

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Constantine 3



Faculté de Médecine



Département de Pharmacie

THESE

Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Médicales

Spécialité: Pharmacologie

**Les aspects de la qualité pharmaceutique et  
pharmacodynamique des génériques  
d'Amoxicilline commercialisés en Algérie par  
rapport au princeps.**

Par Dr DOUAOUI Abdelkader

Directeur	TOUMI Houari	Professeur	Université d'Oran
Président	Mansouri Kamel	Professeur	Université d'Alger
Examineur	Hadef Youcef	Professeur	Université d'Annaba
Examineur	Chader Henni	Professeur	Université d'Alger
Examineur	Boudia Fatima	Professeur	Université d'Oran

Soutenue publiquement le 20/07/2023

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Constantine 3



Département de Pharmacie

Faculté de Médecine



**THESE**

Pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Médicales  
Spécialité : Pharmacologie

**Les aspects de la qualité pharmaceutique et  
pharmacodynamique des génériques  
d'Amoxicilline commercialisés en Algérie par  
rapport au princeps.**

Par Dr DOUAOUI Abdelkader

Directeur	TOUMI Houari	Professeur	Université d'Oran
Président	Mansouri Kamel	Professeur	Université d'Alger
Examineur	Hadef Youcef	Professeur	Université d'Annaba
Examineur	Chader Henni	Professeur	Université d'Alger
Examineur	Boudia Fatima	Professeur	Université d'Oran

Soutenue publiquement le 20/07/2023

# Remerciements

**À Pr. TOUMI HOUARI, Directeur de thèse**  
**Professeur HU en pharmacologie, chef de service de Pharmacologie, EHU d'Oran**

Je tiens à vous exprimer mes plus sincères remerciements pour votre encadrement attentif et vos conseils éclairés, qui ont été d'une importance capitale dans l'élaboration de ma thèse.

Votre expertise dans le domaine de la pharmacologie m'ouvert de nouvelles perspectives et m'a permis d'approfondir ma compréhension des aspects techniques et scientifiques liés aux médicaments génériques. Vos encouragements constants et votre confiance en mes capacités m'ont inspiré et motivé à donner le meilleur de moi-même.

Je tiens également à vous remercier pour votre disponibilité et votre ouverture d'esprit. Votre volonté de discuter et d'échanger des idées a grandement enrichi mes connaissances et a contribué à faire de cette expérience de recherche une expérience stimulante et gratifiante.

Je suis profondément reconnaissant de l'opportunité qui m'a été donnée de travailler sous votre direction et votre encadrement bienveillant. Votre mentorat continuera de m'inspirer et d'influencer positivement ma carrière future.

Je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude pour votre encadrement bienveillant et votre contribution précieuse à ma thèse. Je suis honoré(e) d'avoir eu l'opportunité de travailler avec vous et je suis reconnaissant(e) pour les leçons que j'ai apprises à vos côtés.

**À Pr. MANSOURI KAMEL, Président de jury,  
Professeur HU en Pharmacologie, Faculté de Pharmacie d'Alger**

Je tiens à vous exprimer mes plus sincères remerciements d'avoir accepté de présider le jury de ma thèse.

Je suis profondément reconnaissant de l'opportunité d'avoir été encadré par vous pendant ma formation de résidanat et d'avoir maintenant la chance de présenter ma thèse devant vous en tant que président du jury. Votre mentorat constant et votre soutien indéfectible ont joué un rôle clé dans mon développement académique et professionnel.

Votre enseignement approfondi et vos conseils éclairés ont contribué à ma croissance en tant que professionnel de la santé. Votre passion pour la pharmacologie et votre engagement envers l'excellence académique m'ont inspiré à donner le meilleur de moi-même tout au long de ma recherche.

Je suis honoré de bénéficier de votre expertise et de votre évaluation précieuse de ma thèse, et qui renforcera la crédibilité et la rigueur scientifique de mon travail.

Avec mes remerciements les plus sincères.

**À Pr. HADEF YUCEF, Membre de jury,  
Professeur en chimie analytique, Faculté de Médecine d'Annaba**

Je tiens à vous exprimer mes sincères remerciements pour votre participation en tant que membre du jury de ma thèse.

Votre expertise en chimie analytique et votre rôle en tant qu'analyste ont été d'une importance capitale dans l'élaboration de ma recherche.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude pour votre aide précieuse tout au long du processus de ma thèse. Vos conseils éclairés, vos interprétations et votre expertise ont été d'une grande valeur pour moi. Vos connaissances approfondies et votre expérience ont enrichi ma compréhension des aspects analytiques liés à ma recherche.

Votre disponibilité et votre volonté de partager vos connaissances ont été remarquables. Vous avez consacré du temps pour discuter et échanger des idées, ce qui a grandement contribué à l'amélioration de ma recherche. Vos commentaires constructifs et vos suggestions ont renforcé la qualité de ma thèse.

Avec mes remerciements les plus sincères,

**À Pr. CHADER Henni, Membre de jury,  
Professeur HU en Pharmacologie, Faculté de Pharmacie d'Alger**

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour votre participation en tant que membre du jury de ma thèse, ainsi que pour votre rôle en tant que mon professeur, leader et exemple pendant ma formation de résidanat

Votre expertise en pharmacologie et votre passion pour le domaine ont façonné ma compréhension de la pharmacologie et ont renforcé mon désir de m'investir pleinement dans ma recherche.

Je suis profondément reconnaissant d'avoir eu l'opportunité d'être encadré par vous tout au long de mon résidanat. Votre dévouement à l'enseignement et à l'encadrement des étudiants a eu un impact significatif sur ma formation et ma croissance en tant que professionnel de la santé.

Votre évaluation et vos commentaires constructifs sont d'une grande valeur pour moi, et je suis honoré de pouvoir présenter ma thèse devant vous.

Je tiens à vous remercier sincèrement pour votre mentorat, votre guidance et votre engagement tout au long de mon parcours. Votre soutien continu a été d'une importance inestimable pour mon développement académique et professionnel. Je suis reconnaissant d'avoir pu bénéficier de votre expérience et de votre expertise.

Avec mes remerciements les plus sincères.

**A Pr. BOUDIA FATIMA, Membre de jury**  
**Professeur HU en pharmacologie, Faculté de médecine d'Oran.**

Je tiens à vous exprimer mes plus sincères remerciements pour votre participation en tant que membre du jury de ma thèse.

Votre expertise en pharmacologie et votre engagement envers l'excellence académique ont été d'une valeur inestimable pour l'évaluation de mon travail de recherche.

Je tiens également à souligner l'importance de votre exemple en matière de recherche scientifique et de méthodologie de travail. Votre rigueur, votre engagement et votre dévouement envers l'excellence académique sont une source d'inspiration pour moi.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour votre contribution à ma thèse et pour votre impact positif sur ma formation académique.

Votre exemple en tant que chercheuse et votre volonté d'aider les autres ont eu un impact durable sur moi, et je m'efforcerai de suivre vos pas dans ma carrière professionnelle, en me basant sur votre rigueur scientifique et votre dévouement envers la recherche de qualité.

Avec mes remerciements les plus sincères.

Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements à toutes les personnes qui m'ont apporté leur aide et leur soutien tout au long de mon travail.

Je souhaite particulièrement exprimer ma sincère gratitude à:

Docteure Gharbi Moufida, Maître de conférences en Pharmacologie à la faculté de médecine d'Annaba, pour son précieux soutien scientifique et ses contributions inestimables tout au long de cette étude. Sa présence et son engagement ont été d'une importance capitale dans la réalisation de cette recherche, et je suis reconnaissant de pouvoir compter sur son expertise.

Le personnel du LNCPP (Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques), pour leur soutien et leur collaboration dans la réalisation de mon étude. Leur expertise en matière de contrôle et de qualité pharmaceutique a été précieuse pour la validation de mes résultats.

Professeur Gharbi Abdelaziz, Professeur en chimie analytique à la faculté de médecine de Blida et ex-Directeur général du LNCPP, de m'avoir agréablement accueilli au sein des laboratoires du LNCPP et mettre à ma disposition tous les moyens afin de pouvoir réaliser avec succès la partie bioéquivalence in vitro.

Le personnel du centre de recherche et développement et contrôle qualité des laboratoires Biocare et Biothera, pour leur collaboration et leur assistance tout au long de mon travail. Leur expertise technique et leur disponibilité ont été d'une grande aide dans la réalisation d'une partie de mes expériences et de mes analyses.

Le personnel du laboratoire de chimie analytique et de la plateforme de physicochimie du département de Pharmacie et à leur tête le Professeur Hedef Youcef et Professeur Belleili Mehdi.

Je suis profondément reconnaissant envers toutes ces personnes pour leur aide, leur soutien et leur collaboration. Leur implication et leur expertise ont enrichi ma thèse et ont contribué à son excellence scientifique.

# Dédicaces

## À mes chers parents,

Je tiens à vous dédier cette réalisation avec une profonde gratitude et un amour infini.

Votre soutien inconditionnel, vos encouragements constants et votre présence bienveillante ont été les piliers qui ont rendu possible l'accomplissement de cette étape importante de ma vie académique.

De vos encouragements enthousiastes à vos mots d'encouragement réconfortants, vous avez toujours été là pour me guider et m'inspirer. Votre foi en moi et votre croyance en mes capacités ont été une source inépuisable de motivation et de détermination.

Vous avez été mes premiers enseignants, m'inculquant les valeurs de persévérance, d'effort et d'ambition. Votre amour inconditionnel et votre confiance en moi ont été une source de force et de courage dans les moments de doute et de difficulté.

A travers cette dédicace, je souhaite vous exprimer toute ma gratitude pour votre soutien sans faille, vos sacrifices inlassables et votre amour incommensurable. Votre présence aimante a été ma source d'inspiration et de réconfort tout au long de ce parcours.

Que cette réalisation soit le reflet de l'amour, de la fierté et de la reconnaissance que je ressens envers vous. Votre impact sur ma vie est inestimable, et je serai éternellement reconnaissant d'avoir des parents aussi merveilleux et aimants.

Je vous aime plus que les mots ne pourront jamais l'exprimer, et je dédie cette réussite à votre amour, votre soutien et votre inébranlable présence dans ma vie.

Avec tout mon amour et ma gratitude infinie,

# Dédicaces

**À ma merveilleuse épouse, Dr Gharbi Moufida,**

Cette dédicace spéciale est un témoignage de ma profonde reconnaissance pour ton soutien inestimable, à la fois sur le plan scientifique et moral. Ta présence dans ma vie est une source d'inspiration et de motivation.

Tes connaissances et ton expertise en pharmacologie ont enrichi mon travail et m'ont aidé à atteindre de nouveaux sommets.

Je suis reconnaissant pour ton soutien inconditionnel, tes encouragements constants et ta confiance en moi. Tu es mon pilier, ma confidente et mon meilleur ami. Ta présence bienveillante et ton amour indéfectible m'ont permis de surmonter les obstacles et de réaliser mes objectifs.

Je te remercie du fond du cœur pour ta patience, ton dévouement et ta compréhension. Je suis honoré de partager ma vie avec une personne aussi exceptionnelle que toi. Cette réussite est le fruit de notre collaboration et de notre amour. Je te dédie ce succès avec gratitude et admiration.

Avec tout mon amour

## Dédicaces

À mes chères sœurs, Lamia, Karima, Fatima, et Imene, ainsi qu'à leurs précieuses petites familles. Je suis profondément reconnaissant pour votre amour, votre soutien et votre présence constante dans ma vie. Vos encouragements, votre appui et votre joie partagée ont été une source de réconfort et de motivation tout au long de mon parcours.

À mes chers neveux Kossaye, Anes, Baraa, Rassim et Maria, chacun de vous est une lumière brillante dans ma vie. Votre innocence, votre curiosité et votre amour inconditionnel ont enrichi mon existence d'une manière indescriptible. Vous êtes des cadeaux précieux qui illuminent mes journées.

À mon beau-père Ahmed Gharbi, ma belle-mère Nouara Gharbi, Ma Tante Nora Gharbi et mes belles-sœurs Sarah, Malak, Nourhane et Houda, Merci pour votre amour, votre soutien et votre présence précieuse. Votre soutien inconditionnel a été une source d'inspiration tout au long de mon parcours. Je vous dédie cette réussite avec gratitude et affection.

À mes chers amis Nacer Khennous, Sofiane Daira, Abdelkrim Cherifi, Alaeddine Boulebier, Adel Gouri, Adel Tine, Moundji Khaldi, Rochdi Saadoune, Sofiane Bellaa, Abderrezak Boukessas, Abdeldjalil Abdellah, Said Akroum, Lahcen Satour, Abdelmadjid Arhab, Nouamane Remita, Djamel Menacer, Azzeddine Guerid, Abdelkader Hattab, Moncef Atrous, et Mohamed Chefrou : Cette dédicace sincère est un témoignage de ma profonde gratitude pour votre amitié inestimable. Votre présence constante, votre soutien infaillible et vos encouragements ont été des éléments essentiels de mon parcours. Je suis honoré de vous avoir à mes côtés, et cette réussite est aussi la vôtre. Merci d'avoir été les meilleurs amis qu'on puisse souhaiter.

## Table des matières

---

### Table des matières

Liste des abréviations .....	xiii
Liste des figures .....	xv
Liste des tableaux .....	xvii
Liste des annexes : .....	xxiii
Introduction .....	1
Revue de la littérature .....	5
Chapitre I : Les génériques de l'amoxicilline .....	7
I.1. L'Amoxicilline .....	7
I.1.1. Généralités .....	7
I.1.2. Formule chimique et procédés d'obtention : .....	8
I.1.3. Propriétés pharmacocinétiques de l'Amoxicilline : .....	10
I.1.3.1. Absorption : .....	10
I.1.3.2. Distribution : .....	11
I.1.3.3. Biotransformation et excrétion : .....	11
I.1.3.4. Posologie : .....	12
I.1.4. Propriétés pharmacodynamiques de l'Amoxicilline : .....	14
I.1.4.1. Mécanisme d'action : .....	14
I.1.4.2. Mécanisme de résistance .....	16
I.1.4.3. Spectre d'activité : .....	17
I.1.5. Données cliniques de l'Amoxicilline : .....	17
I.1.5.1. Indications thérapeutiques : .....	17
I.1.5.1.1. Indications orales : .....	18
I.1.5.1.2. Indications parentérales : .....	18
I.1.5.2. Contre-indications : .....	19

## Table des matières

---

I.1.5.3. Effets indésirables :.....	19
I.1.5.4. Interactions médicamenteuses : .....	19
I.1.5.5. Mise en garde et précautions d'emploi : .....	20
I.1.5.5.1. En cas d'insuffisance rénale :.....	20
I.1.5.5.2. En cas d'insuffisance hépatique : .....	20
I.1.5.5.3. En cas de surdosage :.....	20
I.1.5.6. Fertilité, grossesse et allaitement :.....	21
I.2. Génériques de l'amoxicilline :.....	21
I.2.1. Définitions : .....	21
I.2.1.1. Définition du princeps :.....	21
I.2.1.2. Définition du générique :.....	22
I.2.1.3. Génériques versus princeps :.....	22
I.2.2. Génériques d'amoxicilline commercialisés en Algérie :.....	23
I.2.3. Aspects législatifs :.....	26
Chapitre II : Les Aspects de la qualité pharmaceutique des génériques d'Amoxicilline :.....	31
II.1. Qualité du médicament générique :.....	31
II.1.1. Définition :.....	31
II.1.2. Définition du contrôle de la qualité :.....	31
II.1.3. Dispositifs de contrôle qualité : .....	32
II.1.3.1. Evaluation des génériques :.....	32
II.1.3.1.1. Evaluation de la qualité du générique : .....	32
II.1.3.1.2. Evaluation de la sécurité et l'efficacité du générique :.....	32
II.1.3.2. Contrôle et inspection des génériques : .....	33
II.1.3.2.1. Inspection des bonnes pratiques cliniques des essais :.....	33
II.1.3.2.2. Inspection des fabricants et exploitants des médicaments génériques : .....	33
II.1.3.2.3. Contrôle des médicaments génériques en laboratoire : .....	33

## Table des matières

---

II.1.3.2.4. Inspection approfondie des activités de pharmacovigilance : .....	34
II.2. Référentiels d'évaluation de la qualité des génériques de l'Amoxicilline: .....	34
II.2.1. Pharmacopées : .....	35
II.2.1.1. Pharmacopée européenne : .....	35
II.2.1.2. Pharmacopée américaine : .....	36
II.3. Qualité physicochimique des génériques de l'Amoxicilline : .....	37
II.3.1. Contrôle de l'étiquetage: .....	37
II.3.2. Caractères organoleptiques : .....	38
II.3.3. Propriétés pharmaco-techniques : .....	38
II.3.3.1. Sécabilité : .....	38
II.3.3.2. Friabilité : .....	39
II.3.3.3. Dureté : .....	39
II.3.3.4. Désagrégation : .....	40
II.3.3.5. Uniformité de masse : .....	41
II.3.3.6. Dissolution : .....	41
II.4. Dosage des principes actifs : .....	42
II.5. Détermination des impuretés : .....	42
II.5.1. Définition : .....	42
II.5.2. Classification des impuretés : .....	43
II.5.2.1. Les impuretés organiques (liées au procédé et au médicament) : .....	43
II.5.2.2. Les impuretés inorganiques (liées au procédé de fabrication) : .....	43
II.5.2.3. Les solvants résiduels : .....	43
II.5.3. Sources des impuretés dans les produits médicamenteux : .....	44
II.5.4. Méthodes de détection des impuretés : .....	44
II.6. Stabilité des génériques d'Amoxicilline : .....	45
II.6.1. Définition de la stabilité : .....	45

## Table des matières

---

II.6.2. Objectifs de l'étude de stabilité : .....	45
II.6.3. Facteurs influençant la stabilité : .....	45
II.6.4. Types d'études de stabilité : .....	46
II.6.4.1. Etude de stress : .....	46
II.6.4.2. Etude en temps accéléré : .....	46
II.6.5. Etude de la stabilité de l'Amoxicilline : .....	46
II.7. Contrôle de la qualité microbiologique : .....	47
II.7.1. Méthode de la pharmacopée européenne : .....	47
II.7.2. Méthodes alternatives pour le contrôle de la qualité microbiologique : .....	48
II.7.2.1. Essais qualitatifs de présence / absence de micro-organismes : .....	48
II.7.2.2. Essais quantitatifs de dénombrement de micro-organismes : .....	49
II.7.2.3. Essais d'identification : .....	49
Chapitre III : Les aspects de la qualité pharmacocinétique et pharmacodynamique des génériques de l'Amoxicilline : .....	51
III.1. Qualité pharmacocinétique des génériques de l'Amoxicilline : .....	51
III.1.1. Classification des génériques d'Amoxicilline selon le système de classification biopharmaceutique (BCS) : .....	51
III.1.1.1. Définition du système BCS : .....	51
III.1.1.1.1. Solubilité : .....	51
III.1.1.1.2. Perméabilité : .....	52
III.1.1.2. Les classes de BCS : .....	52
III.1.1.2. 1. Les drogues de classe I : .....	52
III.1.1.2.2. Les drogues de classe II : .....	52
III.1.1.2.3. Les drogues de la classe III : .....	53
III.1.1.2.4. Les drogues de classe IV : .....	53
III.1.1.3. But de l'orientation BCS : .....	53

## Table des matières

---

III.1.2. Equivalence pharmaceutique et l'équivalence thérapeutique : .....	55
III.1.2.1. Equivalence pharmaceutique : .....	55
III.1.2.2. Equivalence thérapeutique : .....	55
III.1.3. Bioéquivalence in vivo des génériques d'amoxicilline : .....	56
III.1.3.1. Biodisponibilité et la bioéquivalence : .....	56
III.1.3.1.1. Définition de la biodisponibilité : .....	56
III.1.3.1.2. Définition de la bioéquivalence : .....	56
III.1.3.2. Recommandations d'obligation et de dispense d'études d'équivalence selon l'OMS : .....	58
III.1.3.2.1. Critères de dispense : .....	58
III.1.3.2.2. Critères d'obligation : .....	58
III.1.3.3. Démonstration de l'équivalence.....	59
III.1.3.3.1. Etudes de biodisponibilité comparative chez l'homme : .....	60
III.1.3.3.2. Etudes de dissolution in vitro : .....	60
III.1.3.4. Etudes de bioéquivalence des génériques d'amoxicilline réalisées en Algérie : .....	61
III.1.4. Bioéquivalence in vitro des génériques d'amoxicilline : La cinétique de dissolution : .....	61
III.1.4.1. Cinétique de dissolution : .....	61
III.1.4.2. Méthode de comparaison des profils de dissolution in vitro : .....	62
III.1.4.2.1. Approches statistiques (méthode basée sur l'analyse des variances) ANOVA : .....	63
III.1.4.2.2. Méthode modèle dépendant : .....	63
III.1.4.2.3. Méthode modèle indépendant.....	63
III.1.4.3. Critères d'acceptation : .....	65
III.1.4.3.1. Pour les médicaments BCS classe 1 : .....	65
III.1.4.3.1. Pour les médicaments BCS classe 3 : .....	65

## Table des matières

---

III.2 Qualité pharmacodynamique des génériques de l'Amoxicilline : .....	65
III.2.1. Référentiels d'évaluation de l'activité et l'efficacité des génériques: .....	65
III.2.1.1. International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use (ICH): .....	66
III.2.1.2. Food and Drug Administration (FDA): .....	66
III.2.1.3. Agence Européenne des Médicaments (EMA) : .....	66
III.2.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne des génériques d'amoxicilline : .....	67
III.2.2.1. Concentration minimale inhibitrice (CMI) : .....	67
III.2.2.1.1. Définition : .....	67
III.2.2.1.2. Mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI) : .....	67
III.2.2.2. Etude de l'effet bactéricide : .....	68
III.2.3. Etudes de l'efficacité in vivo des médicaments génériques .....	68
III.2.4. Facteurs de variabilité de l'activité antibactérienne et l'efficacité des génériques d'Amoxicilline : .....	69
III.2.4.1. Qualité de la matière première : .....	69
III.2.4.1.1. Contrôle physico-chimique : .....	70
III.2.4.1.2. Contrôle microbiologique : .....	70
III.2.4.2. Conditions de conservation et de transport : .....	70
III.2.4.3. Processus de fabrication : .....	71
III.2.4.4. Problème de stabilité : .....	71
III.2.4.5. Problème de dissolution et les Facteurs de variabilité de la cinétique de dissolution : .....	72
III.2.4.5.1. Facteurs influençant la solubilité : .....	72
III.2.4.5.2. Facteurs influençant la vitesse de dissolution : .....	73
Partie pratique .....	75
Cadre général de l'étude .....	77

## Table des matières

---

Objectif principal : .....	77
Objectifs secondaires : .....	77
Type de l'étude : .....	77
Lieu de l'étude : .....	77
Echantillons à étudier : .....	78
.....	77
Chapitre I: Etude comparative des propriétés organoleptiques et pharmacotechniques.....	78
I.1. Matériel et Méthodes: .....	78
I.1.1. Matériel : .....	78
I.1.1.1. Appareillage: .....	78
I.1.1.2. Réactifs : .....	78
I.1.2. Méthodes : .....	79
I.1.2.1. Etude comparative des propriétés organoleptiques : .....	79
I.1.2.2. Etude comparative des propriétés pharmaco-techniques : .....	79
I.1.2.2.1. Uniformité de masse : .....	79
I.1.2.2.2. Test de délitement (désagrégation):.....	80
I.1.2.2.3. Test de dissolution : .....	81
I.2. Résultats : .....	85
I.2.1. Propriétés organoleptiques : .....	85
I.2.2. Propriétés pharmaco techniques : .....	85
I.2.2.1. Uniformité de masse : .....	85
II.2.2.2. Test de désagrégation : .....	88
I.2.2.3. Test de dissolution: .....	89
I.2.2.3.1. Le standard: .....	89
I.2.2.3.2. Les échantillons à étudier:.....	91
I.2.2.3.3. Normes du test de dissolution .....	97

