



Licence Es-Sciences et Techniques (LST)

# TECHNIQUES D'ANALYSE ET CONTROLE DE QUALITE (TACQ)

PROJET DE FIN D'ETUDES

## CONTRÔLE DE QUALITE DES DIFFERENTS COMPOSANTS D' UN MEDICAMENT $\beta$ -LACTAMINE

Présenté par :

◆ HAYANI Sonia

Encadré par :

- ◆ Pr. KANDRI RODI Youssef
- ◆ Mme. ENNAJI Saida

**Soutenu Le 17 Juin 2015 devant le jury composé de:**

- Pr. KANDRI RODI Youssef
- Pr. CHAKROUNE Said
- Mme. ENNAJI Saida
- Pr. TOUZANI Hanane

**Stage effectué à PROMOPHARM S.A**

**Année Universitaire 2014 / 2015**

## ***REMERCIEMENT***

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage et qui m'ont aidé lors de la rédaction de ce rapport.

Tout d'abord, j'adresse mes remerciements à mon professeur, **Mr. Youssef KANDRI RODI** qui m'a beaucoup aidé à réaliser ce projet. Son écoute et ses conseils m'ont permis d'accomplir ce travail enrichissant.

Je tiens à remercier vivement les personnes suivantes pour leur accueil sympathique :

Mme Saida Ennaji, responsable des laboratoires de contrôle de qualité au sein de l'entreprise PROMOPHARM ;

Mr Hicham Touil, chef d'équipe du produit fini ;

Mme Kaoutar Jiar chef d'équipe de la matière première.

Je remercie également toute l'équipe industrielle pour leur esprit d'équipe et en particulier Mr Abdourahim Ait Benaali, Mr Abd el wahed Abid et Mlle Majida el Wahidi qui ont su trouver un peu de temps pour m'aider dans mes missions.

---

## LISTE DES ABREVIATIONS

- **S.A** : société anonyme
  - **PSF** : produit semi fini
  - **PF** : produit fini
  - **UICPA** : union internationale de chimie pure et appliquée
  - **DCI** : dénomination commune internationale
  - **AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché
  - **SCR** : substance chimique de référence
  - **R** : réactif
  - **V** : volume.
-

## **LISTES DES FIGURES**

<b>Figure 1</b> : Les principales étapes de la production des médicaments .....	10
<b>Figure 2</b> : Différents types de laboratoires au sein de l'entreprise .....	11
<b>Figure 3</b> :noyau $\beta$ -lactame .....	14
<b>Figure 4</b> :Cycle $\beta$ -lactame + cycle pentagonal thiazolidine .....	15
<b>Figure 5</b> :HPLC WATERS ALLIANCES .....	19
<b>Figure 6</b> : SPECTRUM 100 PERKIN ELMER .....	20
<b>Figure 7</b> : Appareil Titrateur volumétrique Karl Fischer METTLER TOLEDO	21
<b>Figure 8</b> : Spectre IR de l'amoxicilline.....	22
<b>Figure 9</b> : Chromatogramme de la solution témoin (b) des substances apparentées .....	26
<b>Figure 10</b> : Chromatogramme de la solution Essai des substances apparentées	27
<b>Figure 11</b> : superposition des chromatogrammes de la solution témoin c des substances apparentées .....	28
<b>Figure 12</b> : Chromatogramme de la solution essai lors du dosage de l'amoxicilline.....	29
<b>Figure 13</b> : superposition des chromatogrammes de la solution essai lors du dosage de l'amoxicilline.....	30
<b>Figure 14</b> : Plaque CCM de l'identification de l'arôme fraise.....	32
<b>Figure 15</b> :Chromatogramme de la solution témoin lors du dosage de l'amoxicilline et clavulanate de potassium .....	37
<b>Figure 16</b> :Chromatogramme de la solution essai lors du dosage de l'amoxicilline et clavulanate de potassium .....	37

---

## **LISTES DES TABLEAUX**

<b>Tableau 1</b> : Résultats de conformité du système (solution témoin b) des substances apparentées .....	27
<b>Tableau 2</b> : Résultats de mesures (temps de rétention et surface) de la solution essai des substances apparentées .....	27
<b>Tableau 3</b> : Résultats de mesures (temps de rétention et surface) de la répétabilité de la solution témoin des substances apparentées.....	28
<b>Tableau 4</b> : Résultats de mesures de la solution essai lors du dosage de l'amoxicilline.....	29
<b>Tableau 5</b> : Résultats de mesures de la solution essai lors du dosage de l'amoxicilline.....	30
<b>Tableau 6</b> : résultats de mesures ( $t_R$ moyen et surface moyenne) lors du dosage de l'amoxicilline et l'acide clavulanique .....	38

---

## Table des matières

INTRODUCTION GENERALE .....	1
I. Présentation de la société PROMPHARM et ses différentes activités : .....	9
1. Présentation de la société PROMOPHARM S.A : .....	9
2. Description des activités du laboratoire de contrôle qualité LCQ: .....	9
3. Principales étapes de production de PROMOPHARM S.A : .....	10
a) Pesée et fractionnement.....	10
b) Fabrication.....	10
c) Conditionnement primaire.....	10
d) Conditionnement secondaire .....	10
e) Stockage .....	11
4. Laboratoires de contrôle qualité (LCQ) dans PROMOPHARM S.A : .....	11
II. Généralités : .....	11
1. Médicaments :.....	11
2. Contrôle qualité (CQ) :.....	12
3. Assurance qualité (AQ) :.....	13
4. La pharmacopée européenne (PH. EUR) :.....	13
A- Antibiotiques $\beta$ -lactamines :.....	14
1. Définitions d'un antibiotique : .....	14
2. Les $\beta$ -lactamines : .....	14
3. Noyau $\beta$ -lactame : .....	14
5. La pénicilline :.....	15
6. Les inhibiteurs de $\beta$ -lactamases : .....	15
B- Matière Première .....	16
I. Principe actif : Amoxicilline Trihydraté.....	16
1. Structure chimique : .....	16
2. Nomenclature scientifique selon UICPA :.....	16
3. Classification :.....	16
4. Propriétés pharmacocinétiques : .....	16
C- Produit fini :.....	17
I. Médicament $\beta$ -lactamine : ECOCLAV 500mg /62.5mg.....	17
Identification du médicament :.....	17

---

1. Structures chimiques des deux principes actifs : .....	17
2. Dénomination :.....	17
3. Composition : .....	17
4. Excipients :.....	17
5. Forme pharmaceutique :.....	17
6. Indications thérapeutiques : .....	17
7. Contre-indications : .....	18
8. Effets indésirables : .....	18
D- Instrumentation.....	19
I. CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE HPLC.....	19
1. Principe.....	19
2. Appareillage.....	19
3. Système de pompe.....	20
4. Injecteur .....	20
5. Colonne .....	20
6. Détecteur.....	20
II. Spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge (IR).....	20
1. Principe :.....	21
III. Titrateur Karl Fischer .....	21
A- Contrôle de qualité de la matière première.....	22
I. Principe actif : AMOXICILLINE trihydratée. ....	22
1. Contrôle organoleptique :.....	22
2. Identification : .....	22
3. Détermination du pH et du pouvoir rotatoire spécifique : .....	23
4. Substances apparentées et dosage de l'amoxicilline trihydratée.....	25
a) Substances apparentées* :.....	26
b) Dosage* : .....	29
II. Excipient : arôme fraise .....	31
1. Contrôle organoleptique :.....	31
2. Identification : .....	31
3. Densité.....	32
4. Indice de réfraction .....	33
5. Pouvoir de rotation spécifique .....	33
6. Indice d'acide.....	33

---

B- Contrôle du produit FINI : ECOCLAV 500mg/62.5.....	34
1. Contrôle organoleptique .....	34
2. Masse moyenne expérimentale .....	34
3. Perte à la dessiccation .....	35
4. Identification des principes actifs (l'amoxicilline et l'acide clavulanique) .....	35
5. Dosage de l'amoxicilline et l'acide clavulanique. ....	35
a) Protocole d'analyse par HPLC.....	35
b) Préparation des solutions.....	36
c) Procédé.....	36
d) Résultats : .....	37
CONCLUSION .....	41
Référence : .....	42

---



## INTRODUCTION GENERALE

**L'**industrie pharmaceutique marocaine remplit une mission sociale et économique de grande importance ; celle de rendre disponible, à de larges franges de la population marocaine, des médicaments efficaces et de qualité à même de traiter toutes les pathologies.

Avec 32 unités industrielles, 50 distributeurs et plus de 11 000 pharmacies, l'industrie pharmaceutique marocaine occupe, par sa taille, la deuxième place à l'échelle du continent africain après l'Afrique du Sud.

La production locale couvre 65% de la demande intérieure et le Maroc exporte 7 à 8% de sa production, en particulier vers les pays africains voisins. En effet, dans une récente étude de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), le Maroc est classé Zone Europe, par la qualité de la fabrication des médicaments.

### **Objectif de stage :**

Le stage au sein de l'entreprise PROMOPHARM S.A m'a permis d'acquérir une expérience pratique en lien avec mes études supérieures en faisant des contrôles physico-chimiques pour :

- ✓ Evaluer la qualité des médicaments
  - ✓ Vérifier des paramètres organoleptiques
  - ✓ Identifier et doser les principes actifs
-

## I. **Présentation de la société PROMOPHARM et ses différentes activités :**

### **1. Présentation de la société PROMOPHARM S.A :**

PROMOPHARM S.A est un établissement pharmaceutique industriel spécialisé dans la production, la commercialisation, la représentation, l'importation et l'exportation des spécialités pharmaceutiques.

L'activité de PROMOPHARM S.A repose à la fois sur :

- des partenariats forts avec des laboratoires pharmaceutiques internationaux, grâce auxquels la société fabrique et distribue des produits sous licences, bénéficiant ainsi de leur maîtrise du métier, de leur potentiel technologique et de leur recherche et développement,
- un savoir-faire est un outil industriel permettant à la société de produire et de commercialiser directement ses génériques.

