantification des impuretés

4.2.1. Identification

❖ comprimés AMOLIN et gélules BACTOX

La recherche des impuretés par HPLC a révélé la présence de plusieurs pics illustrés par les figures (4.11) et (4.12).

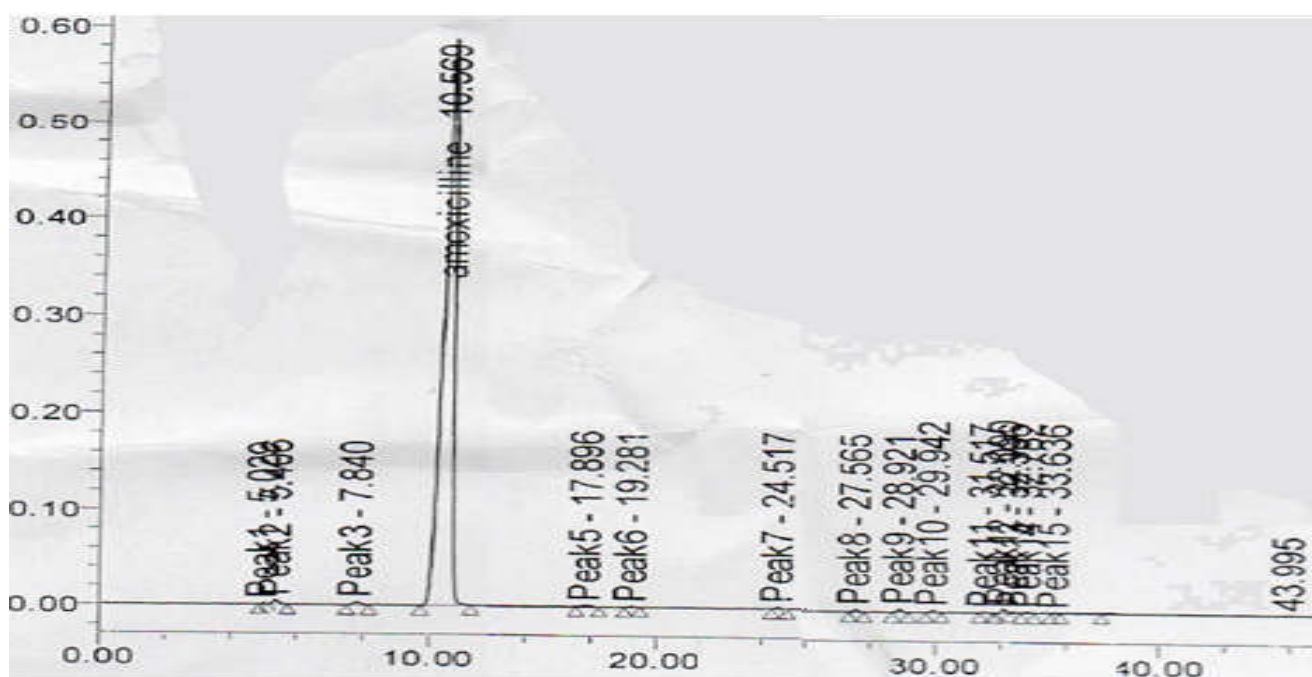


Figure 4.11. Chromatogramme représentant les impuretés des gélules BACTOX

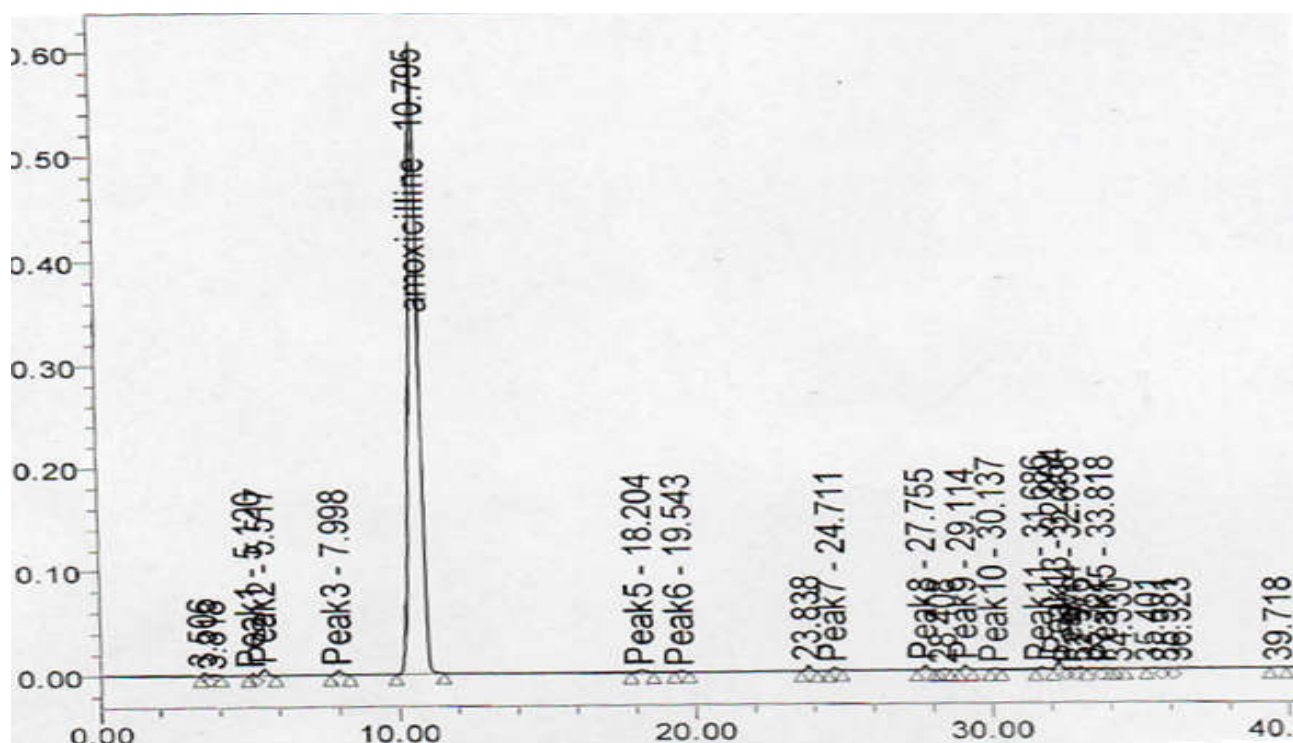


Figure 4.12. Chromatogramme représentant les impuretés des comprimés AMOLIN

Les pics retrouvés sont ensuite identifiés suivant leur temps de rétention, comme indiqué dans le tableau 4.8