## Table des matières

---

II.2.2.3.4. Pourcentage de dissolution des comprimés/gélules dans les six lots: .....	98
I.3. Discussion : .....	100
I.3.1. Propriétés organoleptiques:.....	100
I.3.2. Propriétés pharmacotechniques:.....	100
Chapitre II : Analyse et caractérisation comparatives du principe actif, des impuretés et étude de stabilité .....	104
II.1. Matériel et Méthodes: .....	104
II.1.1. Matériel : .....	104
II.1.1.1. Appareillage: .....	104
II.1.1.2. Réactifs : .....	104
II.1.2. Méthodes : .....	105
II.1.2.1. Identification et dosage du Principe actif:.....	105
II.1.2.2. Etude comparative des profils d'impuretés entre les génériques et le princeps : .....	107
II.1.2.3. Etude comparative de la stabilité des génériques par rapport au princeps : ..	111
II.1.2.3.1. Conditions de l'essai de stabilité :.....	112
II.1.2.3.2. La stabilité physique :.....	112
II.1.2.3.2.1. Examen organoleptique : .....	112
II.1.2.3.2.2. Contrôle pharmaco-technique :.....	112
II.1.2.3.3. Stabilité chimique :.....	113
II.2. Résultats :.....	115
II.2.1. Identification et dosage du Clamoxyl :.....	115
II.2.2. Identification et dosage du générique GA1 : .....	116
II.2.3. Identification et dosage du générique GA2 : .....	117
II.2.4. Identification et dosage du générique GA3 : .....	118
II.2.5. Identification et dosage du générique GA4 : .....	119

## Table des matières

---

II.2.6. Identification et dosage du générique GA5 : .....	120
II.2.7. Résultats des dosages du PA dans chaque Comprimé /gélule pour les six lots (QPA):.....	121
II.2.8. Résultats de l'étude comparative des profils d'impuretés des différents génériques par rapport au princeps :.....	122
II.2.9. Résultats de l'étude comparative de la stabilité des différents génériques par rapport au princeps : .....	150
II.2.4.1. Stabilité physique : .....	150
II.2.4.1.1. Examen organoleptique : .....	150
II.2.4.1.2. Contrôle pharmaco-technique : .....	150
II.2.4.2. Stabilité chimique : .....	153
II.3. Discussion : .....	154
II.3.1. Identification et dosage du PA : .....	154
II.3.2. Etude comparative des profils d'impuretés : .....	158
II.3.3. Etude comparative de la stabilité : .....	163
II.3.3.1. Stabilité physique : .....	163
II.3.3.2. Stabilité chimique : .....	163
II.3.3.3. Interprétation des résultats par rapport au princeps : .....	165
Chapitre III: Etudes de Bioéquivalence in vitro (cinétiques de dissolution): .....	168
III.1. Matériel et méthodes : .....	168
III.1.1. Matériel : .....	168
III.1.1.1. Appareillage:.....	168
III.1.1.2. Réactifs : .....	168
III.1.2. Méthodes : .....	169
III.1.2.1. Etude pilote de la cinétique de dissolution du générique GA5 & Clamoxyl : .....	169

## Table des matières

---

III.1.2.2. Etude des cinétiques de dissolution des 5 génériques par rapport au Clamoxyl Algérien et Clamoxyl Français :.....	173
III.1.2.2.1. Préparation des milieux de dissolution :.....	173
III.1.2.2.2. Préparation des standards :.....	174
III.1.2.2.3. Protocole opératoire :.....	174
III.1.2.2.4. Formules de calcul :.....	175
III.2. Résultats.....	177
III.2.1. Résultats de l'étude pilote de bioéquivalence in vitro (la cinétique de dissolution) du générique GA5 par rapport au Clamoxyl :.....	177
III.2.1.1. Tampon Hcl à pH=1,2 :.....	177
III.2.1.2. Tampon aétate à pH=4,5 :.....	178
III.2.1.3. Tampon phosphate à pH=6,8 :.....	179
III.2.2. Résultats des cinq études de bioéquivalence in vitro (cinétiques de dissolution) des 5 génériques & Clamoxyl Algérien et Clamoxyl Français :.....	182
III.3. Discussion:.....	222
III.3.1. Discussion des Résultats de l'étude pilote de bioéquivalence in vitro (cinétique de dissolution) du générique GA5 par rapport au Clamoxyl :.....	222
III.3.1.1. Le choix des études de comparaison :.....	222
III.3.1.2. Interprétation des résultats :.....	223
III.3.2. Discussion des résultats de l'étude des cinétiques de dissolution des 5 génériques par rappoert au Clamoxyl Algérien et Clamoxyl Français :.....	226
Chapitre IV: Etude comparative de la pharmacodynamie (activité antibactérienne) in vitro des génériques d'amoxicilline par rapport au princeps :.....	238
IV.1. Matériel et Méthodes :.....	238
IV.1.1. Matériel :.....	238
IV.1.1.1. Appareillage:.....	238
IV.1.1.2. Réactifs :.....	239

## Table des matières

---

IV.1.2. Méthodes :.....	239
IV.1.2.1. Protocole opératoire de l'étude comparative de l'activité antibactérienne in vitro des génériques d'amoxicilline par rapport au princeps: .....	239
IV.1.2.2. Protocole opératoire du contrôle de la qualité microbiologique des génériques et des princeps : .....	241
IV.2. Résultats : .....	243
IV.2.1. Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne in vitro des génériques d'amoxicilline par rapport au princeps :.....	243
IV.2.1.1. Résultats des CMI : .....	245
IV.2.2. Résultats du contrôle de la qualité microbiologique des échantillons :.....	247
IV.3. Discussion :.....	250
IV.3.1. Interprétation des résultats de l'étude d'activité antibactérienne in vitro des génériques d'amoxicilline par rapport au princeps :.....	250
IV.3.2. Interprétation des résultats du contrôle microbiologique des échantillons :.....	254
Chapitre V : Mise au point d'une méthode d'évaluation in vivo de l'efficacité thérapeutique des génériques d'amoxicilline par rapport aux princeps dans le modèle de l'ulcère liée à l'infection par Helicobacter Pylori chez des souris neutropéniques .....	256
V.1. Matériel et méthodes : .....	256
V.1.1. Matériel : .....	256
V.1.1.1. Appareils et verreries : .....	256
V.1.1.2. Réactif et produits pharmaceutiques utilisés :.....	256
V.1.1.3. Matériel animal : .....	257
V.1.2. Méthodes .....	257
V.2. Résultats : .....	262
V.2.1. Résultats prévus pour l'examen histopathologique des prélèvements:.....	262
V.2.2. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du Princeps (F) .....	263

## Table des matières

---

V.2.3. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du Princeps (A) :.....	264
V.2.4. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du générique (GA01) : .....	265
V.2.5. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du générique (GA02) : .....	266
V.2.6. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du générique (GA03) : .....	267
V.2.7. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du générique (GA04) : .....	268
V.2.8. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du générique (GA05) : .....	269
V.3. Discussion : .....	270
Discussion générale .....	276
1. Comparaison des résultats de l'étude de stabilité avec les résultats de la bioéquivalence in vitro (cinétique de dissolution) : .....	276
2. Corrélation entre la cinétique de dissolution et l'activité antibactérienne : .....	279
Conclusion.....	301
Recommandations et perspectives:.....	306
Références bibliographiques: .....	310
Annexes : .....	332

# Liste des abréviations

---

## Liste des abréviations

A

**ACQ :** Attributs critiques de qualité

**6-APA :** L'acide 6-aminopénicillanique

**ASC :** Aire sous la courbe

B

**BCS** Système de classification biopharmaceutique

**BE** Bioéquivalence

C

**C<sub>max</sub> :** Concentration maximale

D

**DFG :** Débit de filtration glomérulaire

**DSM:** Dutch State Mines

F

**FDA** Food and drug administration

G

**GSK :** GlaxoSmithKline

**g :** Gramme

I

**IM :** Intramusculaire

**ISO :** International Organisation for Standardisation

**IV :** Intraveineuse

K

**Kg :** Kilogramme

L

**L/kg :** Litre par Kilogramme

**LNCPP** Laboratoire de contrôle des produits pharmaceutiques

M

**mg :** Milligramme

**ml/min :** Millilitre par minute

N

## Liste des abréviations

---

O

**OMS :** Organisation mondiale de la santé

**ORL :** Otorhinolaryngologie

P

**PA :** Principe actif

**PEN G :** Pénicilline G

**PK** Pharmacocinétique

**PD** Pharmacodynamique

T

**T<sub>max</sub> :** Temps nécessaire pour atteindre la C<sub>max</sub>

**T<sub>1/2</sub> :** Temps de demi-vie d'élimination

# Liste des figures

---

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Structures chimiques de l'Amoxicilline, de l'acide 6-aminopénicillanique (6-APA), de l'azétidine-2-one, et du noyau pénème [15].....	7
<b>Figure 2:</b> Structure semi-développée de l'amoxicilline identifiant ses groupements ionisables et les cycles du noyau $\beta$ -lactamine.....	8
<b>Figure 3:</b> Exemples de Procédés d'obtention de l'Amoxicilline [18].....	9
<b>Figure 4:</b> La protection du médicament princeps [30].....	21
<b>Figure 5:</b> Taux de prescription des antibiotiques en noms génériques. [26].....	27
<b>Figure 6:</b> Taux de substitution des antibiotiques en Algérie. [26].....	28
<b>Figure 7:</b> Niveaux d'inspection pour les médicaments (dont les génériques)[47].....	34
<b>Figure 8:</b> Diagramme des 5M. [54].....	37
<b>Figure 9 :</b> Un friabilimètre [59].....	39
<b>Figure 10:</b> : Différentes étapes de réalisation du test de la dureté par un duromètre.[60].....	40
<b>Figure 11:</b> Testeur de désagrégation. [59].....	40
<b>Figure 12:</b> Appareil de dissolution à palette tournante et panier tournant [51].....	42
<b>Figure 13:</b> Variations des concentrations sanguines de principe actif en fonction de temps après administration d'un médicament de référence et d'un médicament générique. [90].....	57
<b>Figure 14:</b> Concept de la bioéquivalence [37].....	57
<b>Figure 15:</b> Démonstration de biodisponibilité comparative chez l'homme. [97].....	60
<b>Figure 16:</b> Chromatogrammes des essais de dissolution du standard.....	89
<b>Figure 17:</b> Chromatogrammes des essais de dissolution du Clamoxyl.....	91
<b>Figure 18:</b> Chromatogrammes des essais de dissolution du GA1.....	92
<b>Figure 19:</b> Chromatogrammes des essais de dissolution du GA2.....	93
<b>Figure 20:</b> Chromatogrammes des essais de dissolution du GA3.....	94
<b>Figure 21:</b> Chromatogrammes des essais de dissolution du GA4.....	95
<b>Figure 23:</b> Variation de l'aire sous la courbe selon les trois injections du Clamoxyl.....	115
<b>Figure 24:</b> Variation de l'aire sous la courbe selon les trois injections du générique GA1. .	116
<b>Figure 25:</b> Variation de l'aire sous la courbe selon les trois injections du générique GA2. ..	117
<b>Figure 26:</b> Variation de l'aire sous la courbe selon les trois injections du générique GA3 ...	118
<b>Figure 27:</b> Variation de l'aire sous courbe selon les trois injections du générique GA4.....	119

## Liste des figures

---

<b>Figure 28:</b> Variation de l'aire sous la courbe selon les trois injections du générique GA5 (gélules). .....	120
<b>Figure 29:</b> Les profils de dissolution du princeps et GA5 à pH=1,2.....	178
<b>Figure 30:</b> Les profils de dissolution du princeps et GA5 à pH=4,5.....	179
<b>Figure 31:</b> Les profils de dissolution du princeps et GA5 à pH=6,8.....	180
<b>Figure 32:</b> Image présentant la différence entre un tube trouble et un tube limpide .....	245
<b>Figure 33:</b> Résultat de la culture des différents échantillons.....	248
<b>Figure 34:</b> Milieux TSA et SAB contaminés (générique GA3).....	248
<b>Figure 35:</b> Milieu SAB contaminé (générique GA1) .....	249
<b>Figure 36:</b> Repiquage sur bouillon mackonkey (aucun trouble).....	249
<b>Figure 37:</b> Administration des produits par gavage. ....	258
<b>Figure 38:</b> Photomicrographie des caractéristiques histopathologiques, représentation du tissu gastrique des souris (coloration à l'hématoxyline et à l'éosine): Microscope Olympus CX22 LED avec un G 400x et une caméra Vivo 9.) [186].....	262

## Liste des tableaux

---

### Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Paramètres pharmacocinétiques de l'Amoxicilline [19].....	10
<b>Tableau 2:</b> Posologie chez les Adultes et enfants $\geq 40$ kg .....	12
<b>Tableau 3:</b> Posologies recommandées chez les Enfants $< 40$ kg.....	13
<b>Tableau 4:</b> Adaptation posologique chez les Patients insuffisants rénaux.....	13
<b>Tableau 5:</b> Adaptation posologique chez les patients hémodialysés .....	14
<b>Tableau 6:</b> Concentrations critiques pour l'amoxicilline établies par l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) version 5.0 .....	14
<b>Tableau 7:</b> Sensibilité in vitro des micro-organismes à l'amoxicilline.....	15
<b>Tableau 8:</b> Différences et similarités entre les médicaments génériques et princeps.[29].....	23
<b>Tableau 9:</b> Génériques d'amoxicilline par voie orale commercialisés en Algérie. [21].....	24
<b>Tableau 10:</b> Comparaison du dossier de demande d'AMM. [32] .....	26
<b>Tableau 11:</b> Exigences du test d'uniformité de masse de la Pharmacopée Européenne. [57] ..	41
<b>Tableau 12:</b> Seuils pour les différents types d'impuretés pour PA.[55] .....	43
<b>Tableau 13:</b> Membres de la classe BCS de médicaments modèles sélectionnés.[82] .....	53
<b>Tableau 14:</b> Présentation des échantillons à analyser .....	78
<b>Tableau 15:</b> Principaux caractères organoleptiques des échantillons .....	85
<b>Tableau 16:</b> La masse moyenne pour les six lots.....	85
<b>Tableau 17:</b> Critères d'acceptation des résultats de l'essai d'uniformité de masse des comprimés.....	86
<b>Tableau 18:</b> Résultats du test de désagrégation .....	88
<b>Tableau 19:</b> Critères d'acceptation du test de désagrégation [62] .....	88
<b>Tableau 20:</b> Variation des surfaces et les valeurs de conformité du système selon les cinq injections du standard .....	90
<b>Tableau 21:</b> Tableau récapitulatif des temps de rétention, aires sous la courbe et hauteurs des pics pour le test de dissolution .....	96
<b>Tableau 22:</b> Critères d'acceptation du test de dissolution pour les Comprimés à libération conventionnelle et immédiate .....	97
<b>Tableau 23:</b> Résultats du test de dissolution en % des comprimés du clamoxyl.....	98
<b>Tableau 24:</b> Résultats du test de dissolution en % des comprimés du GA1.....	98
<b>Tableau 25:</b> Résultats du test de dissolution en % des comprimés du GA2.....	98

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau 26:</b> Résultats du test de dissolution en % des comprimés du GA3.....	99
<b>Tableau 27:</b> Résultats du test de dissolution en % des comprimés du GA4.....	99
<b>Tableau 28:</b> Résultats du test de dissolution en % des gélules du GA5.....	99
<b>Tableau 29:</b> Prise d'essai du Princeps Clamoxyl Français (F).....	109
<b>Tableau 30:</b> Prise d'essai du Princeps Clamoxyl Algérien (A).....	109
<b>Tableau 31:</b> Prise d'essai du générique GA1 .....	110
<b>Tableau 32:</b> Prise d'essai du générique GA2 .....	110
<b>Tableau 33:</b> Prise d'essai du générique GA3 .....	110
<b>Tableau 34:</b> Prise d'essai du générique GA4 .....	110
<b>Tableau 35:</b> Prise d'essai du générique GA5 .....	110
<b>Tableau 36:</b> Conditions de stabilité en temps réel et accéléré .....	112
<b>Tableau 38:</b> Variation des surfaces et des valeurs de conformité du système selon les trois injections du Clamoxyl.....	115
<b>Tableau 39:</b> Variation des surfaces et des valeurs de conformité du système selon les trois injections du GA1.....	116
<b>Tableau 40:</b> Variation des surfaces et des valeurs de conformité du système selon les trois injections du GA2.....	117
<b>Tableau 41:</b> Variation des surfaces et les valeurs de conformité du système selon les trois injections du GA3.....	118
<b>Tableau 42:</b> Variation des surfaces et les valeurs de conformité du système selon les trois injections du GA4.....	119
<b>Tableau 43:</b> Variation des surfaces et les valeurs de conformité du système selon les trois injections du GA5 (gélules). .....	120
<b>Tableau 44:</b> Variation des QPA en pourcentage pour les six lots. ....	121
<b>Tableau 45:</b> Chromatogrammes du Diluant phase mobile A .....	122
<b>Tableau 46:</b> Chromatogrammes du Standard de Référence B (Amoxicilline + Céfadroxil):	125
<b>Tableau 47:</b> Chromatogrammes du Standard de Référence C (Amoxicilline trihydrate).....	126
<b>Tableau 48:</b> Profil des impuretés pour Princeps F (Clamoxyl Français) .....	127
<b>Tableau 49:</b> Profil des impuretés pour Princeps A (Clamoxyl Algérien) .....	130
<b>Tableau 50:</b> Profil des impuretés pour Générique GA01 .....	132
<b>Tableau 51:</b> Profil des impuretés pour Générique GA02.....	135
<b>Tableau 52:</b> Profil des impuretés pour Générique GA03.....	138
<b>Tableau 53:</b> Profil des impuretés pour Générique GA04.....	140

## Liste des tableaux

<b>Tableau 54:</b> Profil des impuretés pour Générique GA05 .....	142
<b>Tableau 55:</b> Pics dans le diluant A.....	145
<b>Tableau 56:</b> Les différents pics dans l'échantillon A - Clamoxyl Algérien.....	146
<b>Tableau 57:</b> Les différents pics dans l'échantillon F - Clamoxyl Français .....	146
<b>Tableau 58:</b> Les différents pics dans l'échantillon Générique GA01 .....	147
<b>Tableau 59:</b> Les différents pics dans l'échantillon Générique GA02 .....	147
<b>Tableau 60:</b> Les différents pics dans l'échantillon Générique GA03 .....	148
<b>Tableau 61:</b> Les différents pics dans l'échantillon Générique GA04 .....	148
<b>Tableau 62:</b> Les différents pics dans l'échantillon Générique GA05 .....	149
<b>Tableau 63:</b> Principaux caractères organoleptiques des échantillons .....	150
<b>Tableau 64:</b> Résultats des mesures de la masse moyenne et l'uniformité de masse à T5.....	151
<b>Tableau 65:</b> Résultats des mesures de la masse moyenne et l'uniformité de masse à T5.....	151
<b>Tableau 66:</b> Résultats du test de désagrégation en temps réel à T5 des échantillons .....	151
<b>Tableau 67:</b> Résultats du test de désagrégation en conditions accélérées à T5 des échantillons .....	152
<b>Tableau 68:</b> Résultat de la dissolution des échantillons à T0 et T5 en temps réel.....	152
<b>Tableau 69:</b> Résultat de la dissolution des échantillons à T0 et T5 en conditions accélérées .....	152
<b>Tableau 70:</b> Résultats de dosage du PA des échantillons à T0 et T5 en temps réel. ....	153
<b>Tableau 71:</b> Résultat de dosage du PA des échantillons à T0 et T5 en conditions accélérées .....	153
<b>Tableau 72:</b> Paramètres de l'essai de dissolution. ....	171
<b>Tableau 73:</b> Données sur la dissolution et l'absorbance « DO » du standard à pH 1,2. ....	177
<b>Tableau 74:</b> Les moyennes des absorbances et des pourcentages de libération du PA Q (%) du princeps et GA5 à pH 1,2.....	177
<b>Tableau 75:</b> Données sur la dissolution et l'absorbance « DO » du standard à pH 4,5 standard .....	178
<b>Tableau 76:</b> Les moyennes des absorptions et des pourcentages de libération de PA Q(%) - GA5- à pH 4,5 .....	178
<b>Tableau 77:</b> Résultats de calcul des facteurs f1 et f2 à pH 4,5 .....	179
<b>Tableau 78:</b> Données sur la dissolution et l'absorbance « DO » du standard à pH 6,8 standard .....	179

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau 79:</b> Les moyennes des absorbances et des pourcentages de libération de PA Q(%) du princeps et GA5 à pH=6,5 .....	180
<b>Tableau 80:</b> Résultats de calcul des facteurs f1 et f2 à pH 6,5 .....	181
<b>Tableau 81:</b> Les résultats pour Clamoxyl F à pH=1,2 .....	183
<b>Tableau 82:</b> Les résultats pour Clamoxyl F à pH=4,5. ....	200
<b>Tableau 83:</b> Les résultats pour Clamoxyl F à pH=6,8. ....	201
<b>Tableau 84:</b> Les résultats pour Clamoxyl A à pH=1,2.....	202
<b>Tableau 85:</b> Les résultats pour Clamoxyl A à pH=4,5.....	203
<b>Tableau 86:</b> Les résultats pour Clamoxyl A à pH=6,8.....	204
<b>Tableau 87:</b> Les résultats pour le générique GA1 à pH=1,2. ....	205
<b>Tableau 88:</b> Les résultats pour le générique GA1 à pH=4,5. ....	206
<b>Tableau 89:</b> Les résultats pour le générique GA1 à pH=6,8. ....	207
<b>Tableau 90:</b> Les résultats pour le générique GA2 à pH=1,2. ....	208
<b>Tableau 91:</b> Les résultats pour le générique GA2 à pH=4,5. ....	209
<b>Tableau 92:</b> Les résultats pour le générique GA2 à pH=6,8. ....	210
<b>Tableau 93:</b> Les résultats pour le générique GA3 à pH=1,2. ....	211
<b>Tableau 94:</b> Les résultats pour le générique GA3 à pH=4,5. ....	212
<b>Tableau 95:</b> Les résultats pour le générique GA3 à pH=6,8. ....	213
<b>Tableau 96:</b> Les résultats pour le générique GA4 à pH=1,2. ....	214
<b>Tableau 97:</b> Les résultats pour le générique GA4 à pH=4,5. ....	215
<b>Tableau 98:</b> Les résultats pour le générique GA4 à pH=6,8 .....	216
<b>Tableau 99:</b> Les résultats pour le générique GA5 à pH=1,2. ....	217
<b>Tableau 100:</b> Les résultats pour le générique GA5 à pH=4,5.....	217
<b>Tableau 101:</b> Les résultats pour le générique GA5 à pH=6,8 .....	217
<b>Tableau 102:</b> Les résultats de la comparaison entre le clamoxyl F et le générique GA2 à pH=4,5. ....	218
<b>Tableau 103:</b> Calcul du facteur de similarité du Clamoxyl F / générique GA2 à pH=4,5....	219
<b>Tableau 104:</b> Les résultats de la comparaison entre le clamoxyl F et le générique GA2 à pH=6,8. ....	220
<b>Tableau 105:</b> Calcul du facteur de similarité du Clamoxyl F / générique GA2 à pH=6,8. ....	221
<b>Tableau 106:</b> Activité antibactérienne in vitro du Clamoxyl F .....	243
<b>Tableau 107:</b> Activité antibactérienne in vitro du Clamoxyl A.....	243
<b>Tableau 108:</b> Activité antibactérienne in vitro du Générique GA1 .....	243