### **2. Description des activités du laboratoire de contrôle qualité LCQ:**

Les principales missions du contrôle qualité sont les suivantes :

- ✓ Prélèvement et échantillonnage des matières premières, des articles de conditionnement, des produits en cours de production (PSF) et des produits finis ;
- ✓ Analyse des échantillons prélevés ou reçus des différents ateliers de production ;
- ✓ Saisie des résultats obtenus au niveau d'une application informatique et édition des certificats d'analyse ;
- ✓ Transmission de toutes les données à l'assurance qualité pharmaceutique pour compléter le dossier de lot avant libération.

Promopharm S.A. utilise, pour la gestion des différentes données analytiques, une application informatique, qui permet d'avoir un système de quarantaine informatique, interdisant toute utilisation d'une matière ou d'un article non libérés ou la vente d'un produit fini non libéré.

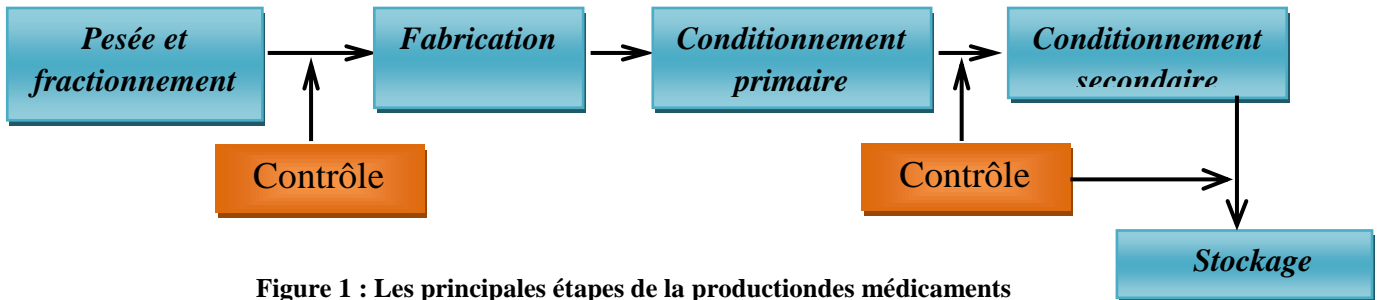
Les contrôles des matières premières et des articles de conditionnement se font selon les spécifications figurant dans les dossiers d'enregistrement et dans les pharmacopées en vigueur.

Les contrôles des produits finis se font conformément aux spécifications figurant dans les dossiers d'AMM déposés au ministère de la santé.

---

### **3. Principales étapes de production de PROMOPHARM S.A :**

Les principales étapes de production de Promopharm S.A. peuvent être énumérées comme suit:



**Figure 1 : Les principales étapes de la production des médicaments**

#### **a) Pesée et fractionnement**

Cette étape consiste à peser les matières premières et à fractionner les articles de conditionnement qui vont être utilisés par la production. Ces produits sont ensuite livrés pour leur mise en œuvre.

Tout d'abord une étape de pesée et de préparation des matières premières pour chaque lot qui se fait sur ordre du Service de Planification dans une centrale attenante au magasin de stockage. Les matières préparées sont ensuite regroupées et livrées à chaque atelier, 24 heures avant la date prévue pour la fabrication. Ces matières sont vérifiées avant leur mise en œuvre (pesée, étiquetage, etc.) Un système d'identification des articles de conditionnements par code à barres a été mis en place en 2006.

Ces codes sont lus de façon systématique grâce à des lecteurs installés sur les machines de conditionnement secondaire.

#### **b) Fabrication**

Les matières premières subissent un traitement spécifique indiqué dans un protocole de fabrication précisant, non seulement, les différentes étapes du processus, mais également les conditions de température, de pression, de filtration d'air, de stérilisation, etc. à respecter.

#### **c) Conditionnement primaire**

Le produit semi-ouvré obtenu est ensuite réparti dans son conditionnement primaire (en contact direct avec le produit) : Blisters ou piluliers pour les comprimés et gélules, flacons pour les sirops, tubes pour les pommades et ampoules pour les injectables et buvables.

#### **d) Conditionnement secondaire**

Le produit semi-fini obtenu précédemment est emballé dans son conditionnement secondaire (sans contact avec le produit). Le produit est ainsi mis en étui et ensuite en carton. Celui-ci doit laisser apparaître clairement le nom du produit, son dosage et sa présentation, son prix, son numéro de lot et sa date de péremption.

---

e) Stockage

Les lots de produits finis sont ensuite transférés en quarantaine au magasin de distribution, en attente de libération par le pharmacien responsable ou son délégué ; ils seront alors disponibles pour la vente.

**4. Laboratoires de contrôle qualité (LCQ) dans PROMOPHARM S.A :**

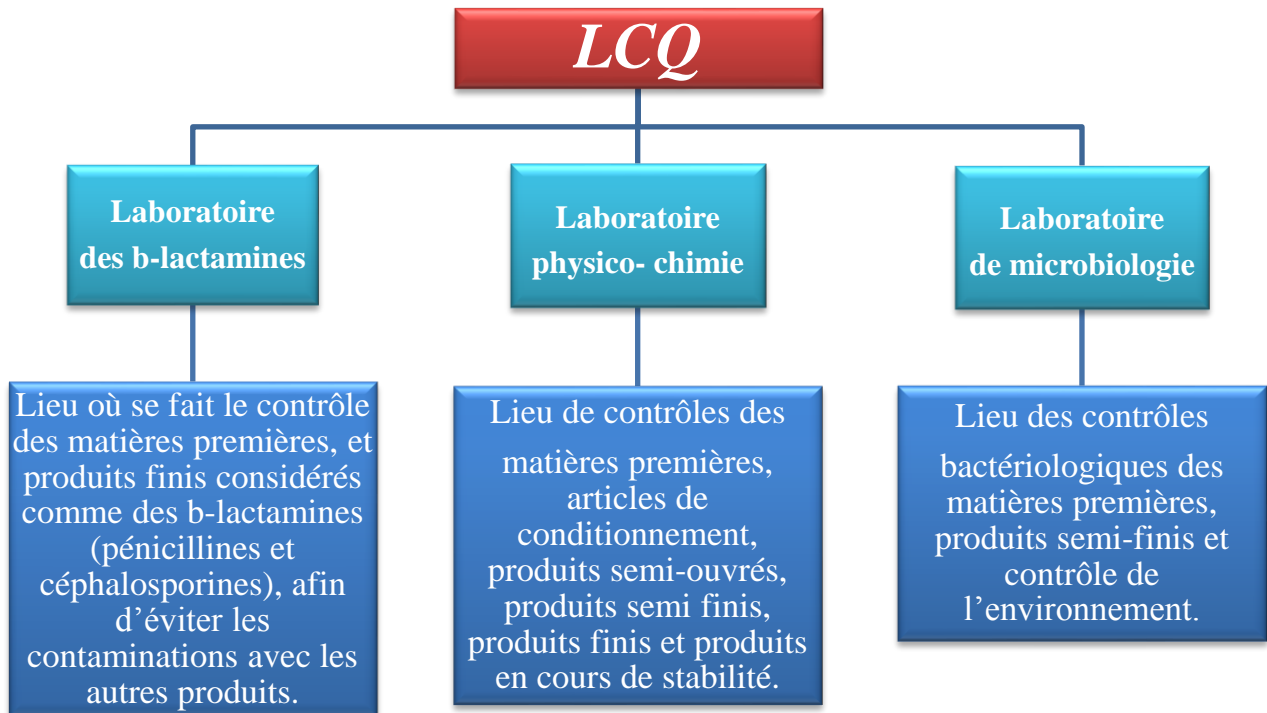


Figure 2 : Différents types de laboratoires au sein de l'entreprise

II. **Généralités :**

1. **Médicaments :**

• ***Définition :***

Toute substance ou composition possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou l'animal, en vue d'établir un diagnostic médical ou restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques.

- **Composition :**

Le médicament contient :

-**un principe actif** : Substance douée de propriétés pharmacologiques et à la base de l'effet thérapeutique.

-**des excipients** : Sans action pharmacologique destiné à faciliter la fabrication, l'administration, et la conservation du médicament (Liants, lubrifiants, délitants, colorants, édulcorants, conservateurs,.....)

- **Qualité des médicaments :**

Le système de gestion de la qualité des médicaments est basé sur deux grands principes :

-le contrôle de la qualité.

-l'assurance de la qualité.

Ces 2 principes sont à appliquer à tous les stades depuis l'achat des intrants pharmaceutiques jusqu'à la distribution du PF.

## **2. Contrôle qualité (CQ) :**

Action de contrôle qui permet de vérifier que les caractéristiques d'un produit sont conformes aux spécifications définies préalablement dans le dossier d'enregistrement du médicament. Pour garantir la qualité irréprochable du médicament, les équipes industrielles effectuent de nombreux contrôles qui portent sur les matières premières, les produits semi finis, les produits finis ou encore les articles de conditionnement :

- ✓ **Le contrôle Matières Premières:**

Tout produit entrant dans la composition et la fabrication d'un médicament passe au laboratoire de contrôle qui vérifiera que les caractéristiques du produit correspondent bien aux spécifications qui ont été définies préalablement.

- ✓ **Le contrôle Articles de Conditionnement :**

Tous les éléments entrant dans le conditionnement subissent des tests qui permettent de vérifier que leurs caractéristiques correspondent aux spécifications qui ont été définies préalablement.

- ✓ **Le contrôle après Conditionnement :**

Une fois les médicaments conditionnés, des échantillons sont prélevés pour subir deux types de contrôles :

- Contrôle physico-chimique : permet de vérifier le respect des spécifications à travers différents tests HPLC (Chromatographie Liquide Haute Performance), UV (Ultra-violet), ou encore CPG (Chromatographie Phase Gazeuse).
-

- Recherche des bactéries : permet de s'assurer de la conformité microbiologique du médicament.

### **3. Assurance qualité (AQ) :**

L'assurance qualité couvre tout ce qui peut, individuellement ou collectivement, influencer la qualité d'un produit. Elle représente l'ensemble des mesures prises pour s'assurer que les médicaments fabriqués sont de la qualité requise pour l'usage auquel ils sont destinés.

Le respect des règles et des procédures concerne l'ensemble des processus de l'entreprise : production, conditionnement, logistique, achat, approvisionnement, gestion de production, systèmes d'information, formation.

L'assurance qualité est donc le garant du "*faire bien*".