Tableau 4.8. Temps de rétention (min) des impuretés retrouvées dans AMOLIN et BACTOX

| Impuretés | Temps de rétention (min) | |
|------------|--------------------------|--------|
| | AMOLIN | BACTOX |
| Impureté1 | 0.31 | 0.33 |
| Impureté 1 | 0.52 | 0.56 |
| Impureté 2 | 0.58 | 0.62 |
| Impureté 3 | 0.62 | 0.75 |
| Impureté 4 | 0.75 | 0.85 |
| Impureté 5 | 0.85 | 1.40 |
| Impureté 6 | 1.40 | 1.62 |
| Impureté 7 | 1.61 | 1.91 |
| Impureté 8 | 2.37 | 2.29 |
| Impureté9 | 2.66 | 2.67 |
| Impureté10 | 3.37 | 2.77 |

Le tableau ci-dessous est une suite du tableau 4.8 de la page précédente.

| | Temps de rétention (min) | |
|-------------|--------------------------|------|
| | Impureté 11 | 3.66 |
| Impureté 12 | 3.94 | 3.67 |
| Impureté 13 | 4.31 | 3.94 |
| Impureté 14 | 4.40 | 4.31 |
| Impureté 15 | 4.47 | 4.48 |
| Impureté 16 | 4.58 | 4.59 |
| Impureté 17 | 4.69 | 4.70 |
| Impureté 18 | | 5.01 |

Tableau 4.9. Temps de rétention (min) et impuretés correspondantes selon USP.

| Temps de rétention (min) | Nom des impuretés correspondantes |
|--------------------------|---|
| 0.32 | D-hydroxyphenylglycine |
| 0.58 | co-oligomères d'amoxicilline et d'acidepénicilliniqued'amoxicilline |
| 0.68 | co-oligomères d'amoxicilline et d'acidepénicilliniqued'amoxicilline |
| 0.78 | 6-amino acide pénicillinique |
| 0.87 | L-amoxicilline |
| 1.0 | Amoxicillin |
| 2.9 | d-hydroxyphenylglycylamoxicillin |
| 4.5 | amoxicillin penilloic derivative |
| 6.0 | N-(penicillan-6-yl) amoxicillinamide |
| 6.3 | phenylpyrazinediol |
| 6.4 | amoxicillin rearrangement product |
| 6.7 | amoxicillin penilloic derivative |
| 8.8 | amoxicillin open ring dimer |
| 9.0 | N-(penicillan-6-yl) |
| // | Toute autre impureté individuelle |

Pour identifier les impuretés obtenues, nous devons comparer leurs temps de rétention aux temps de rétention des impuretés spécifiées dans la pharmacopée USP. Le tableau 4.10 nous illustre les impuretés identifiées

Tableau 4.10. Identification des impuretés spécifiées USP présentes dans BACTOX et AMOLIN

| Temps de rétention (min) selon USP | Temps de rétention obtenus (min) | | Impuretés correspondantes |
|------------------------------------|----------------------------------|--------|---|
| | BACTOX | AMOLIN | |
| 0.32 | 0.31 | 0.33 | D-hydroxyphenylglycine |
| 0.58 | 0.58 | 0.56 | co-oligomères d'amoxicilline et d'acide pénicillinique d'amoxicilline |
| 0.68 | 0.63 | 0.63 | co-oligomères d'amoxicilline et d'acide pénicillinique d'amoxicilline |
| 0.78 | 0.75 | 0.75 | 6-amino acide pénicillinique |
| 0.87 | 0.85 | 0.85 | L-amoxicilline |
| 4.5 | 4.47 | 4.48 | amoxicillin penilloic derivative |

Après la détermination des noms exacts des impuretés présentes dans nos échantillons, voici leur structure proposée par la même pharmacopée.

- **Structure des impuretés identifiées**

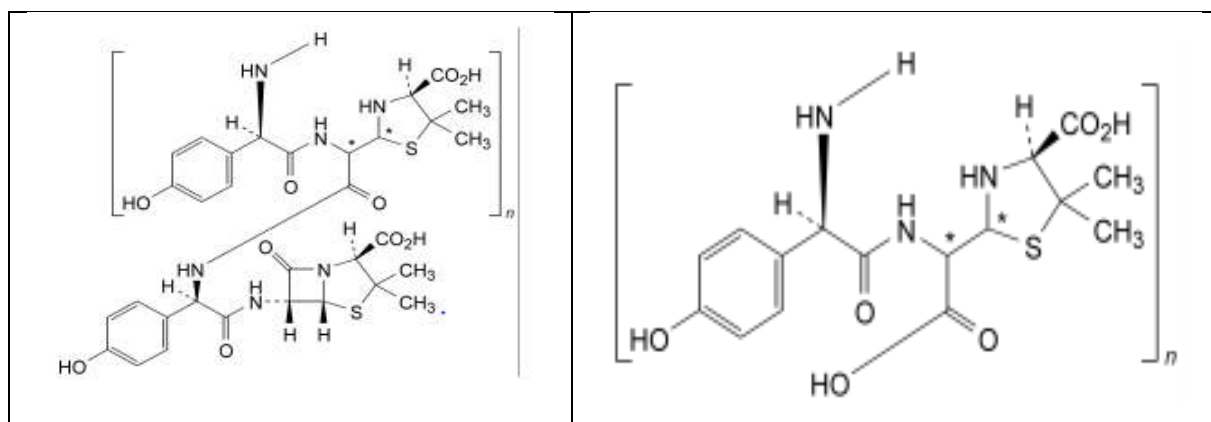


Figure 4.13. Co-oligomères d'amoxicilline et d'acide pénicillinique d'amoxicilline