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau 109:</b> Activité antibactérienne in vitro du Générique GA2 .....	244
<b>Tableau 110:</b> Activité antibactérienne in vitro du Générique GA3 .....	244
<b>Tableau 111:</b> Activité antibactérienne in vitro du Générique GA4 .....	244
<b>Tableau 112:</b> Activité antibactérienne in vitro du Générique GA5 .....	245
<b>Tableau 113:</b> Un tableau récapitulatif des CMI.....	247
<b>Tableau 114:</b> Les résultats de l'incubation des milieux de culture.....	247
<b>Tableau 115:</b> le nombre et le poids moyen de chaque lot de souris.....	257
<b>Tableau 116:</b> Répartition des souris sur les différents lots de l'étude d'efficacité in vivo ....	259
<b>Tableau 117:</b> Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour Princeps F).....	263
<b>Tableau 118:</b> Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du Princeps F.....	263
<b>Tableau 119:</b> Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour Princeps A).....	264
<b>Tableau 120:</b> Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du Princeps A. ....	264
<b>Tableau 121:</b> Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour GA01).....	265
<b>Tableau 122:</b> Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du générique (GA01). ....	265
<b>Tableau 123:</b> Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour GA02).....	266
<b>Tableau 124:</b> Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du générique (GA02). ....	266
<b>Tableau 125:</b> Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour GA03).....	267
<b>Tableau 126:</b> Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du générique (GA03). ....	267
<b>Tableau 127:</b> Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour GA04).....	268
<b>Tableau 128:</b> Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du générique (GA04). ....	268

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau 129:</b> Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour GA05) .....	269
<b>Tableau 130:</b> Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du générique (GA05). .....	269

## Liste des annexes

---

### Liste des annexes :

<b>Annexe 1:</b> Certificat de conformité à la pharmacopée européenne du standard de référence de l'amoxicilline trihydrate.....	332
<b>Annexe 2:</b> Certificat de conformité à la pharmacopée européenne du standard de référence de l'impureté Cefadroxil.....	334
<b>Annexe 3:</b> Certificat de qualité de la colonne HPLC C18 utilisée pour la recherche des impuretés.....	336
<b>Annexe 4:</b> Certificat de conformité du Potassium phosphate monobasique.....	337
<b>Annexe 5:</b> Certificat de conformité du Potassium phosphate monobasique.....	338
<b>Annexe 6:</b> Résultats des absorbances des 12 prélèvements du princeps dans chaque milieu (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps) .....	339
<b>Annexe 7:</b> Résultats des absorbances des 12 prélèvements de GA5 dans chaque milieu (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps).....	340
<b>Annexe 8:</b> Résultats du pourcentage de libération de PA des 12 prélèvements du princeps dans chaque milieu (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps) .....	341
<b>Annexe 9:</b> Résultats du pourcentage de libération de PA des 12 prélèvements du GA5 dans chaque milieu (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps) .....	342
<b>Annexe 10:</b> les profils de dissolution du princeps et de GA5 dans chacun des 12 Godets à pH 1.2 (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps) .....	343
<b>Annexe 11:</b> les profils de dissolution du princeps et de GA5 dans chacun des 12 Godets à pH 4.5 (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps) .....	346
<b>Annexe 12:</b> les profils de dissolution du princeps et de GA5 dans chacun des 12 Godets à pH 6.8 (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps) .....	349

# Introduction

# Introduction

---

## Introduction

La promotion du médicament générique est régulièrement considérée par les pouvoirs publics Algériens comme un élément stratégique de la politique sanitaire du pays. Comme l'indique l'instruction n°005 du 7 septembre 2003 du ministère de la Santé concernant la généralisation des médicaments génériques, il est spécifié que "l'enregistrement d'un médicament de marque ou princeps n'est autorisé que s'il n'existe pas de médicament générique, et dans la limite d'un surcoût éventuel par rapport au tarif préférentiel pour la DCI ne dépassant pas 25%". Cette volonté affichée des pouvoirs publics algériens de promouvoir le médicament générique et la fabrication locale a été confirmée, par la décision du gouvernement prise le 30 novembre 2008 interdisant l'importation de médicaments produits localement en quantité suffisante.

L'encouragement de la production, la prescription et la dispensation des médicaments génériques en Algérie répond à une exigence économique visant à diminuer les dépenses d'importation de médicaments. Cette politique assure également que tous les patients ont accès à des traitements récents et à des innovations thérapeutiques à des prix raisonnables.

C'est ainsi, que depuis 2008, la production de médicaments génériques en Algérie a connu une forte croissance. Elle est passée de 255 millions d'euros en 2004 à 363 millions d'euros en 2008, soit une augmentation de 42% sur cinq ans. En 2009, elle atteignait 553 millions d'euros, puis 1,3 milliard d'euros en 2016, représentant près de 45% de la consommation totale du pays. En 2022, la production devrait avoisiner les 2 milliards d'euros, ce qui équivaut à environ 70% des besoins de la population algérienne en médicaments.

Les antibiotiques sont l'une des classes thérapeutiques les plus largement génériqués, utilisées pour traiter des infections bactériennes allant des affections mineures aux maladies potentiellement mortelles. En effet, la très grande majorité de ces molécules ont été mises sur le marché depuis plusieurs dizaines d'années et étaient donc dans le domaine public lors du développement de la politique des génériques aux USA dans les années 1980 [1]. Parmi ces antibiotiques, l'amoxicilline, un antibiotique à large spectre de la famille des pénicillines, est couramment prescrite pour diverses infections telles que les infections respiratoires, urinaires et cutanées. Elle fait partie des médicaments essentiels de la liste de l'organisation mondiale de

---

1 | Les aspects de la qualité pharmaceutique et pharmacodynamique des génériques d'amoxicilline commercialisés en Algérie par rapport au princeps.  
Thèse de Doctorat d'Etat En Sciences Médicales DESM

# Introduction

---

la santé (OMS) et son utilisation est recommandée par le Centre européen de contrôle et de prévention des maladies (CDC) pour le traitement d'un large éventail d'infections bactériennes.

Les autorités réglementaires de plusieurs pays y compris l'Algérie et notamment la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis, l'Agence européenne des médicaments (EMA) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS), ont publié des lignes directrices présentant les termes et conditions en vertu desquels les génériques d'antibiotiques peuvent être reconnus comme thérapeutiquement équivalents à leur homologue de marque. [1]

Cependant la qualité, la sécurité et l'efficacité des médicaments génériques en général et des génériques d'antibiotiques comme l'amoxicilline, restent toujours controversés en Algérie et à travers le monde par une bonne partie de patients et par la grande majorité des médecins prescripteurs et des pharmaciens dispensateurs, et ce malgré des contrôles stricts mis en place par les autorités de régulation du médicament, représentées en Algérie par le Ministère de l'Industrie et de la Production Pharmaceutique et les services de l'Agence Nationale des produits pharmaceutiques ANPP.

Dans le même contexte, plusieurs enquêtes ont révélé que de nombreux patients ont une opinion défavorable sur les médicaments génériques, les considérant comme moins efficaces, de qualité inférieure et inappropriés pour traiter des maladies graves, par rapport aux médicaments princeps. Cette perception négative de la part des patients peut entraver l'adoption généralisée des médicaments génériques. [2,3]

Une méta-analyse des études observationnelles publiées entre 1980 et 2015, réalisée par Sarah Colgan et ses collègues et publiée en 2016, a examiné les attitudes des patients, des médecins et des pharmaciens à l'égard des médicaments génériques. Sur les 2 737 articles initialement sélectionnés, seuls 52 ont été retenus pour l'analyse finale. Les résultats ont montré que les médecins, les pharmaciens et les patients avaient une perception négative des médicaments génériques. Les patients étaient significativement plus susceptibles de percevoir les médicaments génériques comme moins efficaces que les médicaments de marque (35,6 %) par rapport aux médecins (28,7 %) et aux pharmaciens (23,6 %). Selon cette étude, les opinions défavorables émises par les médecins et les pharmaciens peuvent constituer un obstacle à l'acceptation des médicaments génériques, étant donné que ces professionnels de la santé ont un pouvoir d'influence important sur les décisions des patients quant à l'utilisation de ces médicaments.[4]

## Introduction

---

Plusieurs études scientifiques ont souligné que la bioéquivalence, critère qui sert de base à l'approbation d'un antibiotique générique de la voie peros en Europe et aux États-Unis, ne tient pas suffisamment compte de la complexité moléculaire de ces produits. Les antibiotiques présentent une pharmacocinétique souvent plus complexe que ce qui est suggéré par une simple comparaison de bioéquivalence, car ils sont généralement composés de plusieurs substances complexes, d'impuretés et de produits de dégradations issues du processus de synthèse du principe actif. Les résultats de ces études remettent en question l'équivalence thérapeutique réelle entre les génériques d'antibiotiques et leurs médicaments de référence, y compris les antibiotiques injectables, pour lesquels les études de bioéquivalence ne sont pas requises, ainsi que les antibiotiques oraux sous forme de comprimés ou de gélules, pour lesquels les études de bioéquivalence sont exigées mais insuffisantes pour prouver une efficacité thérapeutique.[5]

En 2012, l'Académie nationale française a publié un rapport sur les médicaments génériques, y compris les antibiotiques génériques, dans lequel elle recommande la réalisation d'une évaluation complète de la qualité pharmaceutique des antibiotiques génériques, incluant une mesure de l'activité antibactérienne in vitro (potency), en plus des données classiques de bioéquivalence (les concentrations plasmatiques pouvant d'ailleurs être mesurées par des méthodes physico-chimiques et/ou des mesures d'activité antibactérienne).[5]

Il est important de noter qu'il existe très peu d'études publiées sur l'équivalence thérapeutique des médicaments génériques d'antibiotiques, en particulier ceux qui sont administrés par voie orale. La raison en est que la plupart de ces médicaments ont une large marge thérapeutique (à l'exception des aminosides et des glycopeptides qui ne sont pas administrables par voie orale), ce qui conduit à des concentrations plasmatiques largement supérieures aux concentrations minimales inhibitrices (CMI) ou bactéricides (CMB) des germes couramment rencontrés en ville, lorsqu'ils sont utilisés aux doses habituelles. En milieu hospitalier, pour les germes plus résistants, il est courant d'augmenter les doses administrées par voie orale en raison de la bonne tolérance des aminopénicillines et des céphalosporines, ou d'utiliser des formes injectables.[5]

L'équivalence thérapeutique des médicaments génériques approuvés pour une utilisation chez l'être humain a été remise en question dans différents domaines thérapeutiques, notamment en neurologie [6], en endocrinologie et dans les maladies cardiovasculaires [7]. La question a également été soulevée pour les agents antibactériens, notamment à la suite de la publication d'une étude colombienne portant sur des produits génériques de vancomycine suggérant que, malgré des paramètres pharmacocinétiques similaires et des activités antibactériennes in vitro

---

**3** Les aspects de la qualité pharmaceutique et pharmacodynamique des génériques d'amoxicilline commercialisés en Algérie par rapport au princeps.  
Thèse de Doctorat en Sciences Médicales DESM

# Introduction

---

similaires, certains produits génériques de vancomycine étaient moins bactéricides que l'innovateur in vivo dans un modèle d'infection de la cuisse de souris neutropénique [8], et pouvaient induire des souches bactériennes plus résistantes[9].

Les mêmes chercheurs colombiens ont mené des études sur la question de l'équivalence pharmaceutique et de son lien avec l'équivalence thérapeutique pour les génériques d'antibiotiques, publiées entre 2009 et 2020. Ils ont conclu que "l'équivalence pharmaceutique ne prédit pas toujours l'équivalence thérapeutique des génériques d'antibiotiques" et ont proposé de renforcer les conditions d'enregistrement des génériques d'antibiotiques en exigeant des critères plus stricts basés sur des preuves expérimentales solides avant l'approbation de leur utilisation chez l'homme.[5,8–14] À la suite de la publication de ces résultats, un débat a commencé dans le monde entier, impliquant les communautés scientifiques, les organismes de réglementation des médicaments et le grand public.[1]

La question de la qualité pharmaceutique, pharmacocinétique et pharmacodynamique des génériques d'antibiotiques est complexe et nécessite des recherches approfondies sur les différents aspects de cette problématique multidimensionnelle.

Dans un contexte où la qualité des génériques d'antibiotiques est largement remise en question à l'échelle internationale, il est crucial de se pencher sur la situation en Algérie. En effet, malgré l'abondance des génériques d'amoxicilline sur le marché national, peu d'études ont été menées pour évaluer leur qualité pharmaceutique et pharmacodynamique. Dans le but de répondre à cette question de recherche, cette thèse vise à évaluer plusieurs aspects liés à la qualité pharmaceutique et pharmacodynamique de cinq génériques d'amoxicilline fabriqués et commercialisés en Algérie en les comparant à la version princeps fabriquée localement, ainsi qu'à celle fabriquée en France.

Notre étude s'inscrit dans une volonté de garantir l'efficacité et la sécurité des traitements antibiotiques pour les patients algériens, et de contribuer à une meilleure compréhension des enjeux liés à l'utilisation des génériques d'antibiotiques dans le monde.

---



# **Revue de la littérature**



# Chapitre I

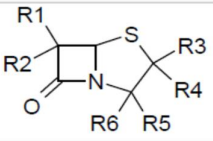
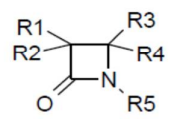
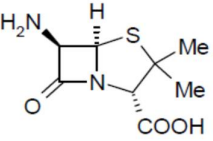
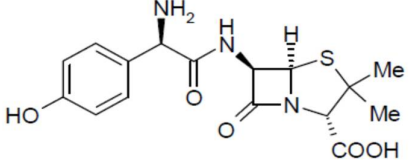
## Chapitre I : Les génériques de l'amoxicilline

### I.1. L'Amoxicilline

#### I.1.1. Généralités

L'Amoxicilline est un antibiotique semi synthétique de la classe des pénicillines appartenant à la famille des Bêtalactames.

La structure des pénicillines dérive du noyau pénème, qui comporte un cycle azétidine-2-one. L'acide 6-aminopénicillanique (6-APA) constitue la structure de base des pénicillines, la substitution par acylation de la fonction amine conduisant à des dérivés se distinguant par leur pharmacocinétique, leur stabilité, le spectre antibiotique et la résistance aux  $\beta$ -lactamases. [15]

	Noyau pénème
	Azétidine 2-one ( $\beta$ lactame)
	Acide 6-aminopénicillanique (6-APA)
	Amoxicilline

**Figure 1:** Structures chimiques de l'Amoxicilline, de l'acide 6-aminopénicillanique (6-APA), de l'azétidine-2-one, et du noyau pénème [15]

L'Amoxicilline a été découvert en 1964, et autorisé pour la première fois en 1972. Il fait partie de la liste des médicaments essentiels de l'OMS. [16,17]

L'Amoxicilline fait partie du groupe des pénicillines à spectre élargi, encore appelées pénicillines du groupe "A" (Ampicilline et apparentées). Le spectre de ces pénicillines hémi-synthétiques correspond à celui de la Benzyl-pénicilline (PEN G), étendu à certains bacilles à Gram négatif. L'effet bactéricide des pénicillines intervient par inhibition de la transpeptidation, étape nécessaire à l'élaboration du peptidoglycane, polymère majeur de la paroi des bactéries. [15]

Cet antibiotique, couramment utilisé depuis le début des années 1980 en traitement des infections broncho-pulmonaires, pleurales ainsi que ORL [Amoxicilline : Clamoxyl® ; Amoxicilline et acide Clavulanique (inhibiteur de  $\beta$ -lactamases) : Augmentin®] est enregistré dans plusieurs spécialités (princeps et nombreux génériques). [15]

Selon le type de spécialité pharmaceutique, l'Amoxicilline est présente sous deux formes:

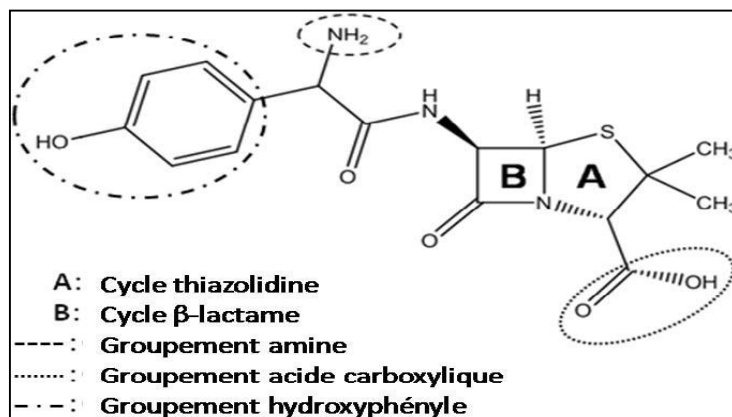
- Amoxicilline sodique stérile pour les spécialités injectables (IM/IV) ;
- Amoxicilline trihydratée pour les spécialités orales.

Sa posologie peut être supérieure à 2 g / jour. La forme injectable est indispensable dans la prise en charge des patients ne pouvant pas bénéficier des formes orales. [15]

### I.1.2. Formule chimique et procédés d'obtention :

D'après sa charge électrique, l'amoxicilline est un zwitterion. La formule chimique brute de la forme orale est :  $C_{16} H_{19} N_3 O_5 S \cdot 3 H_2O$ . Il s'agit en fait de l'acide (-)- 6- [2- amino-2- (phydroxyphényl) acétamido]- 3,3- diméthyl- 7- oxo- 4- thia-1- azabicyclo [3.2.0] heptane-2- carboxylique. [16]

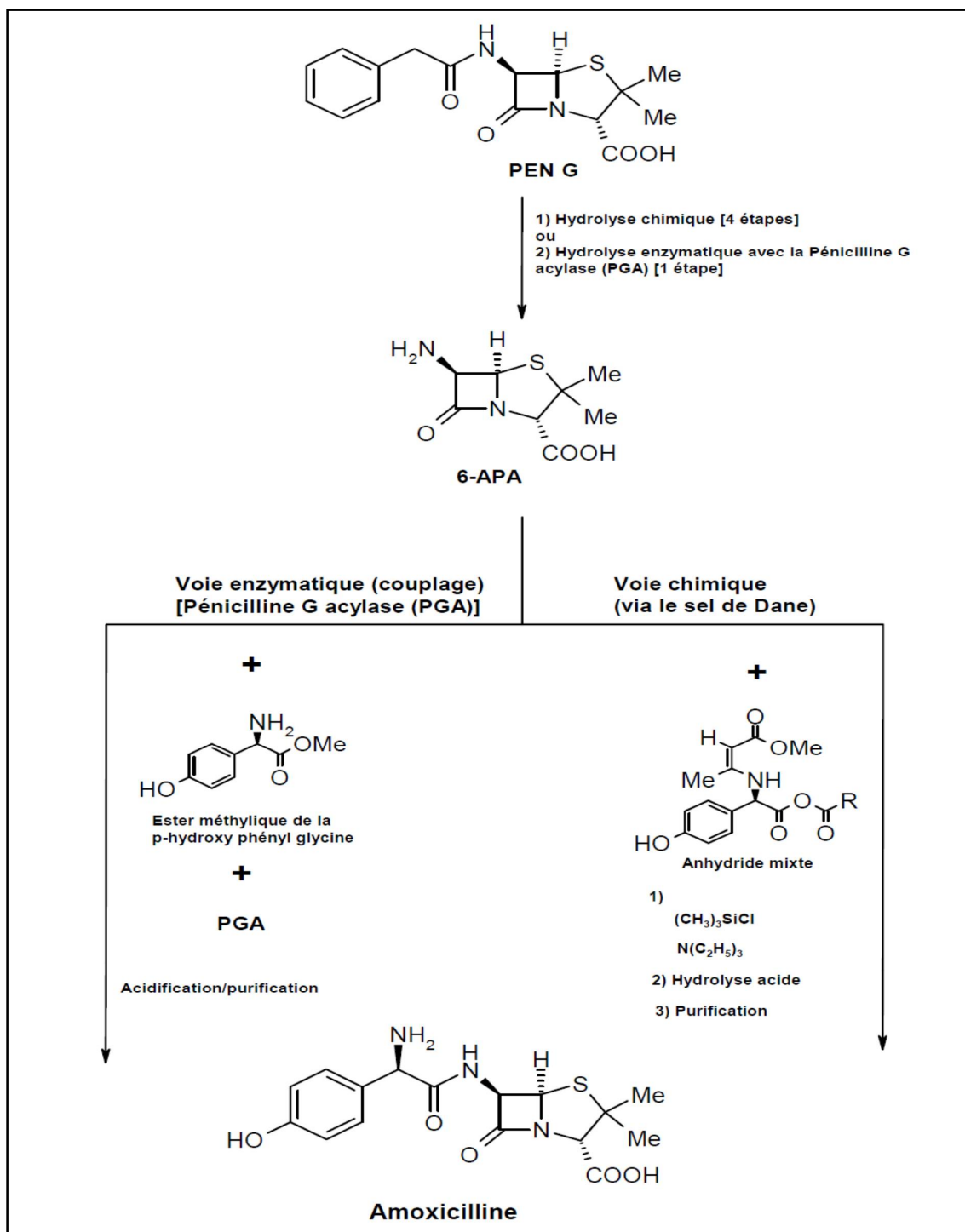
La masse moléculaire de l'amoxicilline est de 365,4 daltons. Tel qu'il est illustré à la figure ci-dessous, elle possède trois groupements ionisables : le groupement acide carboxylique COOH sur le cycle thiazolidine, le groupement hydroxyle OH du cycle para-hydroxyphényle et le groupement amine primaire sur la chaîne latérale du cycle  $\beta$ -lactame. [15]



**Figure 2:** Structure semi-développée de l'amoxicilline identifiant ses groupements ionisables et les cycles du noyau  $\beta$ -lactamine

Au niveau des productions industrielles décrites dans la littérature, les procédés d'obtention de l'Amoxicilline trihydratée à partir de l'intermédiaire clé 6-APA sont chimiques ou enzymatiques. [15]

Le 6-APA est quant à lui obtenu à partir de pénicilline G (PEN G / Benzyl-pénicilline) après rupture de la liaison amide [-CONH-], via l'utilisation de méthodes enzymatiques ou chimiques. [18]



**Figure 3:** Exemples de Procédés d'obtention de l'Amoxicilline [18]

Les méthodes d'obtention classiques par voie chimique (via le sel de Dane) de l'Amoxicilline

Impliquent typiquement plus de 10 étapes, nécessitent des températures réactionnelles basses (- 30°C), et utilisent des solvants toxiques comme le chlorure de méthylène ainsi que des réactifs de silylation. Il est reporté que la production d'un kilogramme d'Amoxicilline génère jusqu'à environ 70 kg de déchets non recyclables. [18]

A contrario, les méthodes enzymatiques nécessitent beaucoup moins d'étapes, utilisent des conditions réactionnelles plus douces, et génèrent moins de déchets. Cette dernière approche est en voie d'implantation pour les productions industrielles : la synthèse enzymatique est utilisée par DSM depuis 2006, et GSK sur son site de Singapour. [15]

Il est à noter dans la littérature des essais d'obtention «one-pot» d'Amoxicilline directement à partir de PEN G. [18]

De nombreuses voies de synthèse d'Amoxicilline sodique à partir d'Amoxicilline trihydratée sont décrites dans la littérature (par exemple traitement par l'hydroxyde de sodium, ou le 2-éthyl hexanoate de sodium, ou le diéthyl oxaloacétate de sodium). [15]

### I.1.3. Propriétés pharmacocinétiques de l'Amoxicilline :

#### I.1.3.1. Absorption :

L'amoxicilline est totalement dissociée en solution aqueuse à pH physiologique. Elle est rapidement et bien absorbée après administration orale. Elle présente une biodisponibilité orale d'environ 70 %. Le délai d'obtention de la concentration plasmatique maximale (T<sub>max</sub>) est d'environ une heure. Les résultats pharmacocinétiques d'une étude dans laquelle la posologie de 250 mg d'amoxicilline trois fois/jour était administrée à jeun à des groupes de volontaires sains sont présentés ci-dessous. [19]

**Tableau 1:** Paramètres pharmacocinétiques de l'Amoxicilline [19]

C <sub>max</sub> (µg/ml)	T <sub>max</sub> * (h)	ASC (0-24h) (µg.h/ml)	T 1/2 (h)
3,3 ± 1,12	1,5 (1,0-2,0)	26,7 ± 4,56	1,36 ± 0,56

\*Médiane (intervalle)

Dans l'intervalle de doses comprises entre 250 et 3000 mg, la biodisponibilité est proportionnelle à la dose administrée (mesurée par la C<sub>max</sub> et l'ASC). L'absorption n'est pas

influencée par une prise alimentaire simultanée. L'hémodialyse peut être utilisée pour éliminer l'amoxicilline. [19]

### **I.1.3.2. Distribution :**

Environ 18 % de l'amoxicilline plasmatique totale sont liés aux protéines et le volume apparent de distribution est d'environ 0,3 à 0,4 l/kg.