#### Acteurs Responsables de la Qualité :

La réalisation de l'objectif de qualité requiert une implication humaine majeure qui passe par :

- la responsabilité clairement définie de la direction de l'entreprise et de son pharmacien responsable (personne chargée au sein de l'entreprise de veiller au respect des règles édictées dans l'intérêt de la santé publique)
- la participation et l'engagement du personnel de tous les services de l'entreprise, mais aussi de ceux des fournisseurs et des distributeurs. Ceci implique une formation poussée aux BPF (Bonnes Pratiques de Fabrication) et aux procédures.

### **4. La pharmacopée européenne (PH. EUR) :**

La Pharmacopée européenne (PH. EUR) définit les exigences relatives à la composition qualitative et quantitative des médicaments, les essais à effectuer sur les médicaments et sur les substances et matériaux utilisés pour leur fabrication. Elle participe à la protection de la santé publique en élaborant des monographies générales et spécifiques, ainsi que d'autres textes réglementaires. Ces derniers permettent de réglementer la fabrication des produits de santé et d'assurer leur contrôle de qualité. Ils sont applicables sur le territoire des pays membres. Ils répondent aux besoins des autorités réglementaires, des fabricants de matières premières et de médicaments, et des services chargés des contrôles de qualité des médicaments et de leurs constituants.

---

## A- ANTIBIOTIQUES $\beta$ -LACTAMINES :

### 1. Définitions d'un antibiotique :

Toutes les substances naturelles ou synthétiques capables d'inhiber le développement et de détruire les bactéries et d'autres micro-organismes.

### 2. Les $\beta$ -lactamines :

Aperçu général : Les bêta-lactamines ( $\beta$ -lactamines) ou antibiotiques  $\beta$ -lactame sont une large classe d'antibiotiques qui comprennent les dérivés de la pénicilline, les céphalosporines, les monobactames, les carbapénèmes et les inhibiteurs de la  $\beta$ -lactamase, en bref, tout antibiotique qui contient un noyau  $\beta$ -lactame dans sa structure moléculaire. Ces molécules possèdent un noyau (cycle  $\beta$ -lactame) qui est la partie active de la molécule. Des variations au niveau de la chaîne latérale naturelle ou greffée permettent de modifier les propriétés de la molécule antibiotique <sup>[1]</sup>.

### 3. Noyau $\beta$ -lactame :

Noyau indispensable à l'activité antibactérienne mais il est responsable de l'instabilité en milieu acide. Le noyau  $\beta$ -lactame a une structure cyclique, dans laquelle on trouve trois atomes de carbone et un d'azote. Le cycle  $\beta$ -lactamine appartient à divers antibiotiques, tel la pénicilline et ont un mode d'action bien spécifique.

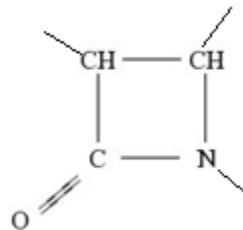


Figure 3: noyau  $\beta$ -lactame

### 4. Mécanisme d'action :

Les  $\beta$ -lactamines agissent au niveau de la paroi bactérienne en inhibant la synthèse du peptidoglycane entraînant une lyse bactérienne.

Ce sont des substances bactéricides actives uniquement sur les germes en division. Elles sont inactives sur les germes sans paroi (mycoplasmes) ou germes au repos. <sup>[2]</sup>

## 5. La pénicilline :

- Les pénicillines sont des antibiotiques appartenant aux  $\beta$ -lactamines. À la base, la pénicilline est une toxine qui provient de la moisissure *penicillium* provenant du champignon *Penicillium notatum* et qui est inoffensive pour l'homme.
- Elles ont des propriétés antibiotiques bactériostatiques : elles empêchent la synthèse de la paroi bactérienne et stoppent donc la prolifération des bactéries.

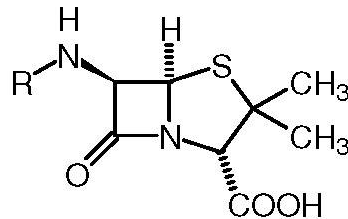


Figure 4: Cycle  $\beta$ -lactame + cycle pentagonal thiazolidine

Selon la nature des substituants, on distingue<sup>[3]</sup> :

- **Pénicillines G et V (sensibles aux pénicillinases)**
- **Pénicillines résistantes aux pénicillinases :**
  - méthicilline acidosensible.
  - isooxazolylpénicillines acido-résistantes (oxacilline, cloxacilline,).
- **Pénicillines A (aminopénicillines) acidorésistantes et présentant un spectre élargi :**
  - Ampicilline, Amoxicilline.
  - ciclacilline
- **Pénicillines acidosensibles à très large spectre :**
  - carboxypénicillines (ticarcilline, carbénicilline, témocilline)
  - acyluréidopénicillines (pipéracilline, azlocilline, mézlocilline)
- **Amidinopénicillines :**
  - pivmécillinam.

## 6. Les inhibiteurs de $\beta$ -lactamases :

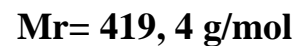
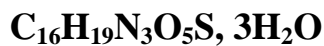
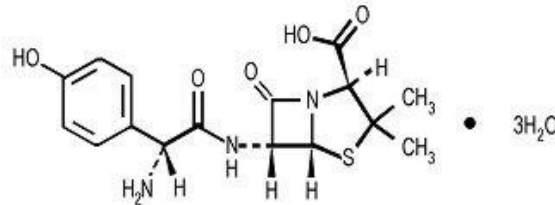
Les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases sont des dérivés de l'acide clavulanique et de l'acide pénicillanique, qui possèdent une activité bactérienne intrinsèque faible, mais sont de puissants inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases. Ils sont des substrats-suicide qui se lient de manière irréversible à la  $\beta$ -lactamase, empêchant son action ultérieure sur les  $\beta$ -lactames<sup>[4]</sup>.



## B- MATIERE PREMIERE

### I. Principe actif : Amoxicilline Trihydraté

#### 1. Structure chimique :



#### 2. Nomenclaturescientifique selon UICPA :

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

#### 3. Classification :

L'**Amoxicilline** est un antibiotique dérivé de la pénicilline. Il s'agit d'une aminopénicilline. Il agit contre un grand nombre de bactéries, autant à Gram positifs qu'à Gram négatifs. L'amoxicilline est un médicament bactéricide.

#### 4. Propriétés pharmacocinétiques :

- Absorption digestive élevée : l'amoxicilline est absorbée environ à 80%. Cette absorption n'est pas influencée par la présence d'aliments.
- Distribution : Le pic sérique ,2h après la prise, atteint un taux de 7à10µg/ml pour une prise de 500mg et de 15à17µg/ml pour une prise de 1g. La demi-vie est de 1h en moyenne chez un sujet à fonctions rénales normales. L'amoxicilline traverse la barrière placentaire et passe dans le lait maternel.
- Excrétion : La fraction absorbée est excrétée sous forme active : Dans les urines, en grande partie (en 6h environ, 70 à 80% de dose absorbée), La fraction non absorbée est éliminée par voie intestinale sous forme activée.

## C- PRODUIT FINI :

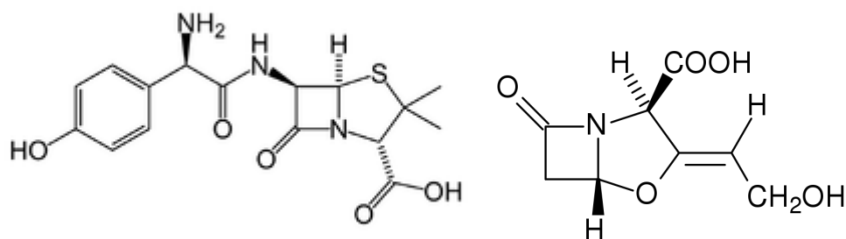
### I. Médicament $\beta$ -lactamine : ECOCLAV 500mg /62.5mg

**Principe actif :** (Amoxicilline/Acide clavulanique)

Ce produit composite contenant de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique appartient au groupe de médicaments appelés antibiotiques. Il s'utilise pour soigner les infections causées par certaines bactéries. L'amoxicilline agit en tuant les bactéries responsables de l'infection. L'acide clavulanique aide à rendre l'amoxicilline plus efficace.

#### Identification du médicament :

##### 1. Structures chimiques des deux principes actifs :



*Amoxicilline Acide clavulanique*

##### 2. Dénomination :

ECOCLAV<sup>®</sup> 500 mg/62.5 mg poudre pour suspension buvable en sachet-dose

##### 3. Composition :

Amoxicilline (DCI).....500 mg

Sous forme d'amoxicillinetrihydratée

Acide clavulanique (DCI).....62.5 mg

Sous forme de clavulanate de potassium solide

##### 4. Excipients :

Crospovidone, Aspartam, Arôme fraise, Silice précipitée hydratée.

##### 5. Forme pharmaceutique :

Ce médicament se présente sous forme de poudre pour suspension buvable en sachets-doses.

Boîtes de 12 ou 16 sachets-doses.

##### 6. Indications thérapeutiques :

Ce médicament est indiqué chez l'adulte (ECOCLAV<sup>®</sup> 1g/125 mg) et chez l'enfant de plus de 30 mois (ECOCLAV<sup>®</sup> 500 mg/62.5 mg) dans le traitement des infections dues aux

---

germes sensibles et/ou après un traitement par ce même médicament administré par voie injectable (ECOCLAV 1g/125 mg), notamment dans certaines situations où les espèces bactériennes responsables de l'infection peuvent être multiples et/ou résistantes aux antibiotiques actuellement disponibles.

### **7. Contre-indications :**

- Allergie aux antibiotiques de la famille des bêta-lactamines (pénicillines, céphalosporines) : tenir compte du risque d'allergie croisée avec les antibiotiques du groupe des céphalosporines.
- Allergie connue à l'un des composants du médicament.
- Antécédent d'atteinte hépatique liée à l'association amoxicilline/acide clavulanique.
- Phénylcétonurie (maladie héréditaire dépistée à la naissance), en raison de la présence d'aspartam (E951).

Ce médicament ne doit généralement pas être utilisé en association avec le méthotrexate.

### **8. Effets indésirables :**

Comme tous les médicaments ECOCLAV<sup>®</sup> poudre pour suspension buvable en sachet-dose est susceptible d'avoir des effets indésirables.