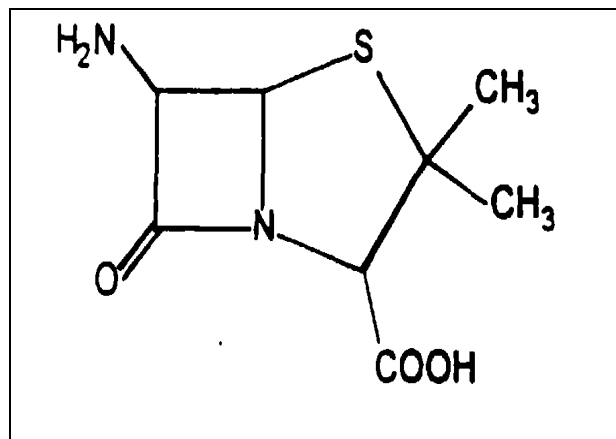


Figure 4.14. (6-aminopenicillanique)

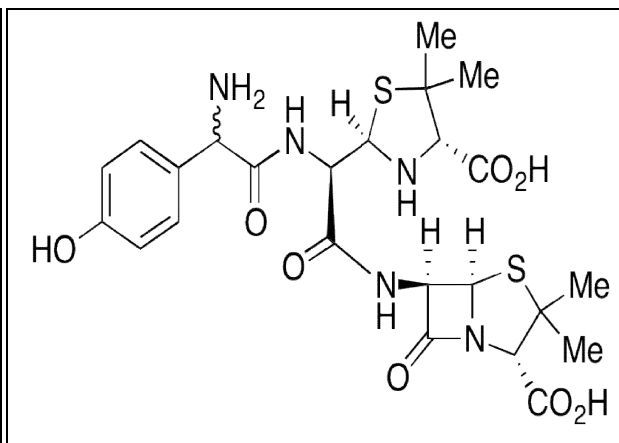


Figure 4.15. amoxicillin penilloic derivative

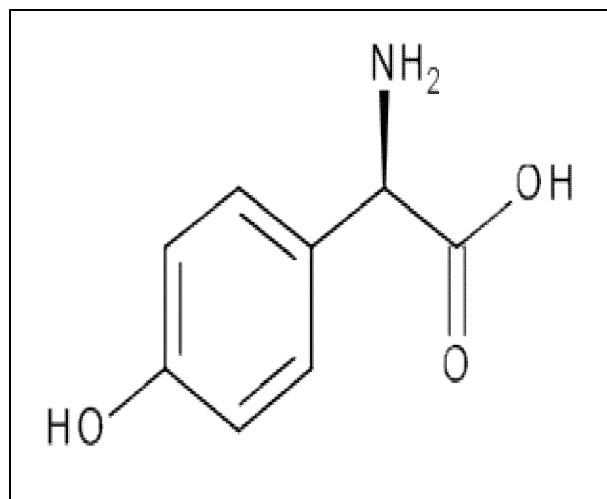


Figure 4.16. L-amoxicilline

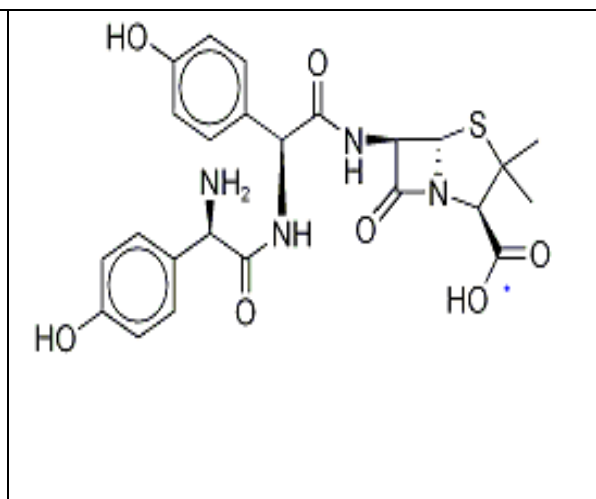


Figure 4.17. D-hydroxyphenylglylamoxicilline

4.2.2. Quantification

❖ comprimés AMOLIN et gélules BACTOX

Le dosage par HPLC nous a permis de quantifier toutes les impuretés identifiées par le calcul des rapports de l'aire du pic de l'impureté sur celle du pic du PA

Tableau 4.11. Résultats de quantification des impuretés obtenues

| Impuretés | Pourcentage (%) | |
|-------------|-----------------|--------|
| | AMOLIN | BACTOX |
| Impureté 1 | 0.05 | 0.05 |
| Impureté 2 | 0.05 | 0.18 |
| Impureté 3 | 0.03 | 0.07 |
| Impureté 4 | 0.07 | 0.13 |
| Impureté 5 | 0.2 | 0.04 |
| Impureté 6 | 0.01 | 0.012 |
| Impureté 7 | 0.01 | 0.007 |
| Impureté 8 | 0.05 | 0.001 |
| Impureté 9 | 0.06 | 0.008 |
| Impureté 10 | 0.09 | 0.001 |
| Impureté 11 | 0.001 | 0.008 |
| Impureté 12 | 0.009 | 0.001 |
| Impureté 13 | 0.002 | 0.085 |
| Impureté 14 | 0.003 | 0.022 |
| Impureté 15 | 0.003 | 0.001 |
| Impureté 16 | 0.012 | 0.017 |
| Impureté 17 | | 0.015 |
| Impureté 18 | | 0.002 |

Les impuretés quantifiées telles que co-oligomères d'amoxicilline (0.18%) et acide pénicillinique d'amoxicilline (0.18%), 6-amino acide pénicillinique (0.13%), L-amoxicilline (0.2%) sont celles qui présentent la teneur la plus élevée.

La teneur des impuretés individuelles quantifiées est inférieure à 1%, seuil exigé par les normes USP d'où la conformité de nos échantillons.

❖ Discussion

Le contrôle des impuretés dans les produits pharmaceutiques est l'objet d'une préoccupation essentielle des analystes de l'industrie pharmaceutique et d'une attention particulière des autorités de santé. Il s'agit de s'assurer de la qualité des produits mais également de leur sécurité.