Après administration intraveineuse, l'amoxicilline a été détectée dans la vésicule biliaire, le tissu abdominal, la peau, la graisse, les tissus musculaires, les liquides synovial et péritonéal, la bile et le pus. L'amoxicilline ne se distribue pas dans le liquide céphalorachidien de manière adéquate.

Les études animales n'ont pas montré d'accumulation tissulaire significative de substance dérivée du médicament. L'amoxicilline, comme la majorité des pénicillines, peut être détectée dans le lait maternel. Il a été montré que l'amoxicilline traverse la barrière placentaire. [20]

### **I.1.3.3. Biotransformation et excrétion :**

L'amoxicilline est partiellement excrétée dans l'urine sous forme d'acide pénicilloïque inactif, dans une proportion pouvant atteindre 10 à 25 % de la dose initiale.

La principale voie d'élimination de l'amoxicilline est rénale. L'amoxicilline possède une demi-vie d'élimination moyenne d'environ une heure et une clairance totale moyenne d'environ 25 l/heure chez les sujets sains. Environ 60 à 70% de l'amoxicilline est excrétée sous forme inchangée dans l'urine au cours des 6 heures suivant l'administration d'une dose unique de 250 mg ou 500 mg d'amoxicilline. Diverses études ont montré que l'excrétion urinaire est de 50 à 85 % sur une période de 24 heures. L'utilisation concomitante de probénécide retarde l'excrétion de l'amoxicilline.

La demi-vie d'élimination de l'amoxicilline chez les jeunes enfants âgés d'environ 3 mois à 2 ans est semblable à celle des enfants plus âgés et des adultes. Chez les très jeunes enfants (y compris les nouveau-nés prématurés), pendant la première semaine de vie, l'administration doit se limiter à deux fois par jour en raison de l'immaturation de la voie d'élimination rénale. En raison d'une probabilité accrue de détérioration de la fonction rénale chez les patients âgés, il convient de sélectionner la dose avec précaution et il peut être utile de surveiller la fonction rénale.

La clairance sérique totale de l'amoxicilline diminue proportionnellement à la baisse de la fonction rénale. L'amoxicilline doit être utilisée avec prudence chez les patients insuffisants hépatiques et la fonction hépatique doit être surveillée régulièrement. [20]

#### I.1.3.4. Posologie :

La dose d'Amoxicilline choisie pour traiter une infection particulière doit prendre en compte :

- Les pathogènes suspectés et leur sensibilité probable aux agents antibactériens
- La sévérité et le foyer de l'infection
- L'âge, le poids et la fonction rénale du patient ; voir ci-dessous

La durée du traitement dépendra du type d'infection et de la réponse du patient au traitement et doit généralement être la plus courte possible. Certaines infections imposent un traitement prolongé.

L'amoxicilline est administrable par voie orale ou parentérale. Il est présent sous deux formes selon le type de spécialité pharmaceutique :

- **Amoxicilline tri hydratée pour les spécialités orales** : Comprimés (dispersibles, enrobés, sécables...), gélules, poudre pour suspension buvable ...
- **Amoxicilline sodique stérile pour les spécialités injectables** (IM/IV ; suspension pour injection (indispensable dans la prise en charge des patients ne pouvant pas bénéficier des formes orales).)[21]

**Tableau 2:** Posologie chez les Adultes et enfants  $\geq 40$  kg

Indication*	Dose*
Sinusite bactérienne aiguë	250 mg à 500 mg toutes les 8 heures ou 750 mg à 1g toutes les 12 heures
Bactériurie asymptomatique gravidique	Pour les infections sévères 750 mg à 1g toutes les 8 heures
Pyélonéphrite aiguë	Les cystites aiguës peuvent être traitées avec 3 g deux fois par jour pendant un jour
Abcès dentaire avec cellulite	
Cystite aiguë	
Otite moyenne aiguë	500 mg toutes les 8 heures, 750 mg à 1 g toutes les 12 heures
Angine/pharyngite documentée à streptocoque	Pour les infections sévères 750 mg à 1 g toutes les 8 heures pendant 10 jours
Exacerbations aiguës de bronchite chronique	
Pneumonie communautaire	500 mg à 1 g toutes les 8 heures
Fièvre typhoïde et paratyphoïde	500 mg à 2 g toutes les 8 heures
Infections articulaires sur prothèses	500 mg à 1 g toutes les 8 heures

Prophylaxie de l'endocardite	2 g par voie orale, une dose unique 30 à 60 minutes avant l'intervention
Éradication de <i>Helicobacter pylori</i>	750 mg à 1 g deux fois par jour en association avec un inhibiteur de la pompe à protons (comme l'oméprazole ou le lansoprazole) et un autre antibiotique (comme la clarithromycine ou le métronidazole) pendant 7 jours
Maladie de Lyme	Phase précoce : 500 mg à 1 g toutes les 8 heures jusqu'à un maximum de 4 g/jour en doses fractionnées pendant 14 jours (10 à 21 jours) Phase tardive (atteinte systémique) : 500 mg à 2 g toutes les 8 heures jusqu'à un maximum de 6 g/jour en doses fractionnées pendant 10 à 30 jours
*Il convient de tenir compte des recommandations thérapeutiques officielles pour chaque indication.	

**Tableau 3:** Posologies recommandées chez les Enfants < 40 kg

Indication <sup>+</sup>	Dose <sup>+</sup>
Sinusite bactérienne aiguë Otite moyenne aiguë Pneumonie communautaire Cystite aiguë Pyélonéphrite aiguë Absès dentaire avec cellulite	20 à 90 mg/kg/jour en plusieurs prises*
Angine/pharyngite documentée à streptocoque	40 à 90 mg/kg/jour en plusieurs prises *
Fièvre typhoïde et paratyphoïde	100 mg/kg/jour en 3 prises
Prophylaxie de l'endocardite	50 mg/kg par voie orale, une dose unique 30 à 60 minutes avant l'intervention
Maladie de Lyme (voir rubrique 4.4)	Phase précoce : 25 à 50 mg/kg/jour en trois prises pendant 10 à 21 jours Phase tardive (atteinte systémique) : 100 mg/kg/jour en trois prises pendant 10 à 30 jours
+ Il convient de tenir compte des recommandations thérapeutiques officielles pour chaque indication.	
*Le schéma posologique en deux prises par jour ne doit être envisagé que pour les posologies les plus élevées.	

**Tableau 4:** Adaptation posologique chez les Patients insuffisants rénaux

DFG (ml/min)	Adultes et enfants ≥ 40 kg	Enfants <40 kg#
Supérieur à 30	aucune adaptation nécessaire	Aucune adaptation nécessaire
10 à 30	Maximum 500 mg deux fois par jour	15 mg/kg deux fois par jour (maximum 500 mg deux fois par jour)

DFG (ml/min)	Adultes et enfants $\geq 40$ kg	Enfants $<40$ kg#
Inférieur à 10	Maximum 500 mg/jour.	15 mg/kg en une seule prise par jour (maximum 500 mg)

# Dans la majorité des cas, le traitement parentéral est préférable

**Tableau 5:** Adaptation posologique chez les patients hémodialysés

Hémodialyse	
<b>Adultes et enfants <math>\geq 40</math> kg</b>	15 mg/kg/jour en une seule prise par jour. Avant l'hémodialyse, une dose supplémentaire de 15 mg/kg doit être administrée. Afin de rétablir les concentrations du médicament dans la circulation, une autre dose de 15 mg/kg doit être administrée après l'hémodialyse.

Nota Bene : Patients sous dialyse péritonéale 500 mg/jour d'amoxicilline au maximum

#### I.1.4. Propriétés pharmacodynamiques de l'Amoxicilline :

##### I.1.4.1. Mécanisme d'action :

L'amoxicilline est une pénicilline semi-synthétique, qui inhibe une ou plusieurs enzymes (souvent désignées par protéines de liaison aux pénicillines ou PLP) de la voie de biosynthèse des peptidoglycanes bactériens, composants structurels de la paroi cellulaire bactérienne. L'inhibition de la synthèse des peptidoglycanes conduit à une fragilisation de la paroi cellulaire, souvent suivie par la lyse et la mort cellulaires.

L'amoxicilline étant sujette à la dégradation par les bêta-lactamases produites par les bactéries résistantes, son spectre d'activité lorsqu'elle est administrée seule n'inclut pas les organismes produisant ces enzymes. Le temps au-dessus de la concentration minimale inhibitrice ( $T > CMI$ ) est considéré comme étant le paramètre majeur de l'efficacité de l'amoxicilline.[22]

**Tableau 6:** Concentrations critiques pour l'amoxicilline établies par l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) version 5.0

Organisme	Valeur critique de sensibilité CMI (mg/L)	
	Sensible $\leq$	Résistant $>$
Entérobactéries	8 <sup>1</sup>	8
<i>Staphylococcus</i> spp.	Remarque <sup>2</sup>	Remarque <sup>2</sup>
<i>Enterococcus</i> spp. <sup>3</sup>	4	8
Streptocoques des groupes A, B, C et G	Remarque <sup>4</sup>	Remarque <sup>4</sup>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Remarque <sup>5</sup>	Remarque <sup>5</sup>
Streptocoques du groupe <i>Viridans</i>	0,5	2

<i>Haemophilus influenzae</i>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Remarque <sup>7</sup>	Remarque <sup>7</sup>
<i>Neisseria meningitidis</i>	0,125	1
Anaérobies à Gram positif sauf <i>Clostridium difficile</i> <sup>8</sup>	4	8
Anaérobies à Gram négatif <sup>8</sup>	0,5	2
<i>Helicobacter pylori</i>	0,125 <sup>9</sup>	0,125 <sup>9</sup>
<i>Pasteurella multocida</i>	1	1
Concentrations critiques non liées à l'espèce <sup>10</sup>	2	8

<sup>1</sup>Les souches sauvages d'Entérobactéries sont classées comme sensibles aux aminopénicillines. Certains pays préfèrent classer les souches sauvages isolées d'*E. coli* et de *P. mirabilis* dans la catégorie intermédiaire. Dans ce cas-là, il convient d'utiliser la valeur critique CMI S  $\leq$  0,5 mg/L.

<sup>2</sup>La plupart des staphylocoques sont producteurs de pénicillinase, et sont résistants à l'amoxicilline. Les isolats résistants à la méticilline sont, à quelques exceptions près, résistants à tous les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines.

<sup>3</sup>La sensibilité à l'amoxicilline peut être déduite à partir de celle de l'ampicilline

<sup>4</sup>La sensibilité des streptocoques des groupes A, B, C et G aux pénicillines est déduite de la sensibilité à la benzylpénicilline.

<sup>5</sup>Les valeurs critiques concernent uniquement des isolats non-méningés. Pour les isolats classés comme intermédiaire à l'ampicilline, éviter un traitement oral par l'amoxicilline. La sensibilité est déduite de la valeur de la CMI de l'ampicilline.

<sup>6</sup>Les valeurs critiques reposent sur l'administration intraveineuse. Les isolats bêta-lactamase-positifs doivent être reportés comme résistants.

<sup>7</sup>Les producteurs de bêta-lactamase doivent être reportés comme résistants.

<sup>8</sup>La sensibilité à l'amoxicilline est déduite de la sensibilité à la benzylpénicilline.

<sup>9</sup>Les valeurs critiques reposent sur les valeurs des seuils épidémiologiques (ECOFF), qui font la distinction entre les isolats de souches sauvages et les isolats ayant une sensibilité diminuée.

<sup>10</sup>Les valeurs critiques non liées à l'espèce reposent sur des doses d'au moins 0,5 g administrées 3 à 4 fois par jour (1,5 à 2 g/jour).

**Tableau 7:** Sensibilité in vitro des micro-organismes à l'amoxicilline

<b>Espèces habituellement sensibles</b>
<u>Aérobies à Gram positif :</u> <i>Enterococcus faecalis</i> Streptocoque $\beta$ -hémolytique (Groupe A, B, C et G) <i>Listeria monocytogenes</i>
<b>Espèces inconstamment sensibles (résistance acquise &gt; 10%)</b>
<u>Aérobies à Gram négatif :</u> <i>Escherichia coli</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Helicobacter pylori</i> <i>Proteus mirabilis</i>

---

*Salmonella typhi*

*Salmonella paratyphi*

*Pasteurella multocida*

---

Aérobies à Gram positif :

Staphylocoques à coagulase négative

*Staphylococcus aureus*<sup>‡</sup>

*Streptococcus pneumoniae*

Streptocoques du groupe *Viridans*

---

Anaérobies à Gram positif :

*Clostridium* spp.

---

Anaérobies à Gram négatif :

*Fusobacterium* spp.

---

Autre :

*Borrelia burgdorferi*

---

#### Espèces naturellement résistantes<sup>11</sup>

Aérobies à Gram positif :

*Enterococcus faecium*<sup>12</sup>

Aérobies à Gram négatif :

*Acinetobacter* spp.

*Enterobacter* spp.

*Klebsiella* spp.

*Pseudomonas* spp.

---

Anaérobies à Gram négatif :

*Bacteroides* spp. (de nombreuses souches de *Bacteroides fragilis* sont résistantes).

---

Autres :

*Chlamydia* spp.

*Mycoplasma* spp.

*Legionella* spp.

---

<sup>11</sup> Sensibilité intermédiaire naturelle en l'absence de mécanisme acquis de résistance.

<sup>12</sup> Presque tous les *S. aureus* sont résistants à l'amoxicilline en raison de leur production de pénicillinase. De plus, toutes les souches méticilline-résistantes sont résistantes à l'amoxicilline.

---

### I.1.4.2. Mécanisme de résistance

Les deux principaux mécanismes de résistance à l'amoxicilline sont :

- L'inactivation par les bêta-lactamases bactériennes
- La modification des PLP, qui réduit l'affinité de l'agent antibactérien pour la cible

L'imperméabilité des bactéries ou les mécanismes de pompe à efflux peuvent entraîner ou favoriser une résistance bactérienne, en particulier chez les bactéries à Gram négatif.[15]

### I.1.4.3. Spectre d'activité :

Les concentrations critiques pour l'amoxicilline sont établies par l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).[15]

Les concentrations critiques séparent les souches sensibles des souches de sensibilité intermédiaire et ces dernières, des résistantes : **S ≤ 4 mg/l et R > 16 mg/l.**

Le spectre d'activité est celui de la Benzyl-pénicilline (PEN G), étendu à certains bacilles à « Gram négatif » :[23]

- **Espèces habituellement sensibles** : Enterococcus faecalis ; Streptocoque β-hémolytique (Groupe A, B, C et G) ; Listeria monocytogenes.
- **Espèces inconstamment sensibles** : (Résistance acquise >10%)
  - ✓ **Aérobies à Gram négatif** : Escherichia coli ; Haemophilus influenzae ; Helicobacter pylori ; Proteus mirabilis ; Salmonella typhi ; Salmonella paratyphi ; Pasteurella multocida ; Fusobacterium spp.
  - ✓ **Aérobies à Gram positif** : Staphylocoques à coagulase négative ; Staphylococcus aureus (Presque tous les S. aureus sont résistants à l'amoxicilline en raison de leur production de pénicillinase. De plus, toutes les souches méticilline-résistantes sont résistants à l'amoxicilline.) ; Streptococcus pneumoniae (de nombreuses études ont confirmé que l'amoxicilline est la seule β-lactamine orale active sur plus de 90 % des souches.) ; Streptocoques du groupe Viridans ; Clostridium spp.
  - ✓ **Autre** : Borrelia burgdorferi.
- **Espèces naturellement résistantes** :
  - ✓ **Gram positif** : Enterococcus faecium.
  - ✓ **Gram négatif** : Acinetobacter spp ; Enterobacter spp ; Klebsiella spp ; Pseudomonas spp ; Bacteroides spp (de nombreuses souches de Bacteroides fragilis sont résistantes).
  - ✓ **Autres** : Chlamydia spp ; Mycoplasma spp ; Legionella spp.

### I.1.5. Données cliniques de l'Amoxicilline :

#### I.1.5.1. Indications thérapeutiques :

L'amoxicilline est prescrit en terme curatif ou prophylactique. Il est indiqué dans le traitement des infections suivantes « dites à germes sensibles » chez l'adulte et l'enfant :

### I.1.5.1.1. Indications orales :

- Sinusite bactérienne aiguë ;
- Otite moyenne aiguë ;
- Angine/pharyngite documentée à streptocoque ;
- Exacerbations aiguës de bronchite chronique ;
- Pneumonie communautaire ;
- Cystite aiguë ;
- Bactériurie asymptomatique gravidique ;
- Pyélonéphrite aiguë ;
- Fièvre typhoïde et paratyphoïde ;
- Abscess dentaire avec cellulite ;
- Infections articulaires sur prothèses ;
- Éradication de *Helicobacter pylori* ;
- Maladie de Lyme.

Il est aussi indiqué dans la prophylaxie de l'endocardite. [22,24]

### I.1.5.1.2. Indications parentérales :

Dans les infections sévères :

- Infections O.R.L sévères (telles que mastoïdite, infections péri-amygdaliennes, épiglottite et sinusite lorsqu'elles sont accompagnées de signes et symptômes systémiques sévères);
- Exacerbations aiguës de bronchite chronique ;
- Pneumonie communautaire ;
- Cystite aiguë ; et Pyélonéphrite aiguë ;
- Abscess dentaire sévère avec cellulite ;
- Infections articulaires sur prothèses ;
- Maladie de Lyme ;
- Méningite bactérienne ;
- Bactériémie associée, ou suspectée d'être associée à l'une des infections listées ci-dessus ; [22]

L'Amoxicilline est aussi indiqué dans le traitement et la prophylaxie de l'endocardite.

**Remarque :** Il est a noté que la CHMP a convenu que l'amoxicilline ne doit plus être utilisé pour le traitement des infections génitales féminines, car il n'existe pas suffisamment de

données cliniques soutenant cette indication. En outre, L'Amoxicilline ne doit plus être utilisée dans plusieurs autres indications (traitement de la bronchite, de la pneumonie aiguë, de l'urétrite, des infections à gonocoques, des infections génitales masculines, de la blennorragie, de l'entérite avec bactériémie et des infections intra-abdominales, telles que la péritonite, la cholécystite et l'angiocholite aiguë, ainsi que des infections graves dues à *Haemophilus influenzae*), parce que d'autres antibiotiques se sont avérés plus efficaces que l'amoxicilline.[22,25]

### **I.1.5.2. Contre-indications :**

- Hypersensibilité à la substance active, et aux pénicillines.
- Antécédents de réaction d'hypersensibilité immédiate sévère (par ex. anaphylaxie) à une autre bêta-lactamine (par ex. céphalosporines, carbapénèmes ou monobactames).[20]

### **I.1.5.3. Effets indésirables :**

Ils sont classés selon la classification MedDRA par système-organe où la fréquence a été déterminée d'après les données des études cliniques portant sur un total d'environ 6 000 patients adultes et pédiatriques sous amoxicilline.

Les effets indésirables les plus fréquents sont : les diarrhées, les nausées, les vomissements, les éruptions cutanées, l'urticaire et prurit.[22]

### **I.1.5.4. Interactions médicamenteuses :**

- ❖ **Probénécide** : Il diminue la sécrétion tubulaire rénale de l'amoxicilline, conduisant ainsi à une augmentation prolongée de la concentration sanguine d'amoxicilline.
- ❖ **Allopurinol** : Peut augmenter la probabilité de réactions cutanées allergiques.
- ❖ **Tétracyclines** : Et d'autres médicaments bactériostatiques peuvent interférer avec les effets bactéricides de l'amoxicilline.
- ❖ **Anticoagulants oraux** : Des cas d'augmentation de l'INR ont été rapportés dans la littérature chez des patients maintenus sous acénocoumarol ou warfarine pendant l'administration d'amoxicilline. Si une co-administration est nécessaire, le temps de Quick ou l'INR lors de l'ajout ou du retrait d'amoxicilline doit être étroitement surveillé. En outre, une adaptation posologique des anticoagulants oraux peut être nécessaire.
- ❖ **Méthotrexate** : Les pénicillines peuvent réduire l'excrétion du méthotrexate et augmenter ainsi sa toxicité. [22,24]

### **I.1.5.5. Mise en garde et précautions d'emploi :**

#### **I.1.5.5.1. En cas d'insuffisance rénale :**

La clairance sérique totale de l'amoxicilline diminue proportionnellement à la baisse de la fonction rénale ; d'où la nécessité d'adapter et de réduire la dose selon le degré d'insuffisance rénale.[26]

La demi-vie d'élimination de l'amoxicilline chez les jeunes enfants âgés d'environ 3 mois à 2 ans est semblable à celle des enfants plus âgés et des adultes. Chez les très jeunes enfants (y compris les nouveau-nés prématurés), pendant la première semaine de vie, l'administration doit se limiter à deux fois par jour en raison de l'immaturation de la voie d'élimination rénale.[27]

Pour éviter une détérioration de la fonction rénale chez les patients âgés, il convient de sélectionner la dose avec précaution et il peut être utile de surveiller la fonction rénale. [25]

#### **I.1.5.5.2. En cas d'insuffisance hépatique :**

L'amoxicilline doit être utilisée avec prudence chez les patients souffrant d'insuffisance hépatique et la fonction hépatique doit être surveillée régulièrement. Une élévation des enzymes hépatiques a été rapportée. [22]

#### **I.1.5.5.3. En cas de surdosage :**

##### ➤ **Signes et symptômes de surdosage :**

Des symptômes gastro-intestinaux (nausées, vomissements et diarrhée) et des troubles de l'équilibre hydroélectrolytique sont possibles et certains cas d'insuffisance rénale en cas de cristallurie. Des convulsions peuvent survenir chez les patients ayant une insuffisance rénale ou ceux recevant des doses élevées.