Les plus fréquemment observés :

- Candidose (infection due à certains champignons microscopiques), diarrhées, selles molles, nausées, vomissement.

## D- INSTRUMENTATION

### I. CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE HPLC



**Figure 5:HPLC WATERS ALLIANCES**

La chromatographie permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification.

#### **1. Principe**

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

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

Le mélange à analyser est injecté puis transporté à travers le système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme.

#### **2. Appareillage**

L'appareillage se compose d'un système de pompe, d'un injecteur, d'une colonne Chromatographique (éventuellement thermostatée), d'un détecteur et d'un système d'acquisition des données (ou d'un intégrateur ou enregistreur).

La phase mobile, délivrée à partir d'un ou plusieurs réservoirs, circule à travers la colonne, généralement à débit constant, puis passe à travers le détecteur.

---

### **3. Système de pompe**

Les systèmes de pompage pour CL doivent fournir la phase mobile à un débit constant. Il convient de limiter autant que possible les fluctuations de la pression. Les pompes pour CL peuvent être équipées d'un dispositif de purge qui permet de chasser les bulles d'air emprisonnées.

### **4. Injecteur**

La solution à examiner est introduite dans la phase mobile circulant en tête de colonne, ou à proximité de celle-ci, à l'aide d'un système d'injection conçu pour fonctionner à pression élevée.

### **5. Colonne**

Une colonne spécifique pour le produit à analyser, en inox, de quelques centimètres de longueur et remplie d'une phase stationnaire généralement en silice.

### **6. Détecteur**

Les détecteurs les plus utilisés sont les spectrophotomètres à barrette de diode (détecteur UV/Vis). La détection peut également reposer sur la fluorimétrie, la réfractométrie différentielle, des méthodes électrochimiques, la spectrométrie de masse, la dispersion de la lumière, la radioactivité et d'autres méthodes particulières.

## **II. Spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge (IR)**



**Figure 6 : SPECTRUM 100 PERKIN ELMER**

La spectroscopie infrarouge est l'un des outils les plus utilisés pour la caractérisation et l'identification des molécules organiques.

La spectroscopie IR est une méthode de caractérisation rapide et sensible de la plupart des molécules existantes.

## **1. Principe :**

La spectroscopie infrarouge est la mesure de la diminution de l'intensité du rayonnement qui traverse un échantillon en fonction de la longueur d'onde. Le rayonnement infrarouge dispense suffisamment d'énergie pour stimuler les vibrations moléculaires à des niveaux d'énergie supérieurs. La spectroscopie infrarouge s'utilise principalement pour l'analyse qualitative d'une molécule en mettant en évidence la présence des liaisons entre les atomes (fonctions et groupements). La majorité des applications se situe entre 2,5 et 15  $\mu\text{m}$  soit en nombre d'ondes de  $4000\text{ cm}^{-1}$  à  $670\text{ cm}^{-1}$  (IR moyen).

## **III. Titrateur Karl Fischer**



**Figure 7: Appareil Titrateur volumétrique Karl Fischer METTLER TOLEDO**

La détermination de la teneur en eau constitue une des principales analyses effectuées pour de nombreuses matières premières et produits finis.

Les titrateurs volumétriques Karl Fischer, de par leur conception et leur algorithme de titrage, permettent d'obtenir, rapidement, un résultat fiable ainsi que des indications claires sur la qualité de l'échantillon.

---

Tous les contrôles réalisés se font suivant la Pharmacopée européenne.

## A- CONTROLE DE QUALITE DE LA MATIERE PREMIERE

### I. Principe actif : AMOXICILLINE trihydratée.

Le contrôle de qualité de l'amoxicilline trihydratée a été effectué sur 80 lots répartis en trois mélanges homogènes.

#### 1. Contrôle organoleptique :

##### Aspect

Poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche.

→ Contrôle visuel satisfaisant

##### Solubilité

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

→ Contrôle visuel satisfaisant

#### 2. Identification :

L'identification de l'amoxicilline trihydratée, pour chaque lot, se fait par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge IR en la comparant avec l'amoxicilline trihydratée SCR.

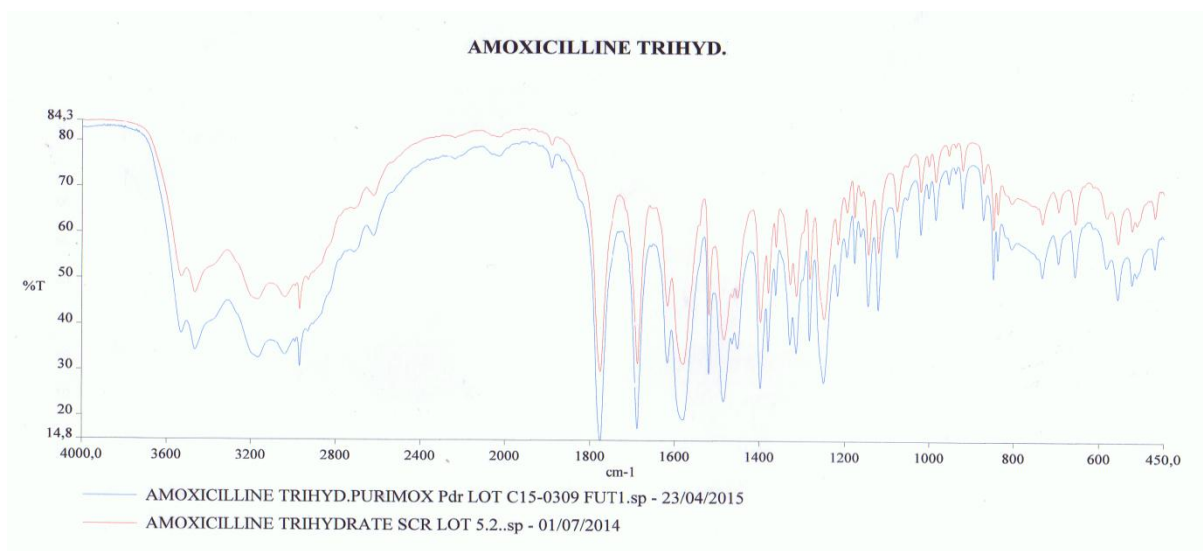


Figure 8: Spectre IR de l'amoxicilline

### Interprétation :

On remarque que les deux spectres de l'amoxicilline trihydratée pure et l'amoxicilline trihydratée SCR sont identiques l'un par rapport à l'autre, alors le résultat est positif.

Le spectre IR montre, en particulier :

- La présence d'une vibration d'élongation caractéristique  $\nu_{C=O}$  du groupe lactame vers  $1775\text{cm}^{-1}$ .
- Une vibration d'élongation  $\nu_{C=O}$  de la fonction acide vers  $1690\text{ cm}^{-1}$ .
- La fonction amide extra-cyclique sous forme d'une vibration d'élongation  $\nu_{C=O}$  vers  $1610\text{ cm}^{-1}$ .
- La bande O-H très large vers  $3400\text{-}2400\text{ cm}^{-1}$  caractéristique de la fonction acide.
- La bande O-H large dans la zone  $3300\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$  caractéristique de la fonction alcool (phénol).

### **3. Détermination du pH et du pouvoir rotatoire spécifique :**

#### **Préparation de la solution S :**

Dissolvez, à l'aide d'ultrasons ou en chauffant légèrement  $0.100\text{ g}$  d'amoxicilline trihydratée dans de l'eau exempte de dioxyde de carbone R et complétez à  $50.0\text{ ml}$  avec le même solvant.

❖ **pH** : Normes  $3.5$  à  $5.5$

Le pH est déterminé par la solution S en utilisant le pH-mètre SevenMulti.

$\text{pH}_1 = 4.81$	$\text{pH}_m = 4.597$
$\text{pH}_2 = 4.51$	
$\text{pH}_3 = 4.47$	

❖ **Teneur en eau** : Normes  $11.5\%$  à  $14.5\%$

Déterminé sur  $0.100\text{ g}$  d'amoxicilline trihydratée en utilisant un Titrateur volumétrique Karl Fischer.

Homogène	Prise d'essai	Teneur en eau	Teneur en eau moyenne
1	$P_{e1} = 0.10028\text{ g}$	$T_{e1} = 13.54\%$	$T_{em} = 13.5033\%$
2	$P_{e2} = 0.10677\text{ g}$	$T_{e2} = 13.53\%$	
3	$P_{e3} = 0.10019\text{ g}$	$T_{e3} = 13.44\%$	



❖ **Pouvoir rotatoire spécifique** : Normes +290 à +315 (substance anhydre)

Selon la pharmacopée européenne, la formule qui permet de déterminer le pouvoir rotatoire est la suivante :

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \times \text{dilution}}{l \times P_e} \times \frac{100}{100 - T_e}$$

Homogène	$\alpha$	T°C	$P_e$	$T_{em}$
1	$\alpha_1 = 1.06^\circ$	20.4°C	$P_{e1} = 0.10041 \text{ g}$	13.5033%
2	$\alpha_2 = 1.05^\circ$	20.1°C	$P_{e2} = 0.10007 \text{ g}$	13.5033%
3	$\alpha_3 = 1.03^\circ$	20.2°C	$P_{e3} = 0.10017 \text{ g}$	13.5033%

$\alpha$  : angle de rotation en degrés lu à  $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$  déterminé par le polarimètre.

$l$  : longueur en décimètres du tube polarimétrique.

$P_e$  : prise d'essai de l'amoxicilline trihydratée pour la préparation de la solution S.

$T_{em}$  : la teneur en eau moyenne des trois homogènes de l'amoxicilline trihydratée.

Application numérique :

$$[\alpha]_{D1}^{20} = \frac{1.06 \times 50}{2 \times 0.10041} \times \frac{100}{100 - 13.5033} = 305.1191^\circ \cdot \text{ml} \cdot \text{dm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$$

$$[\alpha]_{D1}^{20} = \frac{1.05 \times 50}{2 \times 0.10007} \times \frac{100}{100 - 13.5033} = 303.2675^\circ \cdot \text{ml} \cdot \text{dm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$$

$$[\alpha]_{D1}^{20} = \frac{1.03 \times 50}{2 \times 0.10017} \times \frac{100}{100 - 13.5033} = 297.1191^\circ \cdot \text{ml} \cdot \text{dm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$$

$$[\alpha]_{Dm}^{20} = \frac{305.1191 + 303.2675 + 297.1191}{3} = +301.835^\circ \cdot \text{ml} \cdot \text{dm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$$

D'après la valeur obtenue :

L'amoxicilline trihydratée est une molécule optiquement active, elle fait dévier le plan de polarisation de la lumière polarisée vers la droite. Elle est dite dextrogyre (+).