Dans notre échantillon et d'après le dosage par HPLC, on a observé la présence de plusieurs composés intrus dont leurs origines peuvent être :

- Les impuretés associées aux principes actifs et aux excipients.
- Les impuretés qui apparaissent lors de la formulation et du vieillissement du produit finis.

Les impuretés identifiées par leurs temps de retentions à la fois dans les gélules BACTOX et les comprimés AMOLIN, telles que D-hydroxyphenylglycine (0.53min), co-oligomères d'amoxicilline (0.68min), l'acide pénicillinique d'amoxicilline (0.78min), 6-amino acide pénicillinique (0.87), et N-penicillan-6-yl (4.5min) sont souvent retrouvées dans le PA. Elles sont quantifiées maintenues a seuil inférieur à 1% [31].

Ces impuretés contenues dans le PA peuvent être issues du procédé de synthèse, des solvants résiduels, des catalyseurs, mais aussi des matériels.

Par ailleurs nos échantillons ont révélé plusieurs pics non spécifiés, mais leur teneur est inférieure au seuil limite exigé 1% comme illustre le (tableau 3.15).

Ces impuretés non spécifiées peuvent éventuellement apparaître au cours du procédé de fabrication ou de l'entreposage, d'un produit <existant> par suite de l'action, par exemple, de la lumière, de la température, du pH, de l'humidité ou d'une réaction avec un excipient et/ou le système récipient-fermeture [31].

Une étude de caractérisation aurait dû être réalisée afin de pouvoir déterminer les structures des impuretés par les méthodes:

- NMR
- SPECTROSCOPIE DE MASSE
- LC-MS
- GC-MS

Malheureusement, nous n'avons pas pu réaliser cette analyse suite à l'insuffisance du temps et des moyens nécessaires, même pour l'étude de la qualification qui consistait de prouver l'innocuité de ces impuretés.

La toxicité associée à l'ingestion des impuretés constitue bien sûr la raison principale de rechercher de leur présence dans les produits pharmaceutiques, ceux-ci pouvant être prescrits à un patient pour une période plus ou moins longue. Afin de minimiser la toxicité aiguë ou la toxicité chronique pouvant résulter d'un processus d'accumulation, les impuretés doivent être maintenues au niveau le plus bas possible. Dans le cas du développement de nouvelles entités chimiques, la présence des impuretés peut introduire un moyen dans les études de toxicité

incluant la mutagénèse et la carcinogénèse et conduire à des conclusions erronées. Compte tenu du prix de telles études, c'est une raison supplémentaire de maîtriser leur teneur dans les lots utilisés pour ces études au niveau le plus bas réalisable [15].

Néanmoins, les problématiques liées aux impuretés font appel à des compétences particulièrement pointues et multiples: expertises chimique, toxicologique, analytique, réglementaire. Les compétences internes des industriels pourront-elles être suffisamment mobilisées ou sont-elles suffisantes ?

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce travail a consisté à la recherche des impuretés dans les échantillons d'amoxicilline et d'ibuprofène prélevés sur marché tchadien et voir leur conformité par rapport aux normes internationales des USP ,BP PE etc.

En vue d'arriver à obtenir ces informations nous avons commencé notre travail par un contrôle physicochimique et microbiologique.

Les résultats des tests physicochimiques tels que la teneur en PA, la dissolution, la résistance a la rupture ont révélés sur que sur les quatre échantillons analysés trois étaient non-conforme aux normes des Pharmacopées utilisées.

La teneur en PA a été conforme pour deux échantillons, BRUFEN (98.3%) et AMOLIN (97.9%) alors que les deux échantillons, BACTOX (84,0%) et IBUPROFEN (92.5%) sont avérés être sous dosés.

La dissolution du PA dans des milieux simulés des quatre échantillons a révélé la non conformité des comprimés de BRUFEN (12.17%).

La résistance a la rupture a de même révélé la non-conformité des comprimés de BRUFEN (133.7N).

L'ibuprofène et l'amoxicilline appartenant à la liste des médicaments essentiels de l'OMS, ces deux principes actifs ont été des modèles de choix dans notre étude de contrôle de qualité. L'amoxicilline étant un antibiotique, sous forme de comprimé ou de gélule de mauvaise qualité (dosage de 84.0%), pourrait être à l'origine d'inefficacité conduisant à des résistances aux traitements.

Par ailleurs, l'identification et la quantification des impuretés, qui fait l'objet principal de ce travail sont corroborées par les résultats obtenus lors du dosage par HPLC. Toutes les impuretés retrouvées dans les deux échantillons (BACTOX, AMOLIN) ne sont pas identifiables par rapport a leurs temps de retentions mais sont toutes quantifiables et avérées être en dessous du seuil exigé.

Parmi les impuretés retrouvées à la fois dans les deux échantillons (BACTOX, AMOLIN) identifiées et quantifiées on peut rapporter : D-hydroxyphenylglycine, co-oligomères d'amoxicilline, l'acide pénicillinique d'amoxicilline, 6-amino acide pénicillinique et N-

Conclusion Générale

penicillan-6-yl de temps de rétention (0.53min), (0.68min), (0.78min), (0.87), (4.5min) et de teneur (0.05%), (0.18%), (0.18%), (0.13%), et (0.2%).

Cependant pour les deux échantillons de (BRUFEN, IBUPROFEN), nous n'avons pas pu rechercher les impuretés par insuffisance de temps et des réactifs nécessaires.

Les impuretés sont recherchées pour des raisons de toxicité, de stabilité chimique (catalyse de processus de dégradation); de stabilité physique (transformation polymorphique). Leur présence de façon significative est le signe d'un manque de contrôle du procédé de fabrication et des lacunes de validation.

Ces produits contenant des impuretés, d'autres produits que ceux annoncés, voire des substances toxiques peuvent parfois s'avérer dangereuses.

D'où l'indispensabilité d'une lutte de la contrefaçon, phénomène amplifiant la distribution de médicaments de mauvaise qualité, vecteurs de mort.