Une précipitation de l'amoxicilline dans les sondes vésicales, en particulier après administration intraveineuse de doses importantes. Il convient de contrôler régulièrement la perméabilité de la sonde. [25]

##### ➤ **Traitement de l'intoxication :**

Le traitement des signes gastro-intestinaux est symptomatique et fait intervenir une surveillance particulière de l'équilibre hydroélectrolytique. Et l'amoxicilline peut être éliminée de la circulation sanguine par hémodialyse. [25]

### I.1.5.6. Fertilité, grossesse et allaitement :

Il n'y a aucune donnée relative aux effets de l'amoxicilline sur la fertilité humaine. Les études sur la reproduction menées chez l'animal (souris et rats à des doses 10 fois supérieures à celles prescrits chez l'homme) n'ont montré aucun effet sur la fertilité. [22]

L'amoxicilline peut être utilisé par la femme enceinte si les bénéfices potentiels l'emportent sur les risques potentiels associés au traitement. [25]

Un risque possible de sensibilisation peut survenir. Par conséquent, une diarrhée et une infection fongique des muqueuses sont possibles chez le nourrisson et pourraient nécessiter l'arrêt de l'allaitement. L'amoxicilline ne peut être utilisée pendant l'allaitement qu'après évaluation du rapport bénéfice/risque par le médecin traitant.[28]

## I.2. Génériques de l'amoxicilline :

### I.2.1. Définitions :

#### I.2.1.1. Définition du princeps :

Un médicament dit « princeps » ou spécialité de référence se définit comme un produit breveté et innovateur par sa formulation ou sa classe thérapeutique.[29]

Selon OMS, lorsqu'un laboratoire met au point une nouvelle molécule (principe actif PA) à but thérapeutique, il dépose un brevet. Ce brevet lui garantit l'exclusivité d'exploitation et de commercialisation de la nouvelle molécule.[30]

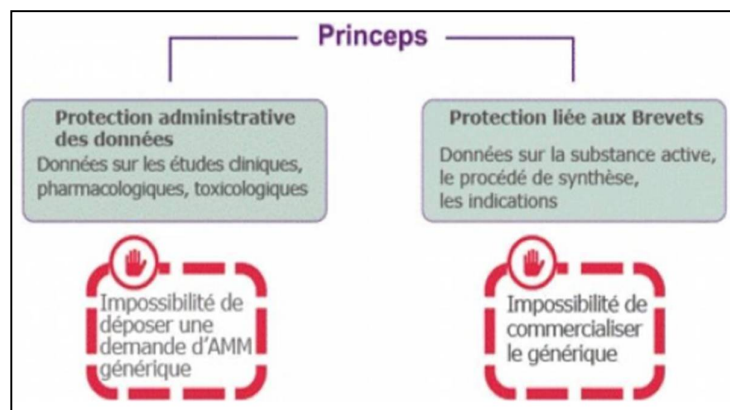


Figure 4: La protection du médicament princeps [30]

### I.2.1.2. Définition du générique :

Selon leur statut, les génériques répondent à différents types de définitions : scientifique, législative (aspect réglementaire), et économique (prix).

**L'European Medicines Agency EMA définit le générique comme** « Un médicament qui a la même composition qualitative et quantitative en substances actives et la même forme pharmaceutique que le médicament de référence et dont la bioéquivalence avec le médicament de référence a été démontrée par des études appropriées de biodisponibilité.» (Reg. 726/2004, l'article 10, 2b) [4] [5]

L'OMS quant à elle, considère les génériques comme « des copies des médicaments princeps tombés dans le domaine public, contenant la même quantité de principe actif et présentés sous la même forme pharmaceutique. Ces médicaments doivent être des équivalents thérapeutiques aux produits princeps (et sont de ce fait interchangeables). Ils doivent en outre présenter un avantage économique » (OMS, 2007). [6]

Il s'ajoute à ces définitions que :

- ❖ Les formes orales à libération immédiates sont considérées comme une même forme pharmaceutique. Seule la méthode de préparation et la composition en excipients peuvent plus ou moins varier.
- ❖ Les dérivés chimiques d'un même PA (sels, isomères, esters...) sont considérés comme un même principe actif sous conditions de ne pas affecter la sécurité et/ou l'efficacité de médicament.
- ❖ Elargissement du champ du répertoire de générique aux différentes formes galéniques des formes orales à libération modifiées, (À condition de respecter l'appartenance à une même catégorie de libération modifiée (prolongée, retardée ou séquentielle).

### I.2.1.3. Génériques versus princeps :

Les médicaments génériques peuvent être commercialisés après l'expiration du brevet du produit de référence. Ils contiennent les mêmes ingrédients médicinaux et sont considérés équivalents au plan thérapeutique. Toutefois, ils se distinguent du médicament d'origine entre autres par leur nom, la composition de leurs excipients et l'homologation. Ils sont aussi moins dispendieux.[29]

Il arrive que la version générique, y compris ses ingrédients non médicamenteux, soit identique à l'originale, voire produite dans la même usine. On parle alors de « pseudogénérique » ou d'« ultra-génériques ».[29]

**Tableau 8:** Différences et similarités entre les médicaments génériques et princeps.[29]

	<b>Différences</b>	<b>Similarités</b>
<b>Nom</b>	Nom commercial	Dénomination commune internationale (DCI) Nom chimique
<b>Composition</b>	Ingrédients inactifs (mais pourraient être identiques si médicament est « pseudogénérique »)	Ingrédient actif : Formule chimique et structure moléculaire. Toutefois, le processus de synthèse peut varier selon le fabricant.
<b>Homologation</b>	Étude de biodisponibilité comparative (sauf si « pseudogénérique »)	
<b>Coût</b>	Générique généralement trois fois plus économique	
<b>Obligations de pharmacovigilance</b>		Nécessité de rapporter les événements indésirables.

Les médicaments génériques doivent démontrer leur bioéquivalence avec la spécialité de référence. C'est sur ce principe de bioéquivalence que reposent les stratégies de développement, d'évaluation et de promotion des génériques.[31]

### I.2.2. Génériques d'amoxicilline commercialisés en Algérie :

Voir Tableau 9 ci-dessous

**Tableau 9:** Génériques d'amoxicilline par voie orale commercialisés en Algérie. [21]

Génériques	Dosage	Forme pharmaceutique	Conditionnement	Génériques	Dosage	Forme pharmaceutique	Conditionnement
<b>AMOXYPEN</b>	125MG/5ML	PDRE. SUSP. BUV	FL./60ML	<b>BIOPAMOX</b>	500MG	GLES.	B/12
	250MG/5ML				250MG/5ML	PDRE. P. SUSP. BUV	FL./60ML ET FL./100ML
	500MG/5ML						
	500MG	GLES	B/12	<b>FAMOXYL</b>	125MG/5ML	PDRE. P. SUSP. BUV.	FL/60ML
	1G	COMP. DISPERS	B/06 - B/14 - B/16		250MG/5ML		
	250MG		B/12		500MG/5ML		
	<b>AMODEX Gé</b>	500MG	GLES	B/12	<b>GRAMOX</b>	500MG	GLES
1G		COMP. DISPERS.	B/06 ET B/14	250MG/ 5ML		PDRE. P. SUSP. BUV.	FL/60ML
250MG/5ML		PDRE. SUSP. BUV.	FL./60ML	500MG	GLES.		
500MG/5ML				<b>LAMOXYL</b>	1G	COMP. DISPERS.	B/14
<b>AMOXAL</b>	500MG	GLES.	B/12		250MG/5ML	PDRE. SUSP. BUV.	FL./60ML
	1G	COMP. DISPERS.	B/12 ET B/14		500MG/5ML		
	125MG/5ML	PDRE. P. SUSP. BUV.	FL 60ML	500MG	GLES.		
	250MG/5ML			<b>PENAMOX</b>	125MG/5ML.	PDRE. P. SUSP. BUV	FL 60ML
	500MG/5ML				250MG/5ML		
<b>AMOXICILLINE EG</b>	125MG/5ML	PDRE. SUSP. BUV.	FL./60ML	500MG/5ML	GLES.	B/12	
	500MG/5ML			COMP. DISPERS. SEC.			B/12
	1G	COMP. DISPERS.	B/14				
<b>AMOXIMEX</b>	125MG/5ML	PDRE. P. SUSP. BUV.	FL 60ML		<b>SAIFOXYL</b>	500MG	
	250MG/5ML			1G		DISPERS.	B/14
	500MG/5ML						
	1G	COMP. DISPERS.	B/06 ET B/14				

**24** Les aspects de la qualité pharmaceutique et pharmacodynamique des génériques d'amoxicilline commercialisés en Algérie par rapport au princeps.

Thèse de Doctorat En Sciences Médicales DESM

### I.2.3. Aspects législatifs :

Pour pouvoir commercialiser un médicament générique, il faut que les protections du princeps soient tombées, mais il faut également que le laboratoire génériqueur se plie aux procédures administratives nécessaires à la mise sur le marché de tout médicament : la demande et la constitution d'un dossier d'AMM. Comme pour tout médicament, les médicaments génériques subissent des contrôles tout au long de leur production et même après commercialisation. Leur prescription et leur délivrance répondent également aux mêmes exigences que celle des médicaments originaux, avec cependant quelques mesures supplémentaires mises en place afin d'en sécuriser et promouvoir l'utilisation.[31]

Le tableau suivant présente une comparaison du contenu des dossiers d'AMM qui doivent être déposés pour un médicament de référence et pour un médicament générique.

**Tableau 10:** Comparaison du dossier de demande d'AMM. [32]

Dossier de demande d'AMM	Princeps	Générique
<b>Module 1</b> : Renseignements administratifs	Oui	oui
<b>Module 2</b> : Résumé des modules 3, 4 et 5	Oui	oui
<b>Module 3</b> : Qualité (procédé de fabrication)	Oui	oui
<b>Module 4</b> : Sécurité (études non cliniques)	Oui	Non requis
<b>Module 5</b> : Efficacité (études cliniques chez l'homme)	Oui	Etude de bioéquivalence

En Algérie, tout médicament à usage de la médecine humaine prêt à l'emploi, fabriqué industriellement, importé ou exporté doit faire l'objet, avant sa mise sur le marché à titre gratuit ou onéreux, d'une décision d'enregistrement (DE) accordée par l'agence nationale des produits pharmaceutiques à usage de la médecine humaine prévue à l'article 173-1 après avis de la commission d'enregistrement des médicaments, créée auprès de cette agence.[33]

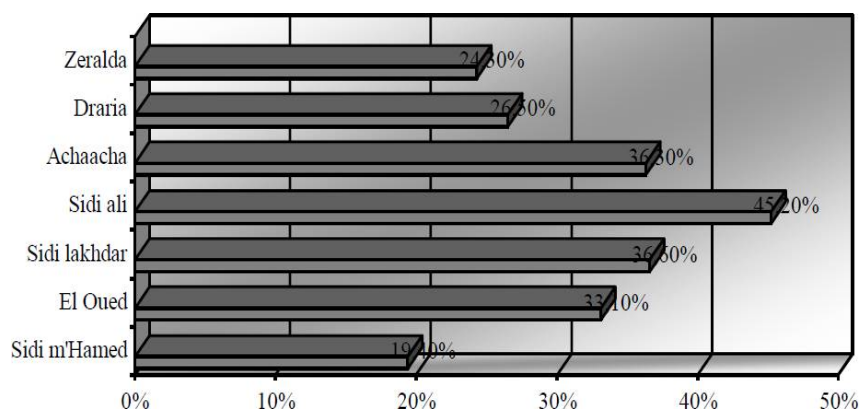
## I.2.4. Perception des génériques de l'amoxicilline chez la société algérienne :

### I.2.4.1. Chez les médecins :

Bien que le patient soit le consommateur final du médicament, c'est le médecin prescripteur qui est considéré comme le décideur principal du choix du médicament. Pendant la période d'exclusivité du brevet, les médecins prescrivent nécessairement le médicament du laboratoire innovant, le princeps, et se familiarise avec son nom. Il semble donc que le comportement de prescription des médecins est lié aux effets d'habitude.

D'autant plus que le nom générique est plus long, moins familier et plus difficile à retenir que le nom de la marque du princeps. La prescription d'un médicament générique requiert aussi que les médecins s'informent sur la posologie exacte du générique, sur les excipients et leurs interactions potentiels avec d'autres molécules. Ainsi, le médecin doit connaître la disponibilité d'alternatives génériques sur le marché. Nous savons que le seul avantage d'un médicament générique par rapport au princeps est son prix moins onéreux. Or, le médecin n'est, généralement, pas concerné par ce différentiel de prix, réduisant ainsi substantiellement l'élasticité-prix des médicaments de prescriptions. [25]

Une enquête effectuée par le Centre National de Pharmacovigilance et Matéiovigilance (CNPM) entre Juin et Décembre 2009 auprès de polycliniques et salles de soins ; le pourcentage de médicaments prescrits en noms génériques représente 23,13%. Dans une autre enquête effectuée par le même centre, Concernant la prescription des antibiotiques en noms génériques ; sur 2433 prescriptions, les génériques représentent en moyenne 31,6%. [26]



**Figure 5:** Taux de prescription des antibiotiques en noms génériques. [26]

### I.2.4.2. Chez les patients :

Le rôle du patient dans la sélection des médicaments, en tant que consommateur final ne doit pas être négligé. Tout comme les médecins, les patients peuvent développer des préférences pour des médicaments connus, déjà utilisés. Il paraît donc que la demande des médicaments par les patients peut être induite par des effets d'habitudes. Cette raison explique, en partie, le faible taux de substitution des médicaments au niveau des officines. En effet, dans la même enquête précédente réalisée par le CNPM, le taux moyen de substitution est de 17,56%. Il est encore moins pour les antibiotiques où les patients sont plus réticents envers la substitution, voir un refus total dans le cas de la polyclinique de Sidi Ali à Mostaganem. Une exception est relevée à El Oued où les patients acceptent mieux, jusqu'à 45%, l'idée de substitution des antibiotiques de marque prescrits. [25]

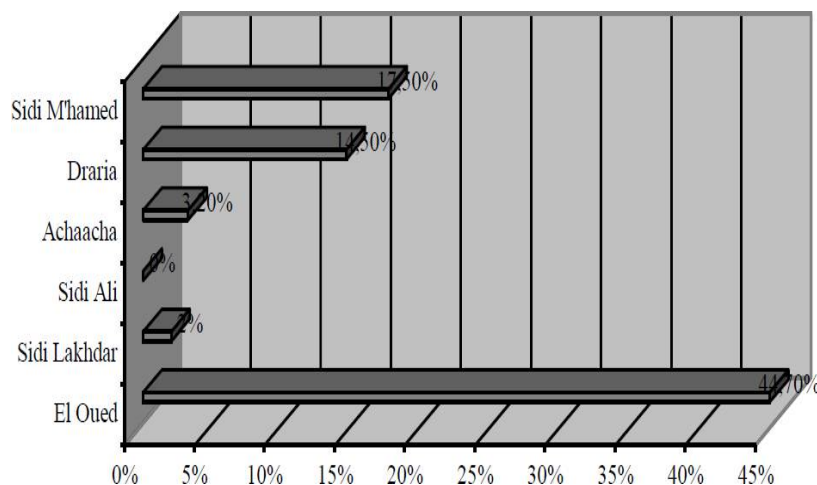


Figure 6: Taux de substitution des antibiotiques en Algérie. [26]

### I.2.4.3. Chez les pharmaciens :

Les taux de marges de vente progressifs avec le prix de vente des médicaments n'incitent guère le pharmacien à délivrer des génériques puisque leurs prix sont inférieurs aux prix des princeps. Donc, il faut penser à d'autres incitations financières qui permettent de combler les pertes des pharmaciens en chiffre d'affaires et augmenter le pourcentage des incitations financières sur la délivrance des génériques déjà mises en place. Il est également question d'assurer un système de distribution plus performant pour une plus large gamme de produits générique sur les rayons du pharmacien couvrant la majorité sinon la totalité des marques génériques de chaque molécule (DCI), ce qui suppose l'indifférence du pharmacien aux remises

de sorte qu'il soit peu sensible aux réductions commerciales obtenues lors d'achats massifs. Ainsi, la condition est liée aux incitations fines



# Chapitre II

## **Chapitre II : Les Aspects de la qualité pharmaceutique des génériques d'Amoxicilline :**

### **II.1. Qualité du médicament générique :**

#### **II.1.1. Définition :**

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.[34]

Selon l'ISO 8402 et l'ISO 9000 (International Organisation for Standardisation) , la qualité est « L'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou service qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins explicites ou implicites d'un client ».[35,36]

La qualité d'un médicament générique fait référence à sa capacité à répondre aux mêmes normes d'innocuité, d'efficacité et de pureté que le médicament princeps sur lequel il est basé. [37]

La démarche qualité pour les médicaments génériques est similaire à celle des médicaments princeps. Les fabricants de médicaments génériques doivent se conformer aux mêmes normes de qualité et de sécurité que les fabricants de médicaments princeps. Cependant, les médicaments génériques doivent également démontrer qu'ils sont bioéquivalents aux médicaments princeps. [38]

#### **II.1.2. Définition du contrôle de la qualité :**

C'est l'ensemble des mesures visant à améliorer la production de lots uniformes de médicaments conformes aux spécifications prescrites d'identité, d'activité, de pureté et autres critères [39–41]

Afin d'obtenir l'autorisation de mise sur le marché (AMM), un médicament générique doit démontrer sa qualité, tout comme tout autre médicament.[42]

Le médicament générique n'est commercialisé que s'il obtient une Autorisation de mise sur le marché (AMM) de la part des autorités de santé : Agence nationale de sécurité du médicament

(ANSM) en France, European Medicines Agency (EMA) pour les AMM européennes. [32,43], et ministère de l'industrie pharmaceutique en Algérie.[44]

L'AMM est fondée sur : l'examen d'un dossier pharmaceutique aussi complet que celui du médicament princeps. Ce dossier démontre la qualité du médicament par rapport aux normes en vigueur tant dans sa composition qualitative et quantitative que pour sa fabrication et son contrôle de qualité.[32,45]

### **II.1.3. Dispositifs de contrôle qualité :**

Les dispositifs de contrôle de qualité prennent plusieurs formes :

#### **II.1.3.1. Evaluation des génériques :**

Par le biais d'une double évaluation des données pharmaceutiques et biopharmaceutiques du dossier d'AMM :

##### **II.1.3.1.1. Evaluation de la qualité du générique :**

Le dossier pharmaceutique du générique est soumis aux mêmes degrés d'exigences et de précisions que celui de la spécialité de référence. Il doit réunir tous les éléments permettant de justifier la qualité du médicament (origine et spécifications des matières premières, méthodes de fabrication et de contrôle du produit fini), la reproductibilité de cette qualité d'un lot à l'autre (validation des méthodes de fabrication et de contrôle) et le maintien de cette qualité au cours du temps (études de stabilité). En outre, il doit justifier la similarité du médicament générique à la spécialité de référence par des études comparatives des compositions, des caractéristiques physico-chimiques, et pharmaco-techniques. Les critères de pureté des matières premières et les méthodes d'analyses à utiliser pour en assurer leur contrôle sont définis par la Pharmacopée sous forme de monographies. [37]

##### **II.1.3.1.2. Evaluation de la sécurité et l'efficacité du générique :**

L'efficacité et la sécurité du principe actif (PA) contenu dans le médicament générique ont déjà été démontrées pour le médicament d'origine. Les dossiers d'AMM des médicaments génériques n'ont donc pas à produire des essais cliniques, mais la preuve de l'efficacité et de la sécurité du générique est apportée dans le dossier biopharmaceutique par : l'évaluation des

études de bioéquivalences, Pour invoquer la similarité essentielle, l'équivalence des propriétés d'efficacité et de sécurité des différents sels, esters, ou dérivés de PA doit être démontrée. Cette évaluation peut être complétée par une inspection. C'est notamment le cas lorsqu'il peut exister des doutes sur la robustesse des données.[37,46]

### **II.1.3.2. Contrôle et inspection des génériques :**

Les garanties sur les médicaments génériques sont exigées non seulement lors de l'octroi de leur AMM mais également au cours de la chaîne de vie de ces produits par les différents types d'inspections.[46,47]

#### **II.1.3.2.1. Inspection des bonnes pratiques cliniques des essais :**

Il s'agit d'un contrôle des conditions de réalisation des études de bioéquivalence. Elles peuvent être demandées lorsque le lieu de la réalisation de l'essai n'est pas connu, lorsque les résultats des essais semblent incohérents ou lorsque la marge thérapeutique du produit concerné est étroite. [5,46]

#### **II.1.3.2.2. Inspection des fabricants et exploitants des médicaments génériques :**

Elle porte sur l'inspection des établissements de production pharmaceutique ainsi que la validation des sites de production et des laboratoires de contrôle. Elle concerne plusieurs éléments : application des bonnes pratiques de fabrication, conditions de libération des lots, conditions de distribution et les audits. [42,47]

#### **II.1.3.2.3. Contrôle des médicaments génériques en laboratoire :**

Plusieurs types de contrôles sont effectués par les laboratoires de contrôle pour vérifier la qualité des médicaments génériques comme les études de stabilité, les tests de dissolution qui permettent notamment de comparer les profils de dissolution des médicaments génériques à libération prolongée par rapport à leur princeps et les contrôles de matières premières par exemple (teneur en principe actif, recherche de substances apparentées, ...). [46]

#### II.1.3.2.4. Inspection approfondie des activités de pharmacovigilance :

Les laboratoires exploitant des médicaments (princeps ou génériques) doivent disposer d'un dispositif de pharmacovigilance en conformité pour la surveillance du risque d'effet indésirable, laquelle comporte en particulier l'identification, l'évaluation et la prévention du risque résultant de l'utilisation des produits à finalité sanitaire à usage humain ». Ainsi, les contrôles de qualité et les inspections sur le médicament princeps s'appliquent également et de la même manière sur le générique et selon les mêmes référentiels. [46,47]



Figure 7: Niveaux d'inspection pour les médicaments (dont les génériques)[47]

#### II.2. Référentiels d'évaluation de la qualité des génériques de l'Amoxicilline:

La mise en place d'un système de qualité est facilitée par l'existence de normes de gestion de la qualité et de l'assurance qualité.

Les référentiels de qualité sont des outils au service des démarches d'amélioration de la qualité ; ils forment un cadre qui détermine, pour une structure, les exigences et objectifs à atteindre. Ces référentiels sont utilisés dans des activités d'évaluation qui permettent à la structure de se situer par rapport à ces exigences et objectifs.[48]

### II.2.1. Pharmacopées :

La pharmacopée est un ouvrage réglementaire destiné aux professionnels de santé. Il constitue une base de données des produits utilisés dans la fabrication des médicaments et des méthodes qui permettent d'en vérifier la conformité et qui définit notamment :

- Les critères de pureté des matières premières ou des préparations entrant dans la fabrication des médicaments.
- Les méthodes d'analyse à utiliser pour en assurer leur contrôle.
- Les formes pharmaceutiques (ou galéniques) avec leurs critères de qualité et les essais à réaliser pour vérifier ces critères de qualité.
- L'ensemble des critères, permettant d'assurer une qualité optimale des matières premières pharmaceutiques ou des formes pharmaceutiques, est regroupé et publié sous forme de monographies spécifiques ou générales. Ces textes font autorité pour toute substance ou forme galénique figurant dans la pharmacopée qui constitue un référentiel scientifique régulièrement mis à jour.

Il existe plusieurs pharmacopées publiées par différents états du monde comme la pharmacopée européenne, américaine, britannique, japonaise, indienne, mais en Algérie on s'appuie sur la pharmacopée européenne et américaine.[49]

#### II.2.1.1. Pharmacopée européenne :

La pharmacopée européenne est élaborée par la Direction Européenne de la Qualité du Médicament et des Soins de Santé, elle a une valeur normative pour les chercheurs et les industriels du secteur pharmaceutique, et devient contraignante pour l'examen des autorisations de mise sur le marché des médicaments.[49–51]

Elle comporte plus de 2000 monographies qui portent sur :

- Les substances actives.
- Les excipients.
- Les réactifs.
- Les récipients.
- Les formes pharmaceutiques.

- Les méthodes de dosage et d'analyse.

Tous les producteurs de médicaments et/ou de substances à usage pharmaceutiques doivent appliquer les normes de qualité stipulées dans la pharmacopée européenne, pour pouvoir commercialiser leurs produits dans les états signataires de la convention.

La pharmacopée Européenne ne comporte pas de monographies relatives au contrôle de qualité des médicaments sous la forme de produit fini.[52]

### **II.2.1.2. Pharmacopée américaine :**

La pharmacopée américaine (USP) est publiée aux États-Unis chaque année par la United States Pharmacopeial Convention (généralement appelée USP), une organisation à but non lucratif qui détient la marque et le droit d'auteur. L'USP est publiée dans un volume combiné avec le formulaire national en tant que USP-NF. Si un ingrédient médicamenteux ou un produit pharmaceutique a une norme de qualité USP applicable (sous la forme d'une monographie USP-NF), il doit être conforme afin d'utiliser la désignation « USP » ou « NF ».