#### 4. Substances apparentées et dosage de l'amoxicilline trihydratée

Opérer selon la pharmacopée européenne édition en vigueur, chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

##### ➤ *Protocole d'analyse par HPLC*

Conditions chromatographiques :

- **Colonne** : hypersil ODS L= 0.25 m, 5 $\mu$ m, x 4.6 mm
- **Détection** : UV à 254 nm
- **Débit** : 0.1 ml/minute
- **Volume injecté**: 50  $\mu$ l
- **Phase mobile** : - A : 1V Acétonitrile et 99V de solution tampon (pH5).  
- B : 20V Acétonitrile et 80V de solution tampon (pH5).

Intervalle (min)	Phase mobile A (pour cent V/V)	Phase mobile B (pour cent V/V)
0-t <sub>R</sub>	92	8
t <sub>R</sub> -(t <sub>R</sub> +25)	92 → 0	8 → 100
(t <sub>R</sub> +25) - (t <sub>R</sub> +40)	0	100
(t <sub>R</sub> +40) - (t <sub>R</sub> +55)	92	8
t <sub>R</sub> = temps de rétention de l'amoxicilline déterminé avec la solution témoin (c)		

##### ➤ *Préparation des solutions :*

- ❖ Solution tampon pH 5.0  
On prélève 250 ml de solution de phosphate monopotassique 0.2 M, on ajuste à pH 5 avec la quantité nécessaire de solution diluée d'hydroxyde de sodium, puis on complète à 100 ml avec de l'eau.
- ❖ Solution à examiner (a)  
On dissout 30.0 mg d'amoxicilline trihydratée dans la phase mobile A et on complète à 50.0 mg avec la phase mobile A.
- ❖ Solution à examiner (b)  
On dissout 30.0 mg d'amoxicilline trihydratée dans la phase mobile A et on complète à 20.0 ml avec la phase mobile A.
- ❖ Solution témoin (a)  
On dissout 30.0 mg d'amoxicilline trihydratée SCR dans la phase mobile A et on complète à 50.0 ml avec la phase mobile.

❖ Solution témoin (b)

On dissout 4.0 mg de céfadroxil SCR dans la phase mobile A et on complète à 50 ml avec la phase mobile A. A 50.0 ml de cette solution, on ajoute 5.0 ml de solution témoin (a) puis on complète à 100 ml avec la phase mobile A.

❖ Solution témoin (c)

On prélève 2.0 ml de solution témoin (a) et on complète à 20.0 ml avec la phase mobile A. On prélève ensuite 5.0 ml de cette solution et on complète à 20.0 ml avec la phase mobile A.

a) Substances apparentées\* :

➤ Procédé

- Injecter la phase mobile A comme blanc ;
- Injecter 50 µl des solutions témoins (b) et (c) en élution isocratique avec la phase mobile ;

La solution témoin (c) pour les calculs des impuretés

La solution témoin (b) pour la conformité du système

- Injecter 50 µl de solution à examiner (b) ;

➤ Conformité du système :

Résolution : Au minimum 2.0 entre les pics dus à l'amoxicilline et au céfadroxil

➤ Facteur de symétrie :

Le facteur de symétrie du pic principal doit être compris entre 0.8 et 1.5

➤ Résultats :

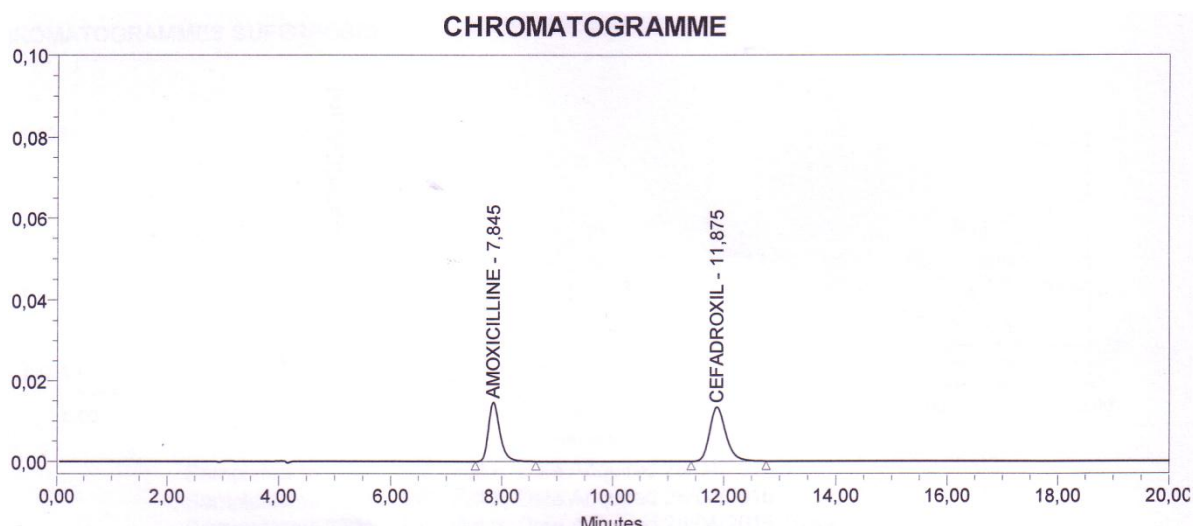


Figure 9 : Chromatogramme de la solution témoin (b) des substances apparentées

Tableau 1 : Résultats de conformité du système (solution témoin b) des substances apparentées

Nom du composant	T <sub>R</sub> (min)	Surface	Résolution
Amoxicilline	7.85	210045	9.23
Céfadroxil	11.88	269316	

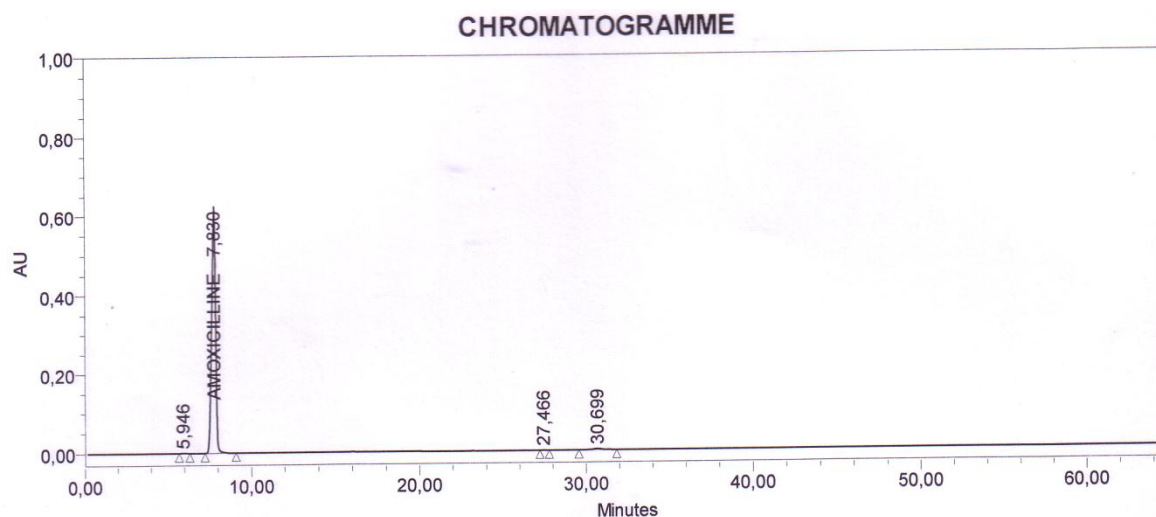


Figure 10 : Chromatogramme de la solution Essai des substances apparentées

Tableau 2: Résultats de mesures (temps de rétention et surface) de la solution essai des substances apparentées

Nom du composant	T <sub>R</sub> (min)	Surface	Nombre apparent de plateaux théoriques	Facteur de symétrie
	5.95	7016	6388	1.2
Amoxicilline	7.83	10130094	5224	0.9
	27.47	5066	190790	1.2
blanc	30.70			

#### Détermination de la limite d'exclusion (L<sub>E</sub>):

La limite d'exclusion est la limite en dessous de laquelle on ne tient pas compte des pics pour le calcul, elle est fixée à 0.05 pour cent.

$$L_E = S_{e(\text{amox})} \times 0.05\%$$

$$= 10130094 \times (0.05/100)$$

$$L_E = 5065.047$$

On remarque que les aires des composants non reconnus est supérieur à la limite d'exclusion. Par conséquent, il faut calculer le pourcentage des impuretés présentes dans la solution à examiner.