Le marché des médicaments contrefaits dans les pays en voie de développement tire son origine dans la précarité de la situation sanitaire que vivent les populations, et est favorisé par différents facteurs tels que l'ignorance des populations sur les dangers de médicaments contrefaits, une absence de législation, une faiblesse des sanctions pénales, corruption et conflits d'intérêts, une efficacité des médicaments distribués, une absence ou faiblesse des autorités nationales de réglementation pharmaceutiques, une insuffisance de l'offre par rapport à la demande, une intensification du commerce international et une accessibilité financière et géographique difficile des populations aux produits pharmaceutiques.

Vu les résultats très inquiétants des contrôles analytiques nous avons formulé quelques recommandations concernant la lutte contre la consommation des médicaments du marché informel. Ces recommandations ne sont possibles qu'avec une volonté politique renforcée et un engagement plus ferme des autorités.

❖ **Sensibiliser de façon coordonnée et programmée :**

Intensifier les campagnes de sensibilisation auprès de la population sur les risques encourus par la consommation des médicaments du marché parallèle d'une part ;

Les vendeurs du marché parallèle des médicaments doivent aussi être la cible de ces campagnes. Ils seront sensibilisés aux dangers de leur pratique et aux conséquences sur la

Conclusion Générale

santé de la population. On leur proposera donc des alternatives pour leur assurer un emploi autre que ce commerce.

Au-delà des actions ponctuelles, élaborer des programmes de sensibilisation sur toute l'étendue du territoire auprès de la population sur l'existence, la qualité et l'accessibilité des médicaments génériques

❖ Renforcer la législation :

Sanctions plus fermes envers les contrevenants (vendeurs des marchés, pharmaciens complices...)

Comblé vides juridiques concernant les dons de médicaments

Veiller à l'application stricte de la loi.

❖ Améliorer l'accessibilité des médicaments essentiels génériques aux populations

C'est un des outils indispensables pour éradiquer ce fléau. La mise en place d'une couverture médicale de base permettra à la population de délaisser définitivement cette « solution » que représente le marché illicite, faute de moyens financiers. Il ne suffira pas d'augmenter les sommes disponibles pour la prestation de services de santé, mais aussi et surtout assurer que ces fonds soient alloués et dépensés de façon efficiente.

En plus de contribuer à améliorer l'accès aux soins et services de santé, la couverture du risque maladie par l'assurance peut jouer un rôle important dans la lutte contre la pauvreté. Les conséquences économiques de la mauvaise santé peuvent avoir un effet majeur d'aggravation de l'appauvrissement, surtout chez les populations déjà démunies ou celles vivant tout juste au-dessus du seuil de pauvreté, empêchant ainsi les premières de sortir de leur état, et entraînant les secondes dans la pauvreté. Le manque à gagner engendré par la mauvaise santé qui empêche de travailler, ou pire, le décès prématuré du pourvoyeur de ressources pour la famille, de même que les coûts directs et indirects des soins, ponctionnent des ressources déjà très limitées au détriment d'autres besoins fondamentaux créant un endettement dont il devient difficile de sortir.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- [1] : **Article 170** «loi 90-17 du 31 juillet 1990 modifiant et complétant la loi 85-05 du 16 février 1985 relative à la protection et à la promotion de la sante » Algérie p17.
- [2] : **AIACHE J.M, AIACHE S et RENOUX R**, «Initiation à la connaissance des médicaments» Masson, Paris ,2e édition, 1995 p.24.
- [3] : **Z.Orphee**, «contrôle analytique des médicaments à base d'albendazole et de Mébendazole vendus en République de Guinée-cas de la ville de Conakry », thèse de doctorat, Université de Ghuinia, 2008 p13.
- [4] : **Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé**. «Bonnes pratiques de fabrication» ;. Bulletin officiel N°2007/1bis- fascicule spécia, Edition 2007
- [5] : **Bokola T** «Les médicaments de contrebande à base d'amoxicilline commercialisés à Abidjan (Cote d'ivoire) », université Mohammedv souissi Maroc thèse de doctorat, 2012 p7.
- [6] : **Saouadogo H** «médicaments vendus sur le marché informel a Ouagadougou (Burkina Faso) », universite de Ouagadougou thèse de doctorat; Burkina 06/2003 p14.
- [7] : **Ministère de la santé publique** «politique et normes des services en matière de planification familiale au Tchad» The Lancet : Planification Familiale juillet 2012.
- [8] : **K.Chevreur, F.Ballereau** «Contrôle de qualité des médicaments: une ressources disponibles le cas des anti-infectieux à Madagascar» Revue Hospitalière de France, 01/2003 p12.
- [9] : **Eric Przyswa**, «contrefaçon des médicaments et organisations criminelles» Institut International de Recherche Anti contrefaçon de médicaments, rapport d'étude 09/2013 p22
- [10] : **P. Wehrlé**. «Assurance qualité et bonnes pratiques de fabrication».In:Pharmacie galénique, formulation et technologie pharmaceutique. Maloine, 2007. p : 1-26.
- [11] : **Les entreprises du médicament**, «comment Améliorer la sécurité du médicament», Rapport sur la traçabilité du médicament, science de l'ingénieur, France; 10/2014 p.24.
- [12] : **B Jean-pierre, G Burgot** «Mise en forme des médicaments» Technique de l'ingénieur, 2eme Edition France 04/2008 p127.

Références bibliographiques

[13] : **S Antoine**, «Revue de processus des stabilités dans l'industrie pharmaceutiques: De la réglementation à la réalisation et jusqu'à l'exploitation des tendances observées» Université de Rouen, thèse doctorat, France 10/2013 p33.

[14] : **P Edouard** «contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique selon la pharmacopée européenne: évolution des connaissances et des méthodes analytiques de contrôle» Université de Limoge, France, Thèse doctorat, 07/2011 p21.

[15] : **B Michel** «Analyse des solvants résiduels dans les produits pharmaceutiques» Technique de l'ingénieur, article scientifique 9/2010 p127.

[16] : **L.Tall**. «Contrôle qualité de princeps et génériques de comprimés de Metformine: A propos de 7 spécialités». Thèse de Doctorat en Pharmacie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie Mohammed V de Rabat ; 2006.