Les médicaments soumis aux normes USP comprennent à la fois des médicaments pour usage humain (matières premières et produits finis), ainsi que des médicaments pour animaux. Les normes USP-NF ont également un rôle dans la loi fédérale américaine ; un médicament ou un ingrédient médicamenteux portant un nom reconnu dans l'USP-NF est réputé adultéré s'il ne satisfait pas aux normes officinales en matière de résistance, de qualité ou de pureté. L'USP établit également des normes pour les compléments alimentaires et les ingrédients alimentaires (dans le cadre du Food Chemicals Codex). USP n'a aucun rôle dans l'application de ses normes ; la mise en application relève de la Food and Drug Administration (FDA) et d'autres autorités gouvernementales des États-Unis.[49,53]

### **IV.1.3. Bonnes pratiques de fabrication :**

Les bonnes pratiques de fabrication (BPF) ou en anglais « good manufacturing practices » (GMP) sont l'ensemble de textes réglementaires qui doivent permettre d'assurer la qualité qui garantit que les médicaments sont fabriqués et contrôlés de façon cohérente et selon les normes de qualité adaptées à leur emploi et requises par l'AMM de ces médicaments.

Elles consistent en une série de prescriptions s'appliquant à toutes les étapes du « cycle d'élaboration » du produit : validation du procédé, formation du personnel, moyens disponibles,

documentation complète et adaptée, relevés systématiques, dossiers de fabrication constitués, distribution maîtrisée, traitement des réclamations et/ou rappel.

Elles sont organisées en deux parties dont la première est dédiée aux médicaments, la deuxième aux principes actifs pharmaceutiques et en 20 lignes directrices (LD).

Elles maîtrisent les cinq éléments essentiels (5M) : milieu, matériel, matière, main d'œuvre, méthode.[54]

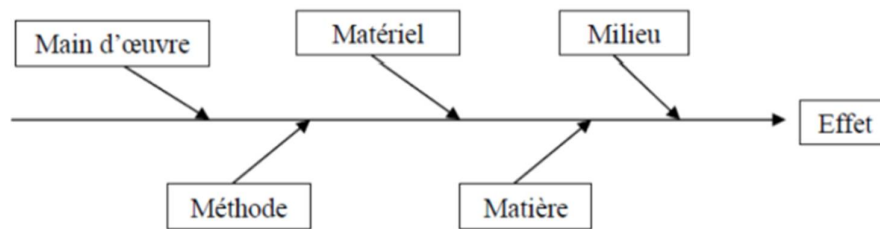


Figure 8: Diagramme des 5M. [54]

### II.3. Qualité physicochimique des génériques de l'Amoxicilline :

Le contrôle physico-chimique sert à vérifier les propriétés physiques et chimiques (Taux de friabilité, acidité/alcalinité, dissolution, dessiccation). Il permet ainsi de vérifier et de s'assurer du bon usage de la substance annoncée (analyses qualitatives, réactions d'identification les plus sélectives possibles).[5]

#### II.3.1. Contrôle de l'étiquetage:

Sur le conditionnement, on s'assure que l'étiquette répond aux normes. En Vérifiant que les indications suivantes figurent sur l'étiquette :

1. Nom du médicament, Nom du principe actif ;
2. Quantité du principe actif présente dans chaque comprimé et nombre de comprimés dans la boîte.
3. Numéro de lot attribué par le fabricant ;
4. Date de péremption et la date de fabrication ;
5. Conditions particulières de conservation ou précautions à prendre lors de la manipulasi
6. Mode d'utilisation, avertissements et précautions d'emploi, le cas échéant ;
7. Nom et adresse du fabricant ou de la personne responsable de la mise sur le marché. [55]

### **II.3.2. Caractères organoleptiques :**

L'analyse organoleptique recouvre toutes les activités de contrôle de paramètres tangibles à l'aide d'organes sensoriels, sans recourir aux appareils de mesure plus ou moins sophistiqués. Le deuxième type d'analyse est utilisé pour évaluer des paramètres intangibles et implique l'utilisation de réactifs et/ou d'appareils de mesure. Ces opérations viennent compléter l'évaluation des propriétés organoleptiques de l'état du produit. [56]

À partir d'un examen visuel, l'aspect et la couleur peuvent être déterminés. En Retirant au moins 20 comprimés de leur conditionnement. Ils ne doivent pas être endommagés.

La surface doit être lisse et généralement de couleur uniforme. Une instabilité physique peut se manifester par les signes suivants :

- Présence de quantité excessive de poudres ou de fragments de comprimés au fond du récipient (provenant de comprimés érodés, écrasés ou brisés) ;
- Fissures, décalottages ou laminage de la surface ou de l'enrobage, gonflement, marbrures, coloration anormale, adhérence entre les comprimés ;
- Présence de cristaux sur les parois. [57]

### **II.3.3. Propriétés pharmaco-techniques :**

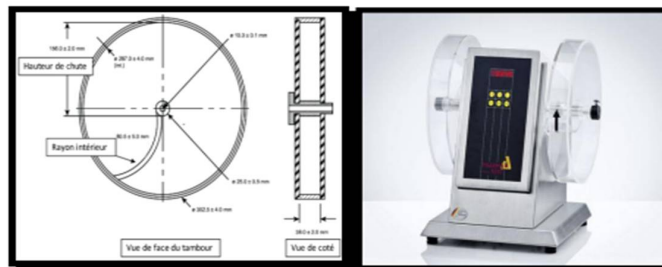
#### **II.3.3.1. Sécabilité :**

Il est réalisé sur les comprimés portant une ou plusieurs barres de cassure qui permettent de satisfaire à la posologie, le test de sécabilité a pour objectif de s'assurer que le patient recevra bien la dose prévue après fractionnement du comprimé. Vérifier sur un certain nombre de comprimés portant des barres de cassure, que leurs fractions sont de masses à peu près égales [51]

### II.3.3.2. Friabilité :

Le test de friabilité permet de vérifier que les comprimés nus présentent une résistance mécanique suffisante, pour éviter toute abrasion ou rupture de leurs surfaces, sous l'effet de toutes les manipulations (chocs mécaniques, frottements, attrition) qu'ils vont subir jusqu'au moment de leur utilisation.[58]

L'effet des frottements et des chutes imposait expérimentalement aux comprimés, est réalisé par un friabilimètre. [59]



**Figure 9** : Un friabilimètre [59]

La friabilité est calculée par l'équation :

$$F = \frac{(Masse\ d'échantillon\ avant\ essai - Masse\ d'échantillon\ après\ essai) \times 100}{Masse\ d'échantillon\ avant\ essai}$$

La Pharmacopée Européenne refusent tout résultat supérieur à 1%. [57]

### II.3.3.3. Dureté :

Cet essai est destiné à déterminer, dans des conditions définies, la résistance des comprimés à la rupture. Cela implique de mesurer la force requise pour écraser les comprimés. La dureté des comprimés est un paramètre qui influence le délitement. [58]



**Figure 10:** : Différentes étapes de réalisation du test de la dureté par un duromètre.[60]

#### II.3.3.4. Désagrégation :

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.

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

Selon la Pharmacopée Européenne, un test de désagrégation doit être effectué à l'aide d'un appareil spécifique.[51,60]



**Figure 11:** Testeur de désagrégation. [59]

### II.3.3.5. Uniformité de masse :

Le test d'uniformité de masse concerne les formes pharmaceutiques solides particulièrement les comprimés et les gélules.

L'essai d'uniformité de masse des comprimés permet de s'assurer que lors de la fabrication, la répartition du mélange initial de poudre ou de granulés, en unités de prises (chaque comprimés), était suffisamment précise et uniforme pour garantir la même masse et donc la même teneur en PA pour tous les comprimés d'un même lot. Cet essai fait partie des méthodes proposées par les pharmacopées pour vérifier l'uniformité des préparations unidoses. [38,51,57]

**Tableau 11:** Exigences du test d'uniformité de masse de la Pharmacopée Européenne. [57]

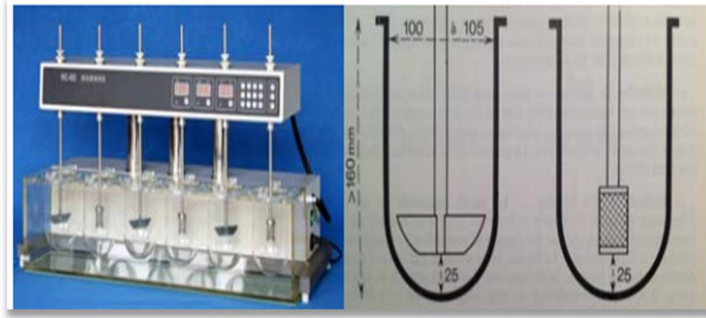
Masse moyenne	Ecart limites	Ecart toléré pour 2 comprimés
≤ 80mg	± 10%	± 20%
Entre 80mg - 250mg	± 7.5%	± 15%
≥ 250mg	± 5%	± 10%

### II.3.3.6. Dissolution :

Selon la Pharmacopée Européenne, le test de dissolution in vitro appliqué aux comprimés/gélules, 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. [60]

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.[58,61]

Il est possible de mesurer la dissolution des comprimés avec un appareil à palette tournante. Une autre méthode consiste à remplacer la palette par un panier de forme cylindrique grillagé contenant le comprimé ou la gélule. Il s'agit de l'appareil à panier tournant. [58]



**Figure 12:** Appareil de dissolution à palette tournante et panier tournant [51]

## II.4. Dosage des principes actifs :

La mesure de la quantité du principe actif (PA) permet de vérifier si la concentration moyenne de celui-ci, sur plusieurs comprimés d'un même lot, est conforme aux limites de concentration indiquées dans les pharmacopées. Cela est nécessaire pour garantir l'efficacité thérapeutique attendue.[59]

Les pharmacopées proposent dans la monographie de l'Amoxicilline, plusieurs méthodes analytiques validées qui permettent de doser ce PA avec spécificité et précision, dont : la Spectrophotométrie d'absorption infrarouge, Chromatographie sur couche mince et l'HPLC. La méthode analytique la plus préconisée par les pharmacopées est l'HPLC. [57,62]

## II.5. Détermination des impuretés :

### II.5.1. Définition :

Une impureté est définie comme tout composant autre que l'entité chimiquement définie comme étant la substance active mais qui n'ont aucune activité biologique indésirable dans les proportions indiquées. Ces impuretés peuvent provenir de la synthèse, de la préparation ou de la dégradation du médicament. [55,63]

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 (ICH Q6).[64]

## II.5.2. Classification des impuretés :

### II.5.2.1. Les impuretés organiques (liées au procédé et au médicament) :

Elles peuvent être connues ou non : matières premières de synthèse, produits secondaires de synthèse, intermédiaires de synthèse, produits de dégradation, réactifs.[63]

### II.5.2.2. Les impuretés inorganiques (liées au procédé de fabrication) :

Elles sont généralement connues et identifiées : ligands, catalyseurs, métaux lourds, sels inorganiques.[63]

### II.5.2.3. Les solvants résiduels :

Ce sont des liquides organiques ou non utilisés comme véhicule dans la préparation de solutions ou de suspensions. On utilise le même matériel et réactifs que pour la détermination de la teneur en principe actif. [55]

**Tableau 12:**Seuils pour les différents types d'impuretés pour PA.[55]

Dose quotidienne maximale	Seuils de déclaration	Seuils de caractérisation	Seuils de qualification
≤ 2 g/jour	0.05 %	0.10 % ou apport de 1.0 mg par jour (la moins élevée des valeurs)	0.10 % ou apport de 1.0 mg par jour (la moins élevée des valeurs)
>2 g/jour	0.03 %	0.05 %	0.05 %

### II.5.3. Sources des impuretés dans les produits médicamenteux :

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.
- 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.

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.[63]

### II.5.4. Méthodes de détection des impuretés :

- Chromatographie sur colonne ;
- Chromatographie en phase gazeuse ;
- Chromatographie sur couche mince ;
- Chromatographie ionique ;
- Électrophorèse capillaire (CE) ;
- Spectrométrie de masse (SM) ;
- Chromatographie liquide à haute performance : la méthode utilisée pour la caractérisation des impuretés de l'Amoxicilline.[55,62]

## **II.6. Stabilité des génériques d'Amoxicilline :**

### **II.6.1. Définition de la stabilité :**

Selon la Conférence Internationale de l'harmonisation (ICH) la stabilité est « l'aptitude d'un médicament à conserver ses propriétés chimiques, physiques, microbiologiques et dans des limites spécifiées pendant toute sa durée de validité ». [65]

### **II.6.2. Objectifs de l'étude de stabilité :**

Les essais de stabilité ont pour but de fournir des données probantes sur la façon dont la qualité d'un PA ou d'un produit médicamenteux varie en fonction du temps sous l'effet de divers facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité et la lumière, permettant ainsi de définir les conditions de conservation et de déterminer la durée de validité des produits.[66]

### **II.6.3. Facteurs influençant la stabilité :**

La stabilité dépend, d'une part, de facteurs environnementaux (température, humidité relative et la lumière), d'autre part, de facteurs liés au produit comme les propriétés physico-chimiques du principe actif et des excipients, du procédé de fabrication, de la nature et des propriétés des matériaux de conditionnement. Un médicament est considéré comme stable lorsque ses propriétés essentielles ne changent pas, ou bien changent dans des proportions tolérables jusqu'à sa date de péremption.[66,67]

Un médicament devient instable dans les cas suivants :

- Perte en PA > 5%.
- Produits de dégradation > limites spécifiées.
- Changement des caractères organoleptiques.
- Changement du pH.
- Test de dissolution non conforme.
- Altération de la qualité microbiologique. [68]

## II.6.4. Types d'études de stabilité :

### II.6.4.1. Etude de stress :

Réalisés en phase de développement sur le PA seul et sur les formules provisoires. Elles sont dites « drastiques » ou « études de dégradation forcée ». Les conditions de réalisation sont:

- ✓ **Temperature:** (50°, 60, 70° ...).
- ✓ **Humidité relative:** > 75%.
- ✓ **Milieu oxydant** (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, air atmosphérique, O<sub>2</sub>).
- ✓ **Lumière** : rayonnement UV et visible en absence ou en présence d'air ou d'oxygène.
- ✓ **pH** : soit en milieu acide (HCl 0,1N), soit en milieu basique (NaOH 0,1N) à chaud ou à froid. [69]

### II.6.4.2. Etude en temps accéléré :

Etudes durant lesquelles le produit subit des conditions « difficiles » par rapport aux conditions habituelles de stockage. Ces conditions permettent de :

- ✓ Accélérer la vitesse de dégradation chimique ou de changements physiques d'un produit.
- ✓ Réduire la durée des études de stabilité permettant un gain de temps et d'argent.

Ces études accélérées sont exigées par la réglementation mais doivent être complétées par un troisième type d'études (en temps réel) pour confirmer la stabilité du produit.[70]

### II.6.4.3. Etudes en temps réel :

Réalisés dans des conditions climatiques identiques aux conditions climatiques du pays de commercialisation. Le but est de confirmer la durée de validité prédite ou la prolonger. [70]

## II.6.5. Etude de la stabilité de l'Amoxicilline :

Elle nécessite de :

- Définir les attributs critiques de qualité (ACQ) pertinents et
- De mettre en place des outils analytiques appropriés pour le suivi de ces ACQ.

Les choix techniques des modalités d'utilisation de l'outil peuvent impacter la qualité des résultats de l'étude. Cet outil et ces choix techniques doivent être présentés et discutés.

L'Attribut Critique de Qualité (ACQ) pertinent pour suivre la stabilité de cette préparation est la teneur en amoxicilline ainsi que de ses produits de dégradation. L'outil analytique approprié pour ce suivi est la Chromatographie Liquide Haute Performance avec détection UV. Cette technique permet la quantification de l'amoxicilline ainsi que la détection de ses produits de dégradation. Elle doit être indicatrice de stabilité. [71]

## **II.7. Contrôle de la qualité microbiologique :**

Les contrôles microbiologiques visent à assurer à la fois la qualité hygiénique et commerciale du produit fabriqué et à réduire les pertes résultant de mauvaises conditions de fabrication.

### **II.7.1. Méthode de la pharmacopée européenne :**

Les essais décrits permettent le dénombrement des bactéries mésophiles et des moisissures et levures capables de croître en aérobiose.

Ces essais sont en premier lieu destinés à déterminer si un produit faisant l'objet d'une monographie de la Pharmacopée satisfait aux exigences microbiologiques spécifiées dans cette monographie ; il convient dans ce cas de suivre les indications données, notamment celles relatives au nombre d'échantillons à prélever et à l'interprétation des résultats.

Ils peuvent par ailleurs servir à surveiller la qualité des matières premières, et être utilisés en conjonction avec le guide sur la qualité microbiologique. Dans de tels cas, par exemple lorsqu'ils sont utilisés par un fabricant pour le suivi des matières premières et/ou d'un produit fini ou pour la validation d'un procédé, les modalités de réalisation des essais (notamment le nombre d'échantillons à prélever et le mode d'interprétation des résultats) sont fixées par accord mutuel avec le fabricant et soumises à l'accord de l'Autorité compétente.

Le dénombrement doit être réalisé dans des conditions permettant d'éviter tout risque de contamination accidentelle du produit à examiner. Les précautions prises pour éviter la contamination ne doivent pas affecter les micro-organismes susceptibles d'être mis en évidence. Si le produit à examiner possède une activité antimicrobienne, celle-ci doit être convenablement neutralisée. Si des inactivateurs de l'activité antimicrobienne sont utilisés à cet effet, leur efficacité et leur non toxicité à l'égard des micro-organismes considérés sont démontrés.

Le dénombrement des germes aérobies viables totaux est réalisé par la méthode de filtration sur membrane ou par dénombrement sur plaque, comme prescrit dans la monographie. La méthode dite du nombre le plus probable est à réserver aux dénombrements bactériens ne pouvant être réalisés par l'une des autres méthodes.

Le choix de la méthode est déterminé par des facteurs tels que la nature du produit et le nombre de micro-organismes présumé. Quelle que soit la méthode choisie, elle doit être convenablement validée, il peut être effectué soit par dénombrement sur plaque (ensemencement en profondeur ou étalement en surface) soit par filtration sur membrane. La présence de certains micro-organismes dans des préparations non stériles peut réduire ou encore annuler l'activité thérapeutique du produit, et constitue un danger potentiel pour la santé du patient, pour cela la pharmacopée précise que lors de fabrication, du conditionnement, de la conservation et de la distribution des préparations pharmaceutiques, des mesures appropriées doivent être prises pour assurer une faible charge microbienne dans les formes pharmaceutiques finies.[57,72]

## **II.7.2. Méthodes alternatives pour le contrôle de la qualité microbiologique :**

Au cours des dernières années sont apparues des méthodes alternatives de contrôle de la qualité microbiologique, dont certaines se sont avérées capables de livrer des résultats en temps réel (ou quasi réel), ouvrant la possibilité d'une action corrective plus précoce. Ces nouvelles méthodes apportent également une amélioration significative de la qualité des contrôles. [38,72]

### **II.7.2.1. Essais qualitatifs de présence / absence de micro-organismes :**

En analyse microbiologique conventionnelle, les essais de ce type utilisent typiquement le développement, dans un milieu de culture, d'une turbidité ou autre modification liée à la croissance comme preuve de la présence de micro-organismes viables dans l'échantillon examiné. L'exemple le plus courant est l'essai de stérilité. Les essais visant à établir la présence/absence dans un échantillon de micro-organismes viables d'un type particulier constituent d'autres exemples.[72]

### **II.7.2.2. Essais quantitatifs de dénombrement de micro-organismes :**

La filtration sur membrane et le dénombrement sur plaque sont les méthodes conventionnelles utilisées pour estimer le nombre de microorganismes viables présents dans un échantillon. La méthode dite du nombre le plus probable (NPP) constitue un autre exemple de ce type de méthodes. Elle a été développée comme outil d'estimation du nombre de microorganismes viables présents dans un échantillon lorsque celui-ci ne se prête pas à un dénombrement direct sur plaque.[72]

### **II.7.2.3. Essais d'identification :**

La caractérisation biochimique et morphologique d'un microorganisme inconnu est la méthode classique d'identification utilisée dans les essais de la pharmacopée. Des méthodes récemment développées ont permis de rationaliser et d'automatiser certains aspects de cette identification, notamment pour ce qui concerne le traitement l'analyse et le stockage des données. Plusieurs approches nouvelles ont été intégrées à ces méthodes, dont certaines réactions biochimiques, l'utilisation de substrats carbonés, la caractérisation de la composition en acides gras, le profilage à l'aide d'endonucléases de restriction et le séquençage de l'ADNr 16S. [72,73]



# Chapitre III

## **Chapitre III : Les aspects de la qualité pharmacocinétique et pharmacodynamique des génériques de l'Amoxicilline :**

### **III.1. Qualité pharmacocinétique des génériques de l'Amoxicilline :**

#### **III.1.1. Classification des génériques d'Amoxicilline selon le système de classification biopharmaceutique (BCS) :**

##### **III.1.1.1. Définition du système BCS :**

Créé par la FDA, le BCS est un cadre systématique pour la catégorisation des substances médicamenteuses en fonction de leur solubilité aqueuse, et de leur perméabilité intestinale. C'est l'un des outils de pronostic les plus efficaces facilitant le développement [74,75]

Une fois qu'il a été uni à la dissolution de la forme posologique, le BCS tient compte de trois facteurs principaux qui régissent le taux et l'étendue de l'absorption de drogues par les formes posologiques orales solides.[76,77]

Selon le BCS, les médicaments peuvent être classés dans quatre groupes, sur les bases de leur solubilité et de leur perméabilité. Cette approche vise à réduire les études inutiles de bioéquivalence in vivo, mais se limite aux substances médicamenteuses non critiques en termes de solubilité, de perméabilité et de portée thérapeutique, et à des formes pharmaceutiques non critiques. [76,78]

##### **III.1.1.1.1. Solubilité :**

C'est le premier paramètre de la classification BCS. On classe les molécules en fonction de la solubilité de la dose la plus élevée (prévue pour administration) dans 250 ml ou moins du milieu adéquat, dans une gamme de pH allant de 1 à 7,5 à 37°C, sans aucune émergence de problème de stabilité. Le volume de 250 ml provient des protocoles typiques des études de bioéquivalence qui préconisent l'administration du composé pharmaceutique aux volontaires sains à jeun avec un verre d'eau. [74, 75,79]

### **III.1.1.1.2. Perméabilité :**

C'est le second paramètre de la classification BCS. On classe les molécules en fonction de l'ampleur de l'absorption (fraction de dose absorbée et non biodisponibilité systémique) d'une substance pharmaceutique chez l'homme et directement sur des mesures du taux de transfert de masse à travers la membrane intestinale humaine. Alternativement, des systèmes non humains capables de prévoir l'ampleur de l'absorption du composé chez l'homme peuvent être employés (par exemple, des méthodes de culture de cellules épithéliales in vitro). En l'absence de preuve suggérant l'instabilité dans l'appareil gastro-intestinal, un composé est considéré comme fortement perméable quand l'ampleur de l'absorption chez l'homme est égale à 85% ou plus d'une dose administrée. Cette mesure est basée sur une détermination d'équilibre de masse ou par rapport à une dose intraveineuse de référence.[74,75]

### **III.1.1.2. Les classes de BCS :**

Selon le BCS, les substances médicamenteuses sont classées dans quatre classes comme indiqué au tableau 13 :

#### **III.1.1.2. 1. Les drogues de classe I :**

Ils présentent un taux d'absorption élevé et un pourcentage de dissolution élevé. L'étape limite de vitesse est la dissolution des médicaments et si la dissolution est très rapide, le taux de vidange gastrique devient le taux déterminant. Taux d'absorption est plus élevé que le taux d'excrétion. Par exemple Metoprolol, Diltiazem, Vérapamil, Propranolol. [80]

#### **III.1.1.2.2. Les drogues de classe II :**

Ils ont un taux d'absorption élevé, mais un numéro de dissolution faible. La dissolution de la drogue in vivo est alors une étape limitante pour l'absorption, sauf à un nombre très élevé de doses. L'absorption pour les médicaments de classe II est habituellement plus lente que la classe I et se produit sur une période plus longue. La corrélation in vivo/in vitro est habituellement exclue pour les drogues de classe I et II. Par exemple Phénytoïne, Danazol, Ketoconazole, acide méfenamique, Nifédipine.[75]

### III.1.1.2.3. Les drogues de la classe III :

Ils présentent une solubilité élevée mais une faible perméabilité. Cette dernière constitue une étape limitante pour l'absorption de drogues. Ces médicaments présentent une forte variation du taux et de l'étendue de l'absorption de drogues. Comme la dissolution est rapide, la variation est attribuable à l'altération de la physiologie et de la perméabilité des membranes plutôt qu'aux facteurs posologiques. Par exemple : Acyclovir, Néomycine B, Captopril. [80]

### III.1.1.2.4. Les drogues de classe IV :

Avec une faible solubilité et une faible perméabilité, ils présentent beaucoup de problèmes pour une administration orale efficace. Heureusement, des exemples extrêmes de composés de classe IV sont l'exception plutôt que la règle et sont rarement développés et atteignent le marché. Néanmoins, un certain nombre de drogues de classe IV existent. p. ex. Taxol, Griseofulvin.[76,81]

**Tableau 13:** Membres de la classe BCS de médicaments modèles sélectionnés.[82]

	Haute solubilité	Faible solubilité
<b>Faible perméabilité</b>	<b>Class II :</b> Haute solubilité/Faible Perméabilité Par exemple : Amiodarone, Atorvastatine, azithromycine.	<b>Classe IV :</b> Faible solubilité/Faible perméabilité Par exemple : Amphotéricine B, Colistin, Ciprofloxacine.
<b>Perméabilité élevée</b>	<b>Classe I :</b> Haute solubilité élevée Par exemple : Buspirone, chlorphéniramine.	<b>Classe III :</b> Faible solubilité/Haute perméabilité. Par exemple : Acyclovir, amoxicilline faible perméabilité.