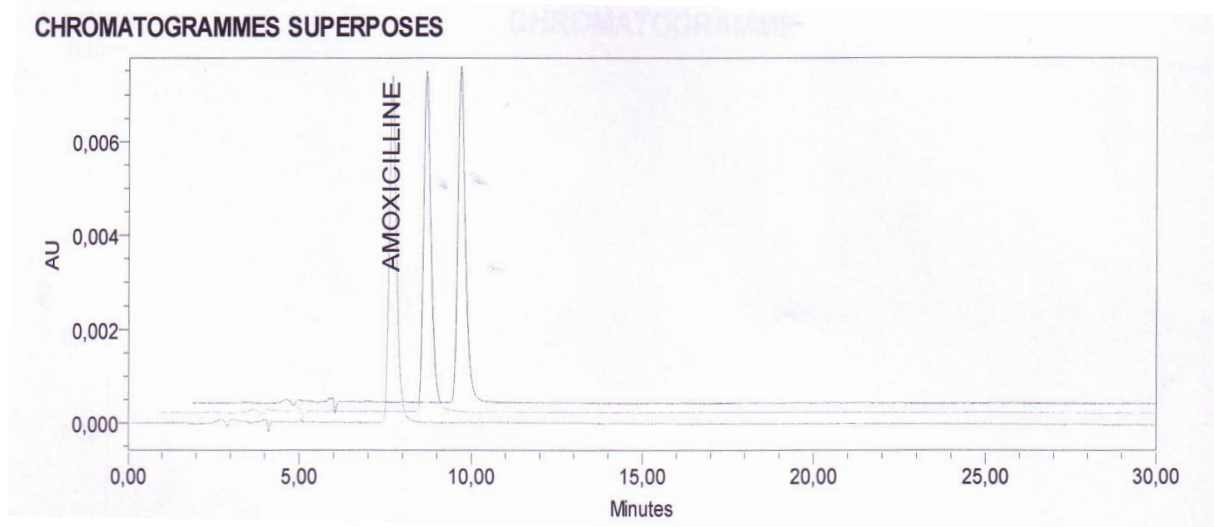


Figure 11 : superposition des chromatogrammes de la solution témoin c des substances apparentées

Tableau 3: Résultats de mesures (temps de rétention et surface) de la répétabilité de la solution témoin des substances apparentées

Echantillon	Injection	Nom du composant	T <sub>R</sub> (min)	Surface
Témoin C	1	Amoxicilline	7.681	108190
Témoin C	2	Amoxicilline	7.746	107906
Témoin C	3	Amoxicilline	7.780	1087731
<b>Moyenne</b>				<b>108289</b>

*Calcul des impuretés* : Normes : pour chaque impureté au maximum 0.1 pour cent, selon la pharmacopée européenne, la formule qui permet de calculer les impuretés est la suivante :

$$\%imp = \frac{Se}{St} \times \frac{Pt}{Pe} \times 100$$

$$\Leftrightarrow \%imp = \frac{Se}{St} \times \frac{Pt}{50} \times \frac{2}{20} \times \frac{5}{20} \times \frac{20}{Pe} \times 100$$

$$\Leftrightarrow \%imp = \frac{Se}{St} \times \frac{30}{50} \times \frac{2}{20} \times \frac{5}{20} \times \frac{20}{30} \times 100$$

$$\Leftrightarrow \%imp = \frac{Se}{St}$$

Se : surface d'essai des composants non reconnus

St : moyenne de la surface témoin (c)

*Application numérique :*

$$\%imp_1 = \frac{7016}{108289}$$

$$= 0.0647 \%$$

$$\%imp_2 = \frac{5066}{108289}$$

$$= 0.0467 \%$$

**b) Dosage\* :**

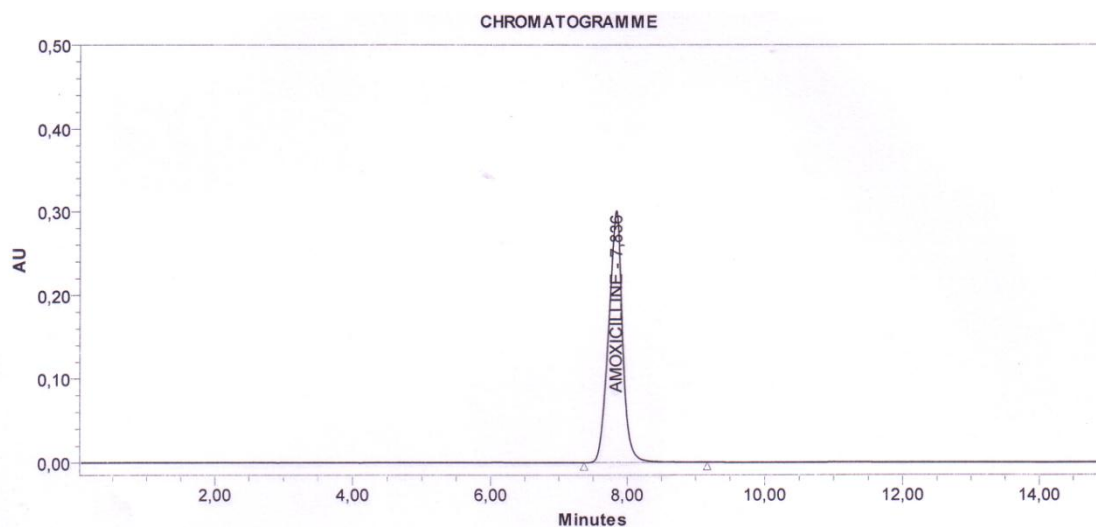
➤ **Procédé**

- Injecter le blanc
- Injecter la solution témoin (a)  
Pour la conformité du système
- Injecter la solution à examiner (a)

➤ **Conformité du système :**

Répétabilité : écart type relatif au maximum 1.0 pour cent après 6 injections.

➤ **Résultats :**



**Figure 12 : Chromatogramme de la solution essai lors du dosage de l'amoxicilline**

**Tableau 4 : Résultats de mesures de la solution essai lors du dosage de l'amoxicilline**

Nom du composant	T <sub>R</sub> (min)	Prise d'essai (mg)	surface
amoxicilline	7.84	30.9	4228086

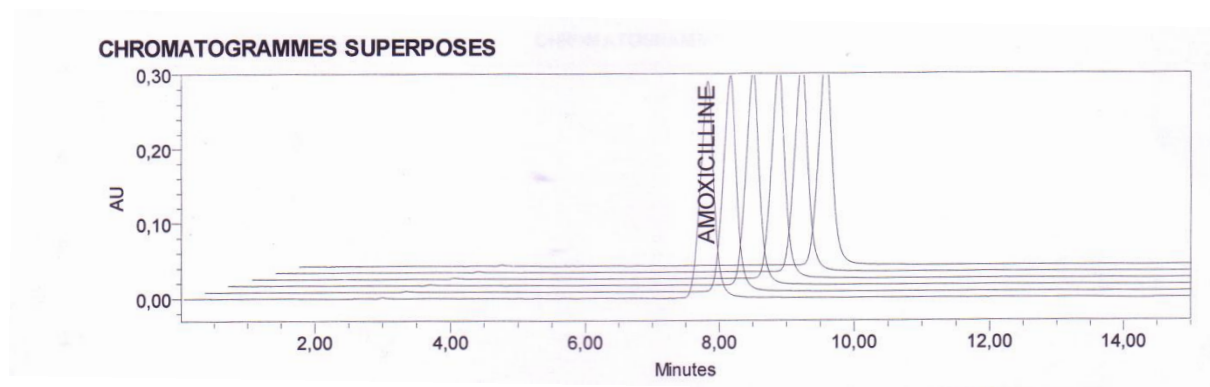


Figure 13 : superposition des chromatogrammes de la solution essai lors du dosage de l'amoxicilline

Tableau 5 : Résultats de mesures de la solution essai lors du dosage de l'amoxicilline

Echantillon	Injection	Nom du composant	T <sub>R</sub> (min)	Surface	Prise d'essai (mg)
Témoin A	1	Amoxicilline	7.826	4060732	30.0
Témoin A	2	Amoxicilline	7.811	4060246	30.0
Témoin A	3	Amoxicilline	7.799	4051114	30.0
Témoin A	4	Amoxicilline	7.827	4062583	30.0
Témoin A	5	Amoxicilline	7.815	4056073	30.0
Témoin A	6	Amoxicilline	7.819	4056553	30.0
<b>moyenne</b>				<b>4057884</b>	

**Détermination de la teneur en amoxicilline trihydratée** : Normes : 95.0 % à 102.0 %

Le calcul de la teneur pour cent en amoxicilline se fait en tenant compte de la teneur assignée de l'amoxicilline trihydratée SCR.

Ce calcul se fait en utilisant la formule suivante selon la pharmacopée européenne :

$$T_{\text{amox}} = \frac{Se}{St} \times \frac{Pt}{Pe} \times R \times \frac{100}{100 - Te}$$

T : teneur en amoxicilline trihydratée

Se : surface d'essai de l'amoxicilline trihydratée

St : moyenne de la surface témoin d'amoxicilline trihydratée SCR

Pe : prise d'essai de l'amoxicilline dans la solution à examiner (a)

Pt : prise témoin de l'amoxicilline dans la solution témoin (a)

Te : teneur en eau de l'amoxicilline trihydratée (déjà calculée)

R : teneur assignée de l'amoxicilline trihydratée SCR (Richesse)

$$\text{Richesse : } R = \frac{100 - Te}{100} \times T_R$$

$T_R$  : Titre donné par le fournisseur.

$T_e$  : Teneur en eau.

$$R_{amox} = \frac{100 - 13.5033}{100} \times 99.66$$

= 86.2 %

*Application numérique :*

$$T_{amox} = \frac{4228086}{4057884} \times \frac{30}{30.9} \times 86.2 \times \frac{100}{100 - 13.5033}$$

$$T_{amox} = 100.8125\%$$

\*Mesurés sur un mélange homogène

## II. Excipient : arôme fraise

### 1. Contrôle organoleptique :

**Aspect :**

Liquide limpide de couleur jaune pâle avec une odeur de fraise caractéristique.

→ Contrôle visuel satisfaisant

### 2. Identification :

L'identification se fait par chromatographie sur couche mince (CCM).

#### Conditions chromatographiques

**Plaque** : Gel de silice F254

**Dépôt** : 10  $\mu$ l

**Migration** : 15 cm

**Eluant** : chloroforme

#### Solution témoin

Solution standard de l'arôme fraise avec la solution préparée de méthanol 20% (V/V)

#### Solution essai

Solution essai de l'arôme fraise avec la solution préparée de méthanol 20% (V/V)

---



## Résultats :

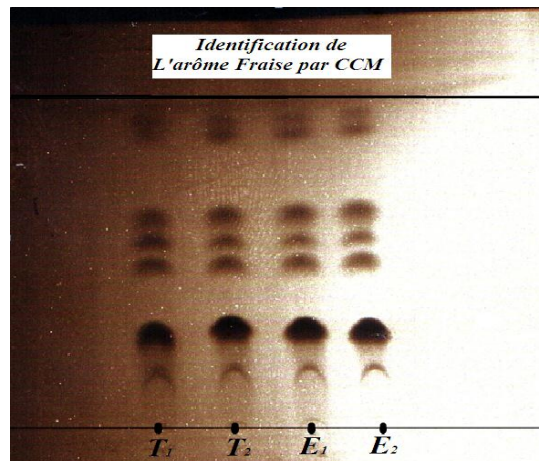


Figure 14: Plaque CCM de l'identification de l'arôme fraise

$$R_f = \frac{d}{D}$$

$R_f$  : rapport frontal

$d$  : la distance entre le ligne de dépôt et le centre de la tache laissée par l'espèce chimique considéré.