[17] : **Pharmacopée européenne(PE)** -2014; Version électronique (CD-ROM)

[18] : **Pharmacopée Britannique(BP)** -2014; Version électronique (CD-ROM)

[19] : **Pharmacopée Américaine(USP)** -2012; Version électronique (CD-ROM)

[20] : **Pharmacopée Américaine(USP)**-2016; Version électronique(CD-ROM)

[21] : **N.Boukli-Hacene**, « Le positionnement stratégique du médicament générique Etude de cas: Analyse du positionnement du générique auprès du consommateur algérien », université Abou-Bekr Belkaid- Tlemcen, mémoire du Magister, (2011) p24.

[22] : **Le Hir**. «Comprimés In: Abrégés de pharmacie galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments,», 8ème édition. Masson, 2001. p : 251-77.

[23] : **Taylor RB, Shakoob O. and Behrens RH**. «Drug quality, a contributor to drug resistance? », Lancet; 346(8967): 122. 1995.

[24] : **Mull Marilyn M**. The tetracyclines. A critical reappraisal. Am J Dis Child 1966; 112(5) 483-93.

[25] : **Organisation Mondiale de la Santé (OMS)**. L'utilisation des médicaments essentiels. 9ème rapport du comité OMS d'expert. Série des rapports techniques, N°895; Genève, 2000.

[26] : **C.Abelli, O.Andriollo, J.Y.Videau et al**. «Equivalence pharmaceutique des médicaments essentiels génériques» STP pharma pratiques 11(2), 2001. p : 89-101.

Références bibliographiques

[27] : **Hamani ABDOU Idrissa** « Les médicaments de la rue à Niamey : modalités de vente et contrôle de qualité de quelques anti-infectieux » thèse de doctorat d'Etat Université De Bamako Faculté De Médecine De Pharmacie Et D'odontostomatologie. Juin 2005

[28] : **Graham, L.Patrick, Paul Depovere;** « chimie pharmaceutique »; bœck; 2ème édition 2000 p31.

[29] : **M.Moulin, A .Coquerel;** «Pharmacologie (connaissances et pratique),»Masson; 2ème édition 2002 p66.

[30] : **E .Bergogne-bérézin, P.Dellamonica;** «antibiothérapie en pratique clinique»;Masson ; 2 eme édition 1999 p105.

[31] : **AhujaS and Scypinski S** «Handbook of Modern Pharmaceutical Analysis» Academic Press, NY, (2001). 298

Annexes

Annexe1 :Appareils et équipements



Centrifugeuse 4225



Appareil de dissolution (dissolutest)



HPLC(Empower tm 3software)



pH-mètre



Duromètre



Appareil de désintégration

Annexe2: Matieres et produits



Solvants utilisés



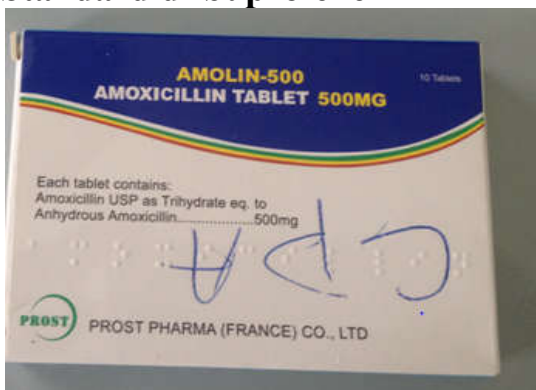
Gélules de BACTOX



Standard d'ibuprofene



Boite CP d'IBUPROFEN



Boite CP d'AMOLIN



Boite CP de BRUFEN

Annexe3: preparation des milieux microbiologiques

1. Protocole

Veille du test :

Stérilisation de la verrerie et du matériel.

Jour du test :

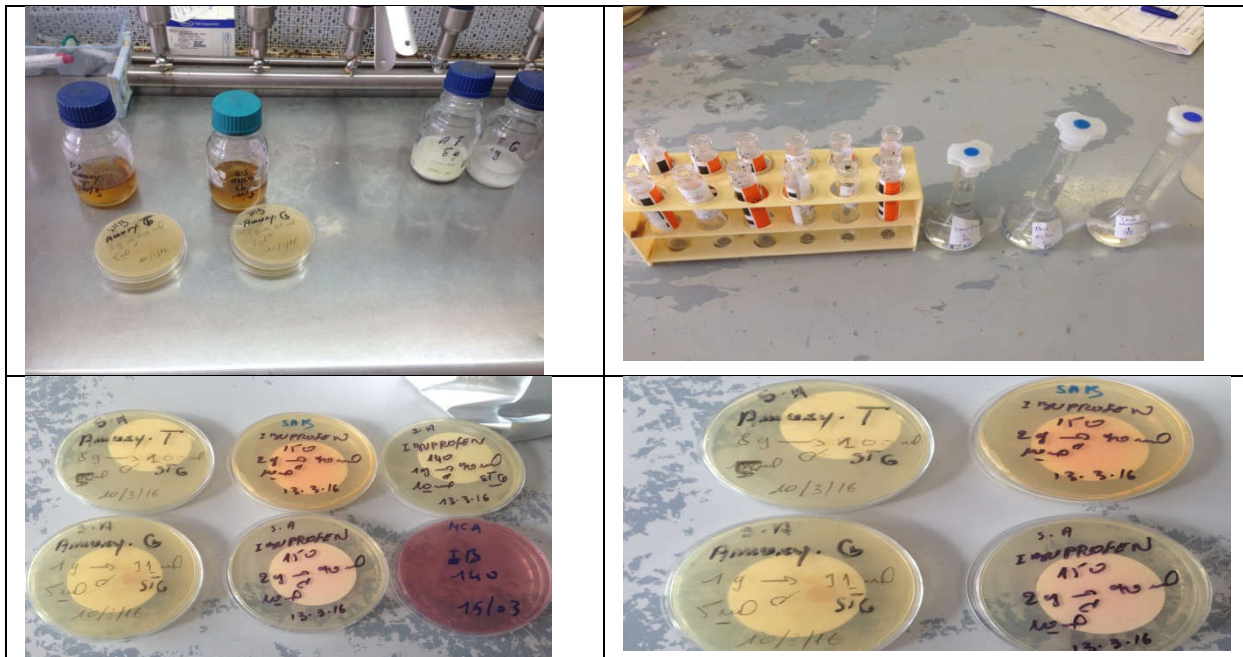
a. Préparations des milieux

- Sogar stérile

On dissout 40 mg de poudre dans un litre d'eau distillée, on porte à ébullition en agitant avant de répartir en tubes à vis ou flacons de 500ml bouchonnées et encapsulées puis on stérilise à l'autoclave à 121 C pendant 15 min.