### III.1.1.3. But de l'orientation BCS :

- Prédire le rendement in vivo des produits médicamenteux à partir de mesures in vitro de la perméabilité et la solubilité.
- Fournir un outil réglementaire pour remplacer certaines études de bioéquivalence par des tests de dissolution in vitro précis. Cela réduira le coût du processus de mise au point des médicaments.
- Fournir des conseils à l'industrie.[77,82]

#### III.1.1.4. Classification des génériques d'Amoxicilline selon le système BCS:

La documentation et les données expérimentales pertinentes à la renonciation à la bioéquivalence *in vivo* (BE) pour l'approbation des formes posologiques orales solides à libération immédiate (LI) contenant du trihydrate d'amoxicilline sont examinés.

Selon le Système de classification biopharmaceutique (BCS), les études de solubilité et de perméabilité indiquent que les amoxicillines de doses jusqu'à concurrence de 875 mg montrent les caractéristiques de la classe I de BCS, alors qu'une dose de 1000 mg indique les caractéristiques de la classe II de BCS et les doses supérieures à 1000 mg Classe IV de BCS. [83] Ces différentes classes de BCS, sur la vaste gamme de dosage d'amoxicilline, sont proposées après avoir examiné les différents résultats de solubilité et de perméabilité présentés à différentes doses thérapeutiques utilisées. [61]

Dans sa directive biowaiver 2006, l'OMS a également classé des doses de 250 et 500 mg d'amoxicilline trihydrate comme classe BCS I. Pour les pays où une gamme plus large de forces/doses posologiques est disponible, il convient également de tenir, compte des doses thérapeutiques communes et des indications communes pour lesquelles le médicament est utilisé lors des délibérations de biowaiver. Le risque de résistance à des doses sous-thérapeutiques semble faible en l'absence d'importants écarts dans la teneur en médicaments de la force nominale compte tenu de tous ces facteurs, la renonciation aux exigences en équivalence *in vivo* équivalence thérapeutique et interchangeabilité des produits pharmaceutiques multi sources contenant l'amoxicilline tri hydratée peut-être scientifiquement justifiée pour les produits répondant à toutes les conditions :

- L'exemption s'applique uniquement aux produits oraux solides contenant amoxicilline trihydratée comme seule API pour les doses à 875 mg.
- L'étude biowaiver devrait être effectuée sous l'égide de l'OMS, des États-Unis ou de l'EMA. Les conditions à l'aide de l'innovateur comme référence, et les résultats de la biowaiver doivent se réunir dissolvant rapidement "ou" dissolvant aussi rapidement des critères de dose jusqu'à y compris 875 mg. Levée des essais de bioéquivalence *in vivo* pour les changements majeurs et mineurs d'homologation post approbation et les nouveaux produits

génériques peuvent être justifiés sous réserve de ces conditions, en utilisant les éléments de preuve présentée dans monographie comme guide.

Les produits non conformes à ces exigences doivent être testés en utilisant des études de bioéquivalence in vivo.[61,83,84]

### **III.1.2. Equivalence pharmaceutique et l'équivalence thérapeutique :**

#### **III.1.2.1. Equivalence pharmaceutique :**

Le produit test et le produit de référence sont dits équivalents pharmaceutiques, lorsqu'ils contiennent la même quantité du ou des même(s) substance(s) active(s) sous la même forme et pour la même voie.[85,86]

Selon la FDA, des équivalents pharmaceutiques sont des produits qui renferment des quantités égales du même principe actif, le même sel ou ester de la même entité thérapeutique, sous des présentations semblables. Mais, ils ne sont pas obligatoirement constitués des mêmes éléments inactifs et présentent des propriétés similaires d'identité, de concentration, de qualité, de pureté, d'efficacité et, si besoin, d'uniformité du contenu, du temps de désintégration et/ou de vitesse de dissolution. [87]

Alors que des formes pharmaceutiques sont jugées comme des alternatives si elles comprennent la même entité thérapeutique mais différent dans la forme chimique de cette entité (sels, esters), la présentation ou le dosage.[86]

#### **III.1.2.2. Equivalence thérapeutique :**

Deux médicaments sont thérapeutiquement équivalents s'ils sont pharmaceutiquement équivalents et si les résultats d'études appropriées, selon les conditions requises (études de bioéquivalence, études pharmacodynamiques, cliniques ou in vitro) montrent qu'après administration de la même dose, leurs effets, tant en ce qui concerne l'efficacité que la sécurité, seront essentiellement les mêmes.[88]

Toutefois, l'équivalence pharmaceutique n'implique pas nécessairement l'équivalence thérapeutique, car des différences dans les excipients et/ou dans le procédé de fabrication peuvent entraîner des différences de comportement du produit. [86]

### **III.1.3. Bioéquivalence in vivo des génériques d'amoxicilline :**

#### **III.1.3.1. Biodisponibilité et la bioéquivalence :**

##### **III.1.3.1.1. Définition de la biodisponibilité :**

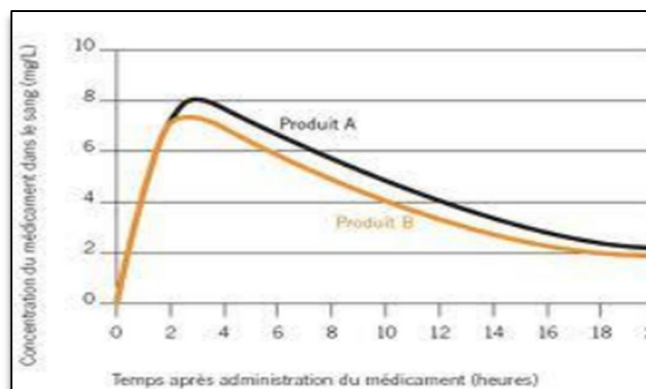
C'est un paramètre pharmaceutique caractéristique d'une forme pharmaceutique, elle représente :

- ✓ La fraction du PA administré qui atteint la circulation générale : ceci consiste à mesurer l'aire sous courbe AUC (Area Under the Curve).
- ✓ Et à la vitesse à laquelle se déroule ce phénomène en mesurant la Cmax et Tmax.[89]

Donc ; on entend par biodisponibilité « la vitesse et l'intensité de l'absorption dans l'organisme, à partir d'une forme pharmaceutique, du principe actif ou de sa fraction thérapeutique destiné à devenir disponible au niveau des sites d'action ». [85]

##### **III.1.3.1.2. Définition de la bioéquivalence :**

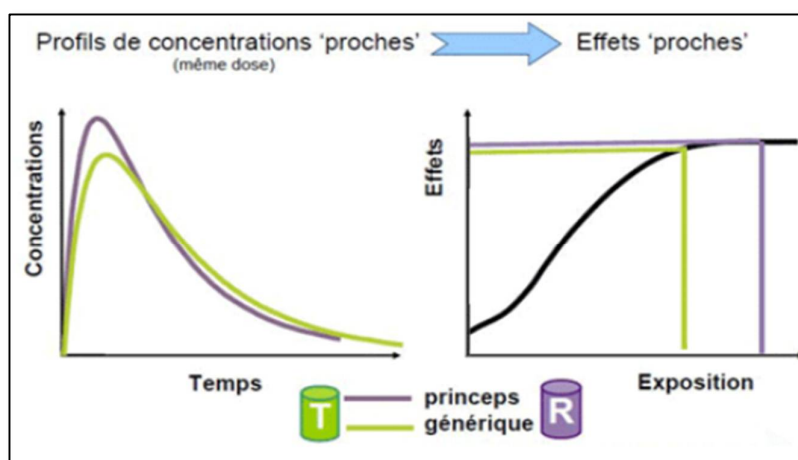
C'est l'absence d'une différence significative de la biodisponibilité d'un PA d'une forme pharmaceutique équivalente administrée à la même dose dans des conditions similaires au cours d'une étude appropriée. Dans ce cas, les deux médicaments -générique et son princeps- sont absorbés dans la circulation sanguine à la même vitesse et dans la même proportion, les courbes de variation de leurs concentrations plasmatiques en fonction du temps sont superposables. [37,90,91]



**Figure 13:** Variations des concentrations sanguines de principe actif en fonction de temps après administration d'un médicament de référence et d'un médicament générique. [90]

Selon les recommandations ICH (International Conference on Harmonization), la bioéquivalence se rapporte indirectement à la notion d'efficacité.[85]

Si la bioéquivalence est démontrée, l'exposition à la substance active sera identique entre le médicament générique et le médicament d'origine. Or, si l'exposition est équivalente, cela veut dire que l'efficacité du médicament générique (l'effet pharmacodynamique) sera identique à celle du médicament d'origine.[92]



**Figure 14:** Concept de la bioéquivalence [37]

### **III.1.3.2. Recommandations d'obligation et de dispense d'études d'équivalence selon l'OMS :**

#### **III.1.3.2.1. Critères de dispense :**

Les médicaments auxquels ces recommandations s'adressent principalement sont ceux destinés à être administrés par voie parentérale (telles que IV, IM, SC) en solution aqueuse, les médicaments en solution pour administration par voie orale, les médicaments en poudre destinés à être reconstitués en solution, les gaz médicaux ainsi que les médicaments à usage auriculaire, ophtalmique, topique, et les produits pour inhalation et pulvérisation.

Les comprimés et les capsules sont les plus sujets à discussion ou interprétation. Cependant, les textes laissent envisager que l'équivalence peut être démontrée dans certains cas par une épreuve de dissolution in vitro. Cette possibilité peut concerner :

- Les médicaments dont la cinétique de dissolution est très rapide,
- Les médicaments à action systémique dont les études ont montré que la pharmacocinétique était linéaire sur toute la plage thérapeutique.
- Les médicaments de différents dosages d'une même formulation produite par le même fabricant lorsque :
  - La composition qualitative des différents dosages est essentiellement la même,
  - Le rapport entre principe actif et excipient est essentiellement le même pour tous les dosages,
  - Une étude de bioéquivalence a été effectuée sur au moins un des dosages.[85,93]

#### **III.1.3.2.2. Critères d'obligation :**

Il est recommandé aux autorités d'homologation d'exiger une preuve d'équivalence, consistant à comparer le produit faisant l'objet de la demande au médicament de référence. Cette recommandation concerne plus particulièrement :

- Les produits à libération immédiate administrés par voie orale dotés d'une action systémique, lorsqu'un ou plusieurs des critères suivants s'appliquent :
  - Médicaments indiqués pour un état grave nécessitant une efficacité thérapeutique garantie,

- Plage thérapeutique étroite,
  - Pharmacocinétique compliquée par une absorption incomplète, une élimination ou un métabolisme élevé lors du premier passage,
  - Propriétés physicochimiques défavorables,
  - Problèmes de biodisponibilité connus,
  - Proportion élevée des excipients par rapport au principe actif ;
- Les produits à action systémique destinés à être administrés par une autre voie que la voie orale ;
- Les produits à libération modifiée ;
- Les associations en proportions fixes ayant une action systémique ;
- Les produits à action non systémique ne se présentant pas sous forme de solution. Pour ce type de produit, le concept de bioéquivalence ne convient pas. L'équivalence doit être démontrée par des études cliniques ou pharmacodynamiques comparatives.

L'objectif de ces recommandations de l'OMS est d'établir les limites à ne pas dépasser en matière d'études de bioéquivalence.[85,93]

### III.1.3.3. Démonstration de l'équivalence

Pour que des médicaments génériques pharmaceutiquement équivalents puissent être considérés comme interchangeables, il faut prouver qu'ils sont équivalents du point de vue thérapeutique. Différentes méthodes sont utilisées à cette fin, notamment :

- Des études de biodisponibilité comparatives entre princeps et générique chez l'homme (le nombre d'effectif minimal admis est 12 individus, voire 24 individus). Elles consistent à doser le principe actif ou un ou plusieurs de ses métabolites dans un liquide biologique accessible, comme le sang ou l'urine.
- Des études de dissolution in vitro comparatives entre générique et princeps et ce en suivant le protocole recommandé par l'OMS.
- Une corrélation entre les études de biodisponibilité (in vivo) et les études de dissolution (in vitro). [88, 94,95]

### III.1.3.3.1. Etudes de biodisponibilité comparative chez l'homme :

De telles études de bioéquivalence sont réalisées le plus souvent chez des sujets volontaires sains (dont le nombre à inclure doit être préalablement déterminé et suffisant pour permettre une conclusion statistiquement valide), afin de s'affranchir de tous les facteurs de variabilité autres que ceux liés à la forme galénique (pathologies, interactions médicamenteuses,...etc.), et de démontrer que la performance biopharmaceutique du médicament générique est identique à celle du médicament de référence. Les études sont réalisées de sorte que chaque sujet reçoit les deux formulations avec une période de latence entre les deux administrations. Après administration du médicament testé, le sujet subit plusieurs prélèvements sanguins (ou urinaires selon les caractéristiques pharmacocinétiques du principe actif) pendant une période variant de quelques heures jusqu'à 72 heures (selon la demi-vie connue du principe actif) afin de mesurer, par une méthode de dosage du principe actif validée (limite de détection, spécificité, sensibilité...), et décrire la courbe de cinétique d'évolution du principe actif en fonction du temps dans le plasma ou urine humaine. [5,96]

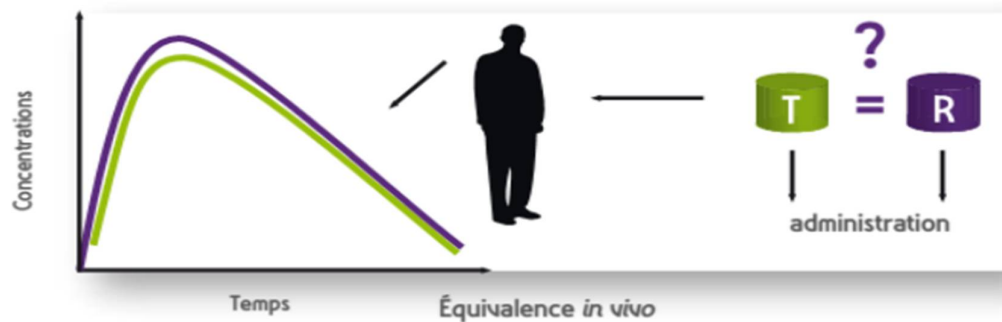


Figure 15: Démonstration de biodisponibilité comparative chez l'homme. [97]

### III.1.3.3.2. Etudes de dissolution in vitro :

La qualité des composants, leur provenance, leur origine et leur mode de fabrication peuvent avoir une influence non négligeable sur les paramètres essentiels de la biodisponibilité et sur la vitesse de dissolution. C'est pourquoi, aux vues de toutes ces contraintes, il est intéressant de travailler sur les cinétiques de dissolution afin, d'évaluer la qualité biopharmaceutique du médicament générique. [75]

### **III.1.3.4. Etudes de bioéquivalence des génériques d'amoxicilline réalisées en Algérie :**

Une première étude dirigée par le service de bioéquivalence du LNCPP, a concerné deux médicaments (générique et princeps), de l'amoxicilline gélules à 500 mg (antibiotique) durant la période allant de juin à fin juillet 2008. Ce travail de longue haleine a été testé sur 12 volontaires sains, âgés entre 25 et 45 ans faisant partie du personnel même du LNCPP, qui ont subi les examens cliniques et biologiques nécessaires. Le premier groupe de volontaires a reçu le médicament de référence et le deuxième le médicament générique. La phase clinique s'est déroulée en deux temps et s'est étalée du 18 au 26 juin ; la phase bio analytique a été réalisée en juillet. L'analyse des résultats a eu lieu à la fin du mois de juillet 2008. Le travail a été effectué, d'après l'équipe du laboratoire, selon les normes requises. L'analyse des données a été concluante dans la mesure où il ressort que les deux médicaments testés sont bioéquivalents. Cette étude a été menée en conformité avec la réglementation algérienne en vigueur régissant les essais cliniques. Le protocole clinique a été approuvé par les investigateurs cliniciens et le comité d'éthique. [98]

### **III.1.4. Bioéquivalence in vitro des génériques d'amoxicilline : La cinétique de dissolution :**

#### **III.1.4.1. Cinétique de dissolution :**

L'essai de dissolution est l'un des tests in vitro habituellement utilisés pour évaluer la qualité des formes pharmaceutiques solides, comme les comprimés et les capsules. [61]

Cliniquement, l'insuffisance de la quantité du principe actif libérée et dissoute pourrait entraîner des problèmes pharmacocinétiques chez les patients tels que la réduction et le retard de l'absorption du principe actif et pourrait modifier l'efficacité thérapeutique. [99]

La cinétique de dissolution est la mesure du taux de dissolution d'un principe actif en fonction du temps dans un milieu donné à partir d'une forme galénique. [100]

La cinétique de dissolution est importante dans la détermination de la biodisponibilité d'un médicament, ou renoncer à une étude de bioéquivalence entre un générique et un médicament de référence.[76]

Lorsque le test de dissolution est utilisé comme test de contrôle de qualité pour les produits à libération immédiate, il est généralement réalisé en un seul point (un seul point de prélèvement) et est représenté sous forme de " X% " dissous en "Y" minutes. Par contre, lorsqu'il est utilisé pour étudier l'équivalence in vitro de deux spécialités pharmaceutiques, plusieurs prélèvements sont réalisés à intervalles de temps prédéterminés. L'ensemble des points prélevés représente alors un "profil de dissolution". Il s'agit donc, d'estimer la cinétique de libération du PA à partir de sa forme (test) et la comparer avec celle du produit de référence dans des conditions opératoires bien déterminées.[78]

Toutes les méthodes pour prouver la similarité de deux profils de dissolution in vitro acceptées, à condition qu'elles soient expliquées et justifiées.

- L'une des méthodes peuvent être utilisée, et approuvée par la FDA est le calcul des facteurs de similarité et de différence.
- Un facteur de différence compris entre 0 et 15, et un facteur de similarité compris entre 50 et 100 témoignent de l'équivalence des deux profils comparés.

Si plus de 85% du PA sont dissous en moins de 15 min, les profils de dissolution sont considérés comme équivalents sans évaluation mathématique supplémentaire. [53,90]

Pour que le profil de dissolution in vitro du générique et du médicament de référence soit considéré comme équivalent, il faut que cette similarité soit justifiée par un test discriminant, dans trois tampons (entre pH 1 et 8), et couvrant au moins trois temps de prélèvements. S'il s'avère que le PA est insensible aux variations de pH, seuls les profils de dissolution dans deux tampons sont comparés. [90,101]

#### **III.1.4.2. Méthode de comparaison des profils de dissolution in vitro :**

Plusieurs organismes de réglementation tels que les pharmacopées, les directives de la FDA, etc. ont publié des directives concernant la dissolution, qui fournissent des informations et des recommandations sur le développement et la validation de la méthodologie des tests de dissolution.[90]

Parmi les méthodes de comparaison des profils de dissolution on peut citer :

#### **III.1.4.2.1. Approches statistiques (méthode basée sur l'analyse des variances) ANOVA :**

Les approches statistiques sont basées sur l'analyse de la variance, qui évolue l'hypothèse que les 2 profils sont statistiquement semblables. Dans ce modèle les pourcentages dissous sont une variable dépendante et le temps est un facteur répété. Les sources de variations sont le temps, le produit et les interactions temps-médicaments.[102]

#### **III.1.4.2.2. Méthode modèle dépendant :**

Elle est utilisée principalement pour la clarification des mécanismes de dissolution ou de la libération des différentes conditions expérimentales. Cette méthode peut être appliquée aux profils de dissolution obtenus avec des programmes de dissolution à échantillonnage non identique. [103]

#### **III.1.4.2.3. Méthode modèle indépendant**

Adoptée par la FDA et l'EMA, la méthode « modèle indépendant » constitue la méthode la plus utilisée pour la mise en évidence de la similarité entre deux profils de dissolution in vitro. Dite aussi méthode de (Fit Factor), elle nécessite des points de prélèvement identiques pour le calcul de deux facteurs à partir des données brutes individuelles des deux profils. Ces deux facteurs (facteur de différence  $f_1$  et le facteur de similarité  $f_2$ ) ont été adoptées par les organismes de réglementation, et ont été inclus dans les lignes directrices pour le contrôle qualité des essais de dissolution.

Le facteur de différence  $f_1$  mesure l'erreur relative en pourcentage entre les deux courbes de dissolution à chaque instant et est donnée par l'équation suivante :

$$f_1 = 100 \frac{\sum_{i=1}^m |R_i - T_i|}{\sum_{i=1}^m R_i}$$

m : nombre de points dans le temps  
 Ri : le pourcentage dissous de la référence au temps i.  
 Ti : le pourcentage dissous de la forme d'essai au temps i.