$D$  : distance parcouru par le front de l'éluant.

On a le même  $R_f$  :

$$\text{Témoin : } R_{f1} = \frac{4}{12.90} = 0.31 \quad \text{et} \quad \text{L'essai } R_{f1} = \frac{4}{12.90} = 0.31$$

$$R_{f2} = \frac{4}{12.90} = 0.31 \quad R_{f2} = \frac{4}{12.90} = 0.31$$

D'après la comparaison visuelle de la tâche principale du chromatogramme obtenue avec la solution essai et la tâche correspondante du chromatogramme obtenue avec la solution témoin (coloration, dimensions et le rapport frontal), on remarque queles témoins et les essais présentent les mêmes caractéristiques chromatographiques donc le résultat de l'identification est **positif**.

### 3. Densité

À 20°C: Normes au moins 1.026 au plus 1.046

La valeur de la densité est obtenue en utilisant le densimètre DE40.

$$d = 1.0376$$

#### **4. Indice de réfraction**

À 20°C: Normes au moins 1,428 au plus 1,438

L'indice est obtenu en utilisant le réfractomètre.

$$I_R = 1.4323$$

#### **5. Pouvoir de rotation spécifique**

Normes -3.00 à +3.00

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{2 \times \rho_{20}}$$

$\alpha$ : angle de rotation en degrés lu à 20°C  $\pm$  0.5°C (obtenue par le polarimètre ADP440)

$\rho_{20}$  : masse volumique 20°C en grammes par centimètre cube. Pour les besoins de la pharmacopée, la masse volumique est remplacée par la densité

*Application numérique :*

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{-0.1}{2 \times 1.0376}$$

$$[\alpha]_D^{20} = -0.0481 \text{ } ^\circ \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{dm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$$

#### **6. Indice d'acide**

Normes 13.00 à 17.00

L'indice d'acide  $I_A$  est le nombre qui exprime, en milligrammes, la quantité de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres. Mode opératoire du dosage : Dans 50 ml d'un mélange à volume égaux d'éthanol à 96% R et d'éther de pétrole R, on ajoute 10 ml de la solution essai de l'arôme fraise en présence de 0.5 ml de solution de phénolphtaléine R. Le titrage de la solution préparée ne se fait pas l'hydroxyde de sodium 0.1 M (on peut également titrer la solution par l'hydroxyde de potassium).

La formule suivante est donnée selon la pharmacopée européenne :

$$I_A = \frac{5.610 \times V_e}{P_e}$$

$V_e$  : volume obtenu lors du dosage de la solution titrante

$P_e$  : prise d'essai en ml.

*Application numérique*

$$I_A = \frac{5.610 \times 26.5}{10} \quad I_A = 14.8607$$

## B- CONTROLE DU PRODUIT FINI : ECOCLAV 500MG/62.5

Ce produit fini contient l'amoxicilline trihydratée comme principe actif et l'arôme fraise comme excipient.

### 1. Contrôle organoleptique

#### Aspect

Poudre homogène de couleur blanche, à crème d'odeur de fraise et au goût sucré

Le contrôle visuel se fait sur une feuille de papier blanche et à la lumière du jour.

### 2. Masse moyenne expérimentale

Contrôle sur 20 sachets avec une Balance analytique *METTLER TOLEDO XS205*

#### Masses des 20 sachets-doses

$E_i$ = masse des Sachets en (mg)				
$E_1=880.9$	$E_5=870.9$	$E_9=874.7$	$E_{13}=888.6$	$E_{17}=892.9$
$E_2=890.1$	$E_6=871.6$	$E_{10}=877.4$	$E_{14}=879.5$	$E_{18}=876.8$
$E_3=871.5$	$E_7=876.6$	$E_{11}=896.3$	$E_{15}=869.2$	$E_{19}=879.7$
$E_4=875.5$	$E_8=874.3$	$E_{12}=872.5$	$E_{16}=888.1$	$E_{20}=891.6$

Masse moyenne  $\bar{X} = 879.92 \text{ mg}$  ~~99.43%~~

Ecart-type  $s = 8.30 \text{ mg}$  ~~0.94%~~

Min 98,78%  $\longrightarrow$  869.2 mg

Max 101,86%  $\longrightarrow$  896.3 mg

Etendu  $R = 27.1 \text{ mg}$   $\longrightarrow$  3.08 %

*Normes* : 818.625 mg à 951,375 mg  $\longrightarrow$  Résultat Conforme

Uniformité de masse : normes  $\pm 7.5\%$  et  $\pm 15\%$

Normes en %	Masse en (mg)
$\pm 15$	$\pm 131.988$
$\pm 7.5$	$\pm 65.994$

La masse individuelle de 2 au plus des 20 sachets peut s'écarter de la masse moyenne de 7.5% mais la masse d'aucun sachet ne peut s'écarter de plus de 15%.

Limites de conformité :  $879.92 \text{ mg} \pm 7.5\% \rightarrow [813.926 ; 945.914]$

$879.92 \text{ mg} \pm 15\% \rightarrow [747.932 ; 1011.908]$

Donc d'après ce contrôle statistique sur les 20 sachets les résultats montrent qu'ils sont conformes aux normes car aucune valeur ne dépasse les limites.

### **3. Perte à la dessiccation**

Normes :  $\leq 12 \%$

Déterminée par une Thermo balance Infrarouge sur une prise d'essai d'environ 5g à une température de  $110 \text{ }^\circ\text{C}$  jusqu'au poids constant.

Poids initial	5.214g
Poids sèche	4.734g
<b>Résultat final</b>	<b>9.21 %</b>

La valeur obtenue par l'appareil est inférieure à 12% alors le résultat est conforme.

### **4. Identification des principes actifs (l'amoxicilline et l'acide clavulanique)**

#### **Analyse qualitative ;**

Par HPLC lors du dosage.

Le résultat est **conforme** car le pic du chromatogramme obtenu avec la solution essai a le même temps de rétention que celui du chromatogramme obtenu avec la solution témoin.

- **Amoxicilline** :  $t_R$  moyen du témoin= 5.67min et  $t_R$  de l'essai =5.57min.
- **Clavulanate de potassium** :  $t_R$  moyen du témoin= 3.48min et  $t_R$  de l'essai =3.45min.

NB : l'acide clavulanique est utilisé sous forme de clavulanate de potassium.

### **5. Dosage de l'amoxicilline et l'acide clavulanique.**

#### **Analyse quantitative ;**

Le dosage se fait suivant le mode opératoire décrit dans la technique donnée par la pharmacopée Européenne.

#### **a) Protocole d'analyse par HPLC**

##### **Condition chromatographiques :**

- **Colonne** : NOVAPACK,  $4\mu\text{m}$ ,  $300 \times 3.9 \text{ mm}$
  - **Détection** : UV à  $220 \text{ nm}$
  - **Débit** :  $1 \text{ ml/minute}$
  - **Volume d'injecté**:  $20 \mu\text{l}$
  - **Durée de l'injection** :  $10 \text{ min}$
  - **Phase mobile** : - Tampon phosphate (pH 4.4) 95 V  
- Méthanol 5V.
-

***b) Préparation des solutions***

**❖ Préparation Tampon phosphate (pH 4.4):**

On pèse 7.8g de phosphate de sodium monobasique ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$ ) et les introduire dans une fiole jaugée de 1000 ml. Dissoudre avec 900ml d'eau purifiée. Ajuster le pH à 4.4 avec de l'acide phosphorique  $\text{H}_3\text{PO}_4$  et compléter à 1000 ml avec de l'eau purifiée, on mélange et on filtre sur un filtre GHP 0.45  $\mu\text{m}$  hydrophilic polypropylène.

**❖ Préparation de la solution Témoin :**

On pèse exactement environ 56.8mg d'amoxicilline trihydratée substance de référence et 15.25 mg de clavulanate de potassium syloid (1 :1) de 100 ml. Dissoudre et compléter au volume avec de l'eau purifiée filtré sur acrodisc 0.45  $\mu\text{m}$ .

Cette solution doit être utilisée dans l'heure qui suit sa préparation.

**❖ Préparation de la solution essai :**

On mélange le contenu des 20 sachets et on pèse exactement environ 218.98 mg de poudre, les introduire dans une fiole jaugée de 250 ml, ensuite ajouté 150 ml d'eau purifiée, agité pendant 10 minutes puis compléter au volume avec le même solvant et on filtre sur acrodisc 0.45  $\mu\text{m}$ .

Cette solution doit être utilisée dans l'heure qui suit sa préparation.

Dans ces conditions chromatographiques, le temps de rétention de l'amoxicilline est d'environ 6.00minutes et celui de l'acide clavulanique est d'environ 3min 50s.