- Sabouraud

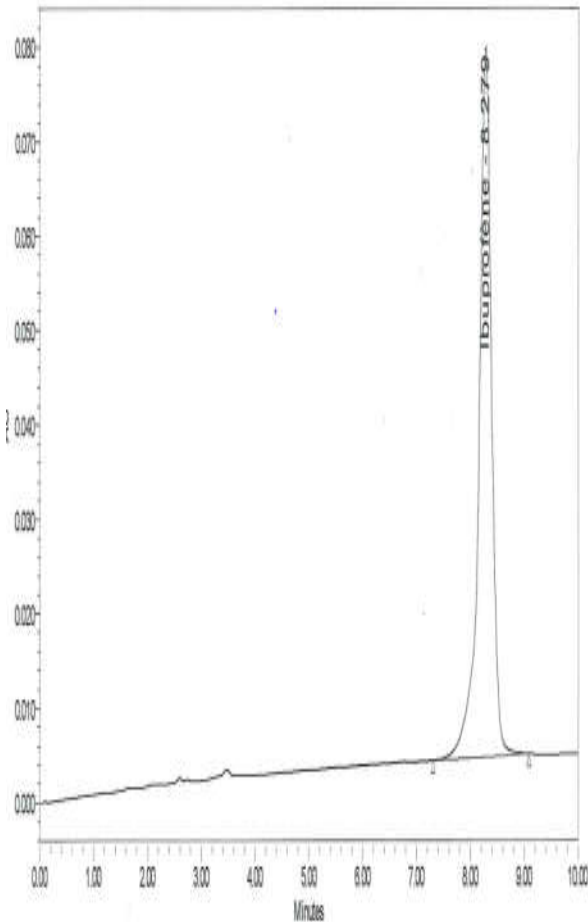
Mettre 65g de poudre en suspension dans 1l d'eau purifiée ou distillée. Bien mélanger, chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir pendant 1mn de manière à dissoudre parfaitement la poudre. Passer à l'autoclave à 121 C pendant 15 min. Eviter de surchauffer, pour contrôler ses performances, tester des échantillons à l'aide de contrôles stables et typique.



Annexe4: chromatogrammes

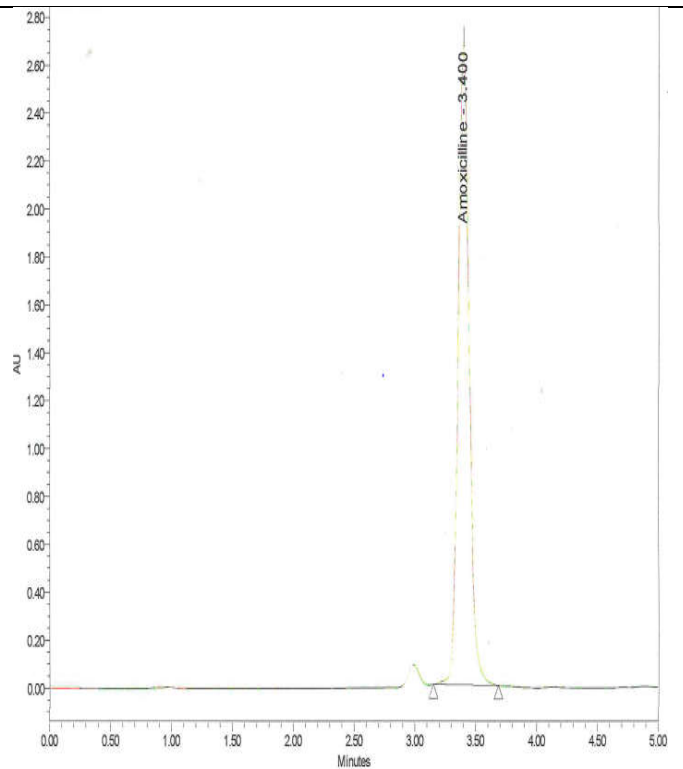
Sample Type: Unknown Sample Set Name: Ibumal MSS
 Vial: 2 Acq. Method Set: Ibumal MS
 Injection #: 1 Processing Method: Ibumal MP
 Injection Volume: 10.00 ul Channel Name: W2489 ChA
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr.: W2489 ChA 284nm

 Date Acquired: 31-Mar-16 3:49:32 PM CET
 Date Processed: 03-Apr-16 8:20:18 AM CET



| Peak Name | RT | Area | % Area | Height |
|--------------|-------|---------|--------|--------|
| 1 Ibuprofène | 8.279 | 1235921 | 100.00 | 75311 |

Chromatogramme du dosage du PA de BRUFEN



Sample Name: Amoxyphen Gélule Lot 150/601; Date Acquired: 3/2/2016 12:38:05 PM CET; Vial: 29; Injection: 1

Sample Name: Amoxyphen Gélule Lot 150/601; Date Acquired: 3/2/2016 12:43:46 PM CET; Vial: 29; Injection: 2

Peak Summary with Statistics

Name: Amoxicilline

| | Sample Name | Vial | Inj | Name | Retention Time (min) | Area | % Area | Height |
|-----------|------------------------------|------|-----|--------------|----------------------|------------|--------|---------|
| 1 | Amoxyphen Gélule Lot 150/601 | 29 | 2 | Amoxicilline | 3.399 | 16914003 | 100.00 | 2891672 |
| 2 | Amoxyphen Gélule Lot 150/601 | 29 | 1 | Amoxicilline | 3.400 | 16924779 | 100.00 | 2893940 |
| Mean | | | | | | 16919391.0 | | |
| Std. Dev. | | | | | | | | |

Reported by User: System

Project Name: Physico chimie/Fouad\Amoxyphen\020316

Report Method: Peak Summary Report

Date Printed:

Report Method I1091

3/2/2016

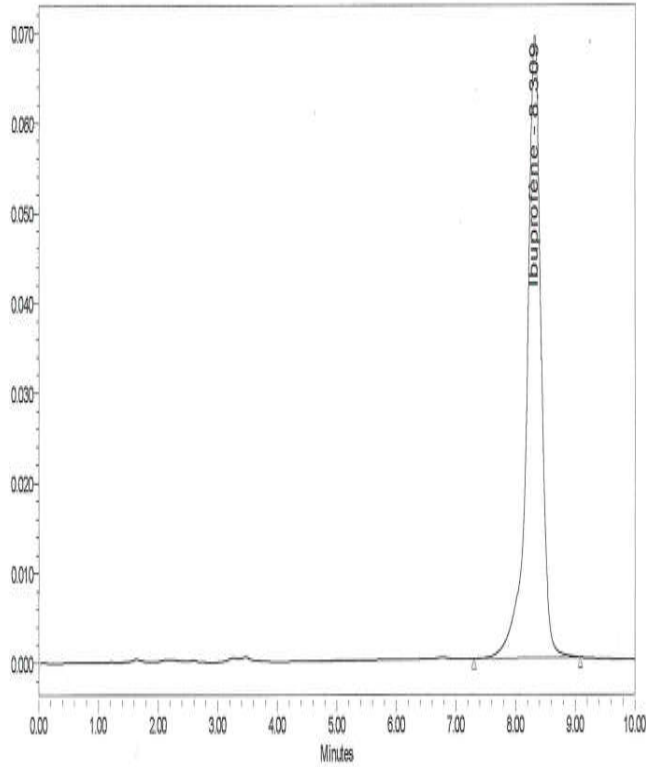
Page: 1 of 2

1:37:48 PM Africa/Algiers

Chromatogramme du dosage du PA de BACTOX

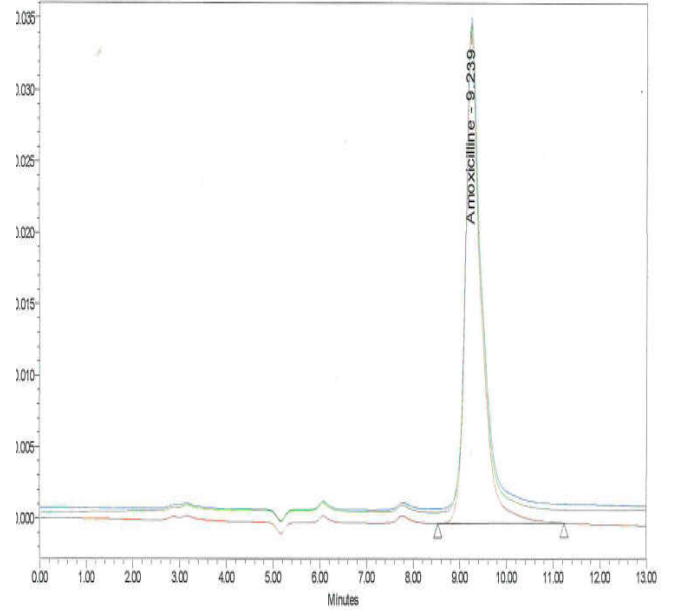
Injection #: 1 Processing Method: Ibuprofen MP
 Injection Volume: 10.00 ul Channel Name: VZ489 ChA
 Run Time: 10.0 Minutes Proc. Chnl. Descr.: VZ489 ChA 264nm

Date Acquired: 31-Mar-16 4:10:47 PM CET
 Date Processed: 03-Apr-16 8:20:22 AM CET



| PeakName | RT | Area | % Area | Height |
|--------------|-------|---------|--------|--------|
| 1 Ibuprofène | 8.309 | 1133553 | 100.00 | 69248 |

Chromatogramme du dosage du PA Cp d'IBUPROFEN



Peak Summary with Statistics
Name: Amoxicilline

| | Sample Name | Vial | Inj | Name | Retention Time (min) | Area | % Area | Height |
|-----------|-------------------------------|------|-----|--------------|----------------------|----------|--------|--------|
| 1 | Amoxypen Disp Lot 150 601 CP1 | 20 | 1 | Amoxicilline | 9.239 | 812191 | 100.00 | 34409 |
| 2 | Amoxypen Disp Lot 150 601 CP2 | 21 | 1 | Amoxicilline | 9.243 | 806704 | 100.00 | 34185 |
| 3 | Amoxypen Disp Lot 150 601 CP3 | 22 | 1 | Amoxicilline | 9.255 | 810782 | 100.00 | 34269 |
| Mean | | | | | | 809892.3 | | |
| Std. Dev. | | | | | | | | |
| % RSD | | | | | | | | |

Chromatogramme du dosage du PA CP de BRUFEN

Annexe5: Expressions de calculs

1. Expression de calcul du dosage et du taux de libération du PA

$$T(\%) = \text{Aires ech}/\text{Aire std} * \text{Cstd}/\text{Cech} * P$$

T: Teneur en principe actif

Aire_{Ech}: Aire du pic d'amoxicilline de la solution Echantillon

Aire_{std}: Aire du pic d'amoxicilline de la solution standard

C_{std}: Concentration de la solution Echantillon (mg/ml)

C_{ech}: Concentration de la solution standard (mg/ml)

P: Pureté de l'amoxicilline standard

a. Expression de calcul du pourcentage des impuretés

Calculer le pourcentage de chaque impureté dans la portion d'amoxicilline par la formule suivante :

$$T = r_u/r_s * C_s/(C_u)) * F * 100$$

- **r_u** : Aire de la solution à examiner
- **r_s** : aire de la solution du standard
- **c_u** : concentration de la solution à examiner en mg/ml
- **c_s** : concentration de la solution standard en mg/ml
- **P** : puissance du standard utilisé en g/mg