***c) Procédé***

- Injecter le blanc ;
- Injecter 3 fois la solution témoin ;
- Le coefficient de variation des 3 injections doit être inférieur à 2%
- Injecter de la solution essai.

d) Résultats :

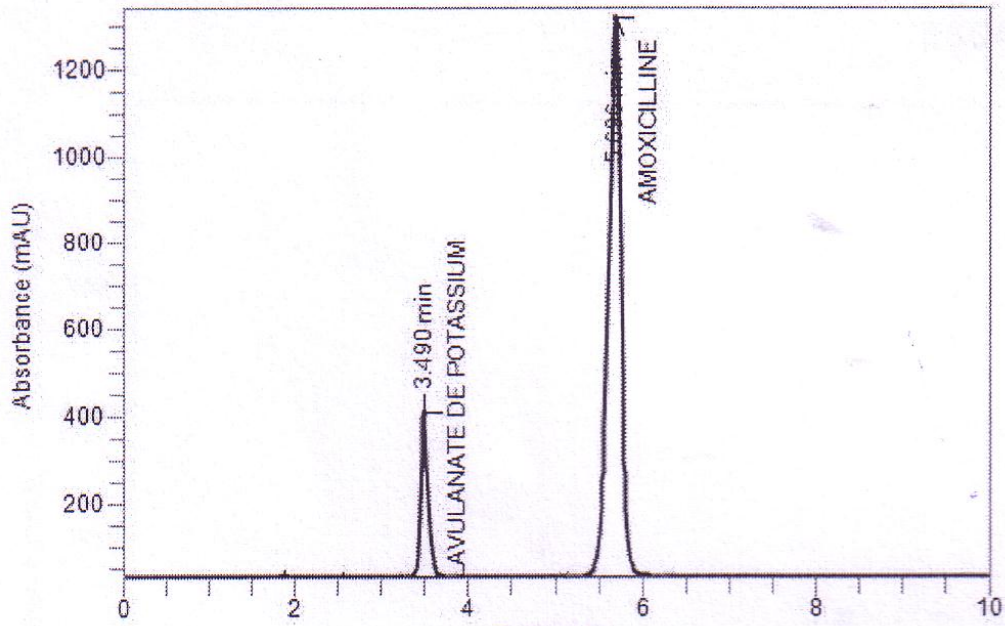


Figure 15: Chromatogramme de la solution témoin lors du dosage de l'amoxicilline et clavulanate de potassium

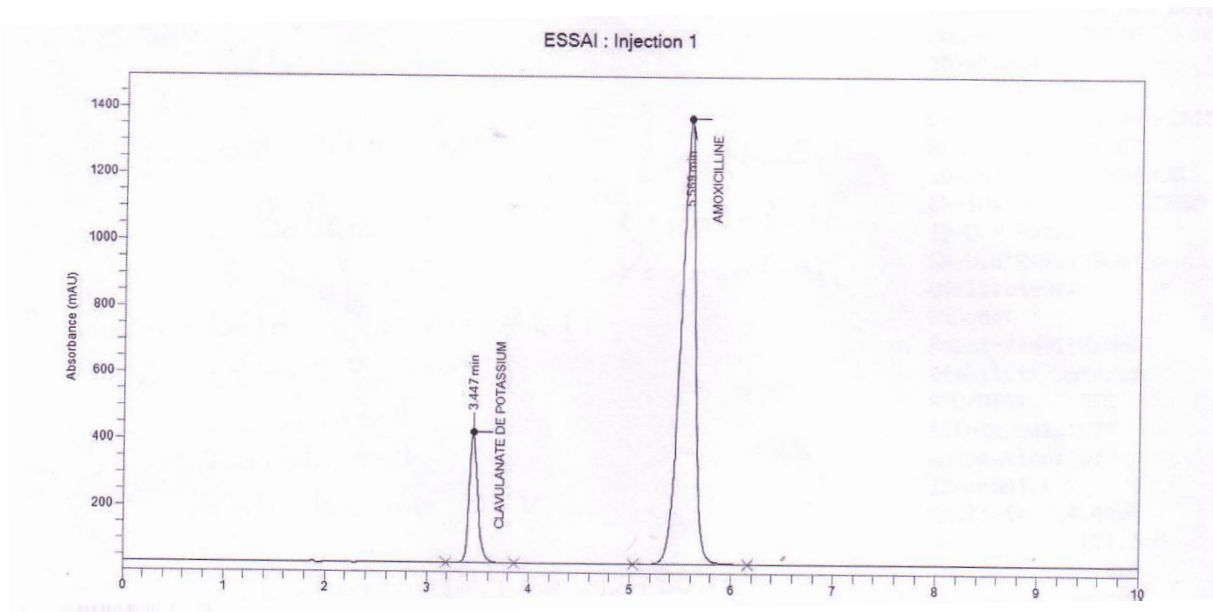


Figure 16: Chromatogramme de la solution essai lors du dosage de l'amoxicilline et clavulanate de potassium

Tableau 6: résultats de mesures ( $t_R$  moyen et surface moyenne) lors du dosage de l'amoxicilline et l'acide clavulanique

Répétabilité Témoin et Essai	Non du composant	$t_R$ (min)	$t_{R_{moyen}}$ (min)	surface	Surface moyenne	Coefficient de variation
<i>Témoin injection 1</i>	<i>Amoxicilline</i>	<i>5.70</i>	<i>5.67</i>	<i>13 142 299</i>	<i>13 111 140</i>	0.82
	<i>Clavulanate de potassium</i>	<i>3.49</i>		<i>2 241 169</i>		
<i>Témoin injection 2</i>	<i>Amoxicilline</i>	<i>5.67</i>	<i>3.49</i>	<i>13 199 532</i>	<i>2 236 276</i>	
	<i>Clavulanate de potassium</i>	<i>3.49</i>		<i>2 251 730</i>		
<i>Témoin injection 3</i>	<i>Amoxicilline</i>	<i>5.64</i>	<i>3.49</i>	<i>12 991 588</i>	<i>2 236 276</i>	
	<i>Clavulanate de potassium</i>	<i>3.47</i>		<i>2 215 928</i>		
<i>Essai</i>	<i>Amoxicilline</i>	<i>5.57</i>	<i>5.57</i>	<i>13 359 271</i>	<i>13 359 271</i>	—
	<i>Clavulanate de potassium</i>	<i>3.45</i>	<i>3.45</i>	<i>2 303 417</i>	<i>2 303 417</i>	

- Détermination de la teneur

❖ Richesse :

$$R = \frac{100 - T_e}{100} \times T_R$$

$T_R$  : Titre donné par le fournisseur.

$T_e$  : Teneur en eau.

Application numérique :

$$R_{amox} = \frac{100 - 12.66}{100} \times 100.9$$

$$R_{amox} = 88.13 \%$$

$$R_{a.clavu} = \frac{100 - 2.27}{100} \times 42.19$$

$$R_{a.clavu} = 41.23 \%$$

- ❖ La teneur ( $T_1$ ) en amoxicilline exprimée en mg par sachet est calculée selon la formule suivante :

$$T_1 = \frac{S_e}{S_t} \times \frac{P_t}{P_e} \times \frac{R_{amox}}{100} \times MME \times 2.5$$

$S_e$  : Surface du pic de l'amoxicilline dans la solution essai ;

$S_t$  : Surface du pic de l'amoxicilline dans la solution témoin ;

$P_t$  : Prise d'essai témoin (en mg) ;

$P_e$  : Prise d'essai de l'échantillon à contrôler (en mg)

$MME$  : Masse moyenne expérimentale du sachet (en mg)

$R_{amox}$  : richesse du témoin en amoxicilline.

**2.5** : facteur de dilution

*Application numérique :*

$$T_1 = \frac{13359271}{13111140} \times \frac{56.84}{219.367} \times \frac{88.13}{100} \times 879.92 \times 2.5$$

$$T_1 = \mathbf{511.84mg /sachet}$$

**Théorique** : 500,00 mg/sachet

**Normes** : 475,00 mg à 525,00mg / sachet.

- ❖ La teneur ( $T_2$ ) en acide clavulanique exprimée en mg par sachet est calculée selon la formule suivante :

$$T_2 = \frac{S_e}{S_t} \times \frac{P_t}{P_e} \times \frac{R}{100} \times MME \times 2.5$$

$S_e$  : Surface du pic de clavulanate de potassium dans la solution essai ;

$S_t$  : Surface du pic de clavulanate de potassium dans la solution témoin ;

$P_t$  : Prise d'essai témoin (en mg) ;

$P_e$  : Prise d'essai de l'échantillon à contrôler (en mg)

$MME$  : Masse moyenne expérimentale du sachet (en mg)

$R$  : richesse du témoin en acide clavulanique.

**2.5** : facteur de dilution.

---



*Application numérique :*

$$T_2 = \frac{2303417}{2236276} \times \frac{15.28}{219.367} \times \frac{41.23}{100} \times 879.92 \times 2.5$$

$$T_1 = \mathbf{65.07mg /sachet}$$

**Théorique :** 62,50 mg/sachet

**Normes :** 59,36 mg à 68,91 mg / sachet.

Les résultats trouvés par les contrôles effectués sur le produit (aspect, masse moyenne, identification et dosage de l'amoxicilline et l'acide clavulanique) sont confrontés aux normes données par la pharmacopée Européenne donc notre antibiotique **ECOCLAV** s'avère **conforme**

## CONCLUSION

Le contrôle des différents constituants d'un médicament est une activité de routine pour les laboratoires de contrôle de qualité au sein de l'entreprise PROMOPHARM. L'évaluation de la conformité se fait selon le protocole de la pharmacopée européenne.

Les substances pharmaceutiques sur lesquelles j'ai effectué des essais physiques et chimiques et des dosages répondent aux normes décrites dans les spécifications données par la Pharmacopée européenne pour le **contrôle de la qualité des médicaments**. Lors du contrôle de qualité des deux substances amoxicilline, arôme fraise et le produit fini ECOCLAV, on a utilisé des techniques analytiques qui nous ont permises d'identifier et de doser ces éléments particuliers à usage pharmaceutique :

La spectrophotométrie d'absorption par infrarouge est un exemple parfait d'essai qualitatif. Elle est une technique qui permet l'identification par comparaison avec un spectre de référence. Elle fournit des informations très complètes comme preuve de l'identité du principe actif.

Le dosage des substances apparentées fait par HPLC a pour objectif de contrôler la présence d'impuretés indésirables toxiques ou non dans la solution à examiner.

L'essai de perte à la dessiccation permet de contrôler l'humidité résiduelle définie dans la matière analysée. Par contre, le titrateur *Karl Fischer* permet de déterminer spécifiquement la teneur en eau présente dans une matière.

Le dosage des principes actifs a pour but de déterminer avec précision la teneur exacte, exprimée en pourcentage en utilisant la technique HPLC de manière quantitative.

La méthode CCM est efficace pour l'identification des excipients en les comparant avec une substance de référence.

---

## **Référence :**

[1] : [http://fr.wikipedia.org/wiki/antibiotique\\_bêta-lactamine](http://fr.wikipedia.org/wiki/antibiotique_bêta-lactamine)

[2] : Cours de pharmacologie : Association des enseignants de Pharmacologie « ellipses »  
copyright 1987

[3] : <http://www.123bio.net/cours/antibio/index.html>.

Les différentes classes d'antibiotiques

[4] : <http://www.scribub.com/limba/franceza/ANTIBIOTIQUESANTIBACTERIENNES23541257.php>

---