Le facteur de similarité  $f_2$  constitue l'approche la plus commune pour la comparaison des profils de dissolution. Les conditions préalables pour utiliser le test  $f_2$  sont les suivantes :

- Profils de dissolution des deux produits avec 12 unités par produit doivent être comparés.
- Les taux de dissolution moyens à chaque intervalle de temps sont à utiliser pour le calcul du facteur de similarité.
- Le test de dissolution des formes de référence et un test qui devrait être exactement menée dans les mêmes conditions avec les mêmes intervalles de temps d'échantillonnage. - Un minimum de trois intervalles de temps devrait être inclus dans l'analyse.
- Le point 0 est exclu. - Une seule mesure doit être envisagée après 85% de dissolution des deux produits.
- Pour utiliser des données moyennes, le coefficient de variation :
  - ✓ Au premier point dans le temps ne devrait pas excéder 20 % ;
  - ✓ Aux autres points dans le temps, ne pas excéder 10 %. Le facteur  $f_2$  assure la similitude du pourcentage dissous entre les 2 courbes, il est calculé par l'algorithme suivant:

$$f_2 = 50 \log \left\{ 100 \left[ 1 + \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m (R_i - T_i)^2 \right]^{-0.5} \right\}$$

m : nombre de points dans le temps  
 Ri : le pourcentage dissous de la référence au temps i.  
 Ti : le pourcentage dissous de la forme d'essai au temps i.

La fourchette acceptée :  $f_1 < 15$        $f_2$  [50-100]

L'utilisation de ces facteurs est recommandée par la FDA pour la comparaison des profils de dissolution. Si les données propres aux produits à l'essai et aux produits de référence

montrent une dissolution de plus de 85 % en 15 minutes, les profils sont considérés similaires (aucun calcul n'est nécessaire) [104–106]

### **III.1.4.3. Critères d'acceptation :**

#### **III.1.4.3.1. Pour les médicaments BCS classe 1 :**

La dissolution in vitro du produit testé et du produit de référence, dans les conditions définies, doit être soit :

- Très rapide (dissolution > 85 % en un temps  $T \leq 15$  minutes) : dans ce cas les profils de dissolution sont considérés d'emblée comme similaires et le calcul du facteur de similarité " $f_2$ " n'est pas nécessaire ;

- Rapide (dissolution > 85 % en un temps  $T \leq 30$  minutes) : dans ce cas les profils de dissolution ne sont considérés comme similaires que si la valeur du facteur de similarité " $f_2$ " est comprise entre 50 et 100. [80]

#### **III.1.4.3.1. Pour les médicaments BCS classe 3 :**

La dissolution in vitro du produit testé et du produit de référence, dans les conditions définies, doit être très rapide (dissolution > 85 % en un temps  $\leq 15$  minutes) pour que les médicaments de cette classe puissent être éligibles à la procédure de bioéquivalence.[107,108]

## **III.2 Qualité pharmacodynamique des génériques de l'Amoxicilline :**

### **III.2.1. Référentiels d'évaluation de l'activité et l'efficacité des génériques:**

L'efficacité est la capacité d'un médicament à induire une réponse biologique. En pratique, plus la dose (in vivo) ou la concentration (in vitro) de médicament induisant une réponse est faible, plus l'efficacité n'est élevée.

### **III.2.1.1. International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use (ICH):**

On peut la définir comme un processus d'harmonisation des exigences réglementaires en matière de médicaments à usage humain. [97]

Domaines de compétence de l'ICH :

- La qualité (Q) : Adoption de documents relatifs à l'assurance de la qualité chimique et pharmaceutique.
- La sécurité (S) : Adoption de documents relatifs aux études précliniques in vitro et in vivo.
- L'efficacité (E) : Adoption de documents relatifs aux études cliniques chez l'Homme.
- Un champ dit multidisciplinaire (M): Adoption de documents relatif au «Common Technical Document(CTD) » [109,110]

### **III.2.1.2. Food and Drug Administration (FDA):**

FDA est responsable de la protection de la santé publique aux états unis en assurant l'efficacité et l'innocuité des Médicaments à usage humain et vétérinaire. Grace à sa branche du médicament CDER (Center for Drug Evaluation and Research), la FDA réglemente presque toutes les facettes du médicament, y compris les essais, la fabrication, l'étiquetage, la publicité, le marketing, l'efficacité et la sécurité. [111]

### **III.2.1.3. Agence Européenne des Médicaments (EMA) :**

L'EMA est une agence qui applique les directives de SanCo (Santé et consommation), votée par le parlement européen à Strasbourg.

L'agence européenne évalue, coordonne et supervise le développement des nouveaux médicaments à usage humain et vétérinaire dans l'union européenne.

Son autorité s'exerce à travers les Agences nationales (ANSM). EMA fournit aux sociétés pharmaceutiques :

- Avis scientifiques.
- Assistance au niveau des protocoles de mise au point de nouveaux médicaments.

- Publication de recommandation sur les procédures à mettre en œuvre pour évaluer l'innocuité et l'efficacité des médicaments.[112]

### **III.2.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne des génériques d'amoxicilline :**

#### **III.2.2.1. Concentration minimale inhibitrice (CMI) :**

##### **III.2.2.1.1. Définition :**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique correspond à la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance visible des bactéries d'un inoculum dont la taille est prédéfinie (10<sup>4</sup> à 10<sup>5</sup> bactéries) dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées (18 à 24 heures d'incubation, à pression atmosphérique et à une température comprise entre 35 et 37°C pour les bactéries aérobies et aéro-anaérobies selon les conditions standardisées de l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). En outre, on définit deux paramètres supplémentaires, lorsqu'au cours d'une épreuve de sensibilité à un antibiotique, un grand nombre de bactéries d'une même espèce a été testé. Ainsi, la CMI<sub>50</sub>, médiane d'une distribution des valeurs de la CMI, correspond à la concentration la plus faible qui inhibe la croissance d'au moins 50 % des souches de l'espèce bactérienne testée. Alors que la CMI<sub>90</sub>, 90e percentile d'une distribution des valeurs de la CMI, correspond à la concentration la plus faible qui inhibe la croissance d'au moins 90 % des souches de l'espèce bactérienne testée.[113]

##### **III.2.2.1.2. Mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :**

Plusieurs méthodes permettent de réaliser cette détermination : en milieu liquide ou en milieu gélosé.

Pour l'amoxicilline, les CMI peuvent être déterminées par la méthode de dilution en gélose (milieu de Mueller Hinton, pH 7,4). L'inoculum est constitué par une dilution au 1/5000\* d'une culture de 24 heures en bouillon (soit environ 5 :10<sup>5</sup> bactéries/ml). L'ensemencement est effectué à l'aide d'un ensemeur multiple à tiges pleines dérivé de l'appareil décrit par Steers. La lecture doit être faite après 18 heures d'incubation à 37 ° C ; la C.M.I. est la plus faible concentration d'antibiotique inhibant complètement toute croissance visible de la souche étudiée.[113–115]

### III.2.2.2. Etude de l'effet bactéricide :

La concentration minimale bactéricide (CMB) d'un antibiotique correspond à la plus faible concentration capable de tuer 99,99 % des bactéries d'un inoculum prédéfini dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées (18 à 20 heures d'incubation, à pression atmosphérique et à une température comprise entre 35 et 37°C pour les bactéries aérobies et aéro-anaérobies).

Elle peut se mesurer à temps fixe, généralement au bout de 18 heures de contact entre la bactérie et l'antibiotique. La technique est basée sur des numérations bactériennes des survivants en milieu liquide, qui comparent le nombre de bactéries entre l'inoculum de départ et après l'action des antibiotiques. [115]

### III.2.3. Etudes de l'efficacité in vivo des médicaments génériques

La revue systématique de Tattevin et al, incluant 37 articles hétérogènes sur l'équivalence des antibactériens génériques, a conclu que davantage des preuves sont nécessaires avant de réviser le processus d'autorisation de mise sur marché de ces produits. [116] Ils citent 05 articles dans lesquelles le modèle d'infection de la cuisse de souris neutroniques (NMTIM) était le principal outil expérimental pour invalider l'hypothèse réglementaire selon laquelle la bioéquivalence garantit l'équivalence thérapeutique. [11, 117,118]

Selon la FDA, La validation des modèles animaux provient de la démonstration de leur validité apparente, ou de similitude des symptômes, physiopathologies et la réponse thérapeutique de la maladie humaine. [119]

La validité de constrictio est également requise, ce qui signifie que le modèle a une base rationnelle. La traduction des résultats à l'homme, ou prédication de la validée, est une importance capitale, qui est la comparaison statistique des paramètres pharmacodynamiques pour démontrer la fiabilité et la pertinence. A cet égard, la validité prédictive peut être testée par l'examen systématique des résultats chez l'animal et en le comparant avec des données de références humaines. [120]

Il est largement connu que les concepts modernes sur la pharmacodynamie antimicrobienne ont été traduits à l'homme à partir des expériences séminales de William. Craig avec le NMTIM.[121]

Récemment, Ambrose et al ont résumé la grande quantité de données dérivées de rongeurs et les ont comparées aux résultats humains, démontrant que les indices pharmacocinétiques/pharmacodynamiques (PK/ PD) et leurs amplitudes pour l'efficacité microbiologique et clinique sont essentiellement les mêmes. [122]

Contrairement à la rigueur de cette Validation prédictive du NMTIM, le modèle de l'endocardite de lapin se limite à l'infection valvulaire cardiaque et les experts recommandent une plus grande prudence pour extrapoler ses résultats faute de fiabilité et de pertinence. [123,124]

Certains des inconvénients majeurs sont que l'inoculum de départ sur le site d'infection n'est jamais mesuré [116], mais il est crucial de quantifier les informations critiques de PD, telles que :

- La croissance bactérienne, l'inoculum et les effets post-antimicrobiens [121,125]
- L'absence de courbe dose-réponse empêche la détermination des indices PK/PD nécessaires à la traduction chez l'homme. [124]
- La faible activité métabolique et la multiplication limitée des microorganismes dans les végétations modifient la PD de certains antibiotiques.[124]
- La grande variance intrinsèque réduit le pouvoir statistique de comparer la réponse à différents composés. [126]

Le NMTIM ressemble à la septicémie et le modèle du lapin imite l'endocardite, par conséquent, les deux modèles ont une validité de face et de construction.

Concernant le test in vivo des génériques, la fiabilité et la pertinence ont été démontrées uniquement avec le NMTIM, valident son utilisation pour déterminer avec précision l'équivalence thérapeutique ou la non-équivalence. [11,127,128] En revanche, la validation prédictive est absente dans le modèle de Tattevin et al. [116]

### **III.2.4. Facteurs de variabilité de l'activité antibactérienne et l'efficacité des génériques d'Amoxicilline :**

#### **III.2.4.1. Qualité de la matière première :**

L'OMS s'occupe non seulement des aspects pharmaceutiques de la qualité des médicaments mais encore de l'innocuité et de l'efficacité intrinsèque de leurs principes actifs. Pour atteindre

cet objectif, l'OMS établit des normes et des lignes directrices pour le contrôle des matières premières, y compris le contrôle physicochimique et microbiologique des principes actifs pharmaceutiques (API). [129]

#### **III.2.4.1.1. Contrôle physico-chimique :**

Il aura pour rôle de vérifier la structure de la molécule et d'établir les propriétés physiques et chimiques, pour garantir leur qualité et leur pureté. Cela comprend l'identification, la quantification et la caractérisation des impuretés et des produits de dégradation, qui peuvent affecter l'innocuité et l'efficacité du médicament. [54,130]

#### **III.2.4.1.2. Contrôle microbiologique :**

Les contrôles microbiologiques doivent permettre de garantir une bonne qualité hygiénique et marchande du produit fabriqué ; et minimisent les pertes dues aux mauvaises conditions de fabrication. Le contrôle microbiologique est un aspect essentiel de la fabrication pharmaceutique pour garantir la sécurité, la qualité et l'efficacité des médicaments. [131]

#### **III.2.4.2. Conditions de conservation et de transport :**

Les conditions de stockage du médicament, telles que la température, l'humidité et l'exposition à la lumière, peuvent avoir un impact sur sa stabilité et sa dégradation, ce qui peut affecter son activité antibactérienne.

- ✓ Conservez toujours le médicament dans son emballage d'origine même après ouverture (la stabilité peut être modifiée par l'exposition à l'air, l'humidité, la lumière). Ne déconditionnez le médicament qu'au dernier moment avant administration.
- ✓ Vérifiez la date d'expiration/ péremption avant toute utilisation.
- ✓ Stockez et transportez les produits dans les conditions recommandées.
- ✓ Les Comprimés dispersibles amoxicilline à 1 g : À conserver et transporter à une température ne dépassant pas 25°C, dans l'emballage extérieur, à l'abri de l'humidité. [23,132]

### III.2.4.3. Processus de fabrication :

Deux processus dans la fabrication pharmaceutique, la granulation et la compression, ont un impact important sur les caractéristiques des produits pharmaceutiques.

La granulation peut améliorer le taux de dissolution des substances peu solubles, mais des facteurs tels que la formulation, la phase de mélange et le moment de l'ajout des ingrédients ont une plus grande influence sur les caractéristiques de dissolution que la méthode de granulation elle-même.

La compression affecte la densité apparente, la porosité, la dureté et le temps de désintégration, et joue un double rôle dans l'augmentation du taux de dissolution en augmentant la surface par compression, mais en la diminuant en augmentant la cohésion des particules, ce qui augmente la densité et la dureté. Comprendre l'impact de la granulation et de la compression est crucial pour optimiser l'efficacité et la sécurité des médicaments. [131]

### III.2.4.4. Problème de stabilité :

Les facteurs environnementaux tels que la chaleur, l'humidité, la lumière, l'oxygène, les vibrations et le gel peuvent tous affecter la stabilité d'un médicament. Des facteurs intrinsèques, notamment les propriétés chimiques et physiques de l'ingrédient actif et des excipients utilisés, la forme pharmaceutique et sa composition, le procédé de fabrication et la nature du contenant ou autre matériau d'emballage, peuvent également avoir une incidence sur la stabilité d'un médicament.

La stabilité d'un produit médicamenteux fini dépend largement de la stabilité de la substance pharmaceutique qu'il contient. Il est également important de noter que la formulation et le conditionnement peuvent exercer une influence positive ou négative sur la stabilité du principe actif, rendant la stabilité propre à chaque fabricant. Pour des raisons pratiques et commerciales, des durées de stockage supérieures à cinq ans ne sont pas recommandées, des durées plus courtes étant attendues pour de nombreux principes actifs tels que les antibiotiques et les vitamines ou certaines formes pharmaceutiques comme les solutions aqueuses, les émulsions ou les crèmes.

La durée de conservation d'un médicament doit être établie sur la base de tests de stabilité. Dans des cas exceptionnels, l'utilisation de médicaments périmés peut être envisagée, mais cette

décision doit être prise par une autorité sanitaire nationale après avoir pesé tous les facteurs et avec les conseils d'un spécialiste compétent. [133]

### **III.2.4.5. Problème de dissolution et les Facteurs de variabilité de la cinétique de dissolution :**

Il faut distinguer les facteurs qui interviennent sur la solubilité et ceux qui modifient la vitesse de dissolution. [116]

#### **III.2.4.5.1. Facteurs influençant la solubilité :**

##### **➤ Nature chimique de la molécule :**

La structure chimique de la molécule du médicament joue un rôle important dans sa solubilité. Les substances riches en groupements hydrophiles tels que -OH, -COOH et -NH<sub>2</sub> se dissolvent surtout dans les solvants polaires (acide acétique, méthanol, eau,...), et les substances hydrophobes dans les solvants apolaires (benzène, chloroforme, etc...).[134]

##### **➤ pH du milieu de dissolution :**

Dans un milieu aqueux la solubilité d'un composé est en fonction de sa capacité à former des liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau. Les composés ionisables présentent une grande solubilité dans un milieu aqueux que les composés non ionisables. [134]

En conséquence, la vitesse de dissolution peut être affectée de façon marquée par le pH du solvant aqueux, les bases faibles se dissolvent plus lentement au pH basique tandis que les acides faibles se dissolvent plus rapidement au pH basique. [58,135]

Ainsi, le pH du milieu de dissolution utilisé pour tester la solubilité d'un médicament générique est soigneusement contrôlé pour s'assurer qu'il imite les conditions de pH de l'environnement physiologique où le médicament sera administré. Cela permet de s'assurer que les données de solubilité générées reflètent avec précision le comportement du médicament dans l'organisme.[136]

##### **➤ Température :**

Sauf indication particulière, les chiffres donnés par la pharmacopée correspondent à la solubilité à 20°C, dans la plupart des cas, la solubilité d'un solide ou d'un liquide dans un

liquide augmente avec la température, mais des exceptions existent (citrate de Ca,...). En général, une température de  $37 \pm 0,5$  °C est toujours maintenue au cours de la dissolution des médicaments [134]

➤ **Polymorphisme :**

Le polymorphisme est l'aptitude d'une molécule à l'état solide à exister selon différentes structures cristallines. [58]

Le polymorphisme joue un rôle important dans la cinétique de dissolution, de nombreuses études ont montré que la forme amorphe d'un principe actif présente une plus grande solubilité et une vitesse de dissolution plus élevée par rapport à celui présenté par la forme cristalline. [58,137]

**III.2.4.5.2. Facteurs influençant la vitesse de dissolution :**

➤ **Taille des particules et la surface de contact :**

La vitesse de dissolution d'un médicament est directement proportionnelle à la surface de contact des particules avec le milieu de dissolution. On conclut que la forme géométrique de la particule affecte la surface de contact et donc la vitesse de dissolution.[131]

➤ **Viscosité du milieu de dissolution :**

La viscosité diminue la vitesse de dissolution en réduisant la diffusion. [58]

➤ **Tension superficielle :**

Les agents de surface ou tensioactifs ont un effet significatif sur la vitesse de dissolution des formes solides. Les surfactants abaissent l'angle de contact entre la forme solide et le milieu de dissolution, et par conséquent ils améliorent la pénétration du solvant. [58,138]

**III.2.4.5.3. Facteurs liés à la formulation :**

Les excipients jouent un rôle crucial pour faciliter le processus de fabrication des comprimés et assurer la libération du principe actif.

Les diluants augmentent la vitesse de dissolution, en particulier les diluants hydrophiles. Changer la concentration ou le type de diluant peut affecter le taux de dissolution des comprimés. Les délitants ou désintégrant gonflent dans l'eau, permettant à l'eau de pénétrer

dans le comprimé et de séparer les granulés. La désintégration du comprimé est une étape cruciale avant la dissolution, car elle augmente la surface de contact entre le milieu de dissolution et le comprimé, augmentant ainsi la vitesse de dissolution. Les liants assurent la cohésion des particules lors de la compression. Des quantités excessives de lubrifiants, souvent hydrophobes, peuvent former un film hydrophobe autour du comprimé.[58]



**Partie pratique**

## Cadre général de l'étude

## Cadre général de l'étude

### Objectif principal :

Évaluer la qualité pharmaceutique et pharmacodynamique des génériques d'amoxicilline fabriqués et commercialisés en Algérie par rapport au princeps

### Objectifs secondaires :

- Réévaluer les critères d'enregistrement des génériques d'antibiotiques en Algérie en proposant des critères plus rigoureux, basés sur des preuves scientifiques, qui exigent une évaluation de l'activité antibactérienne in vitro et/ou in vivo avant d'approuver leur utilisation chez l'homme.
- Comparer la qualité de l'amoxicilline princeps fabriquée en Algérie avec celle fabriquée en France, afin de déterminer les éventuelles différences de qualité et d'efficacité entre les deux produits.
- Promouvoir l'utilisation du générique algérien si sa qualité et son efficacité sont similaires à celles du princeps, en encourageant les professionnels de la santé et les patients à opter pour le générique lorsqu'il est jugé équivalent sur le plan thérapeutique.

### Type de l'étude :

- Il s'agit d'une étude descriptive comparative de la qualité pharmaceutique et pharmacodynamique de cinq génériques d'amoxicilline commercialisés en Algérie par rapport au princeps.

### Lieu de l'étude :

- La partie relative à la qualité pharmaceutique et la partie pharmacodynamique in vitro ont été effectuées dans un laboratoire de Contrôle Qualité et Recherche et Développement, agréé par l'Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques (ANPP).
- La partie concernant la bioéquivalence in vitro a été réalisée dans les laboratoires du Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques (LNCPP) (actuellement ANPP).
- La partie relative à la pharmacodynamie in vivo a été menée au sein du Laboratoire de Pharmacologie, situé au Département de Pharmacie de la Faculté de Médecine de Constantine.

- La partie portant sur le profil des impuretés a été réalisée conjointement au sein de la plateforme de physicochimie du Département de Pharmacie de Annaba et du laboratoire de Contrôle Qualité et Recherche et Développement, agréé par l'ANPP.

### Echantillons à étudier :

Dans notre étude, nous avons analysé un médicament de référence (CLAMOXYL) ainsi que cinq génériques d'amoxicilline fabriqués et commercialisés en Algérie.

**Tableau 14:** Présentation des échantillons à analyser

Échantillon	Description	Dosage	Forme galénique
<b>Princeps A</b>	Princeps Algérien	1g	Comprimé
<b>Princeps F</b>	Princeps Français	1g	Comprimé
<b>GA01</b>	Générique 1	1 g	Comprimé
<b>GA02</b>	Générique 2	1 g	Comprimé
<b>GA03</b>	Générique 3	1 g	Comprimé
<b>GA04</b>	Générique 4	1 g	Comprimé
<b>GA05</b>	Générique 5	500 mg	Gélule

**Chapitre I**  
**Etude comparative des propriétés organoleptiques et pharmacotechniques**

## Chapitre I : Etude comparative des propriétés organoleptiques et pharmacotechniques

### I.1. Matériel et Méthodes :

#### I.1.1. Matériel :

##### I.1.1.1. Appareillage :

- Anse de platine.
- Balance électrique.
- Agitateur magnétique.
- Pipettes (1ml, 5 ml...) avec poire.
- Fiole jaugée (500ml, 50 ml...).
- pH-mètre.
- Centrifugeuse.
- Pompe sous vide.
- Bain à Ultrason.
- Filtre jetable de 0.45µm.
- Système chromatographique HPLC.
- Spectrophotomètre UV Visible,
- Dissolutest.

##### I.1.1.2. Réactifs :

- Eau distillée
- Phosphate de potassium monobasique ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0.02M
- Acétonitrile HPLC
- Hydroxyde de potassium (45%)

## **I.1.2. Méthodes :**

### **I.1.2.1. Etude comparative des propriétés organoleptiques :**

L'examen macroscopique des comprimés/gélules permet de révéler des renseignements de leurs aspects (forme, couleur, texture de la surface) qui peuvent être des indicateurs d'un défaut de production ou de conservation.[58,139]

Pour chaque lot, 20 comprimés/gélules ont été tirés de leur conditionnement primaire (blister) et ont subi un examen visuel de :

- La forme de chaque comprimé/gélule ;
- La présence ou l'absence de barre de sécabilité;
- La texture de la surface de chaque comprimé/gélule (rugueuse ou lisse) ;
- La couleur en surface de chaque comprimé/gélule ;

### **I.1.2.2. Etude comparative des propriétés pharmaco-techniques :**

#### **I.1.2.2.1. Uniformité de masse :**

L'essai d'uniformité de masse permet de s'assurer qu'au cours de la fabrication, la répartition du mélange initial de poudre en unités de prises, 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.[140]

Ce test permet de déterminer en pourcentage la variation de la masse (un gain ou une perte) en comparant les moyennes calculées à partir des résultats de la pesée des 20 comprimés/gélules du même lot. [58,139]

#### **Protocole opératoire :**

##### **➤ Pour les comprimés :**

Pour chaque échantillon, on a prélevé de manière aléatoire 20 comprimés, les pesés individuellement à l'aide d'une balance de précision convenable. Ensuite on a comparé le poids individuel de chaque comprimé à celui du poids moyen.

➤ **Pour les Gélules :**

Le mode opératoire consiste à peser une gélule pleine puis, sans perdre de fragments de l'enveloppe, à vider le contenu et à peser l'enveloppe. La masse du contenu est calculée par différence. L'opération est répétée sur les 19 autres gélules.

**Expression des résultats :**

En appliquant les formules suivantes pour déterminer les intervalles de conformité de masse :

**\*Mm± 5% :**

- Le poids des 20 comprimés/gélules doivent appartenir à l'intervalle [Mm-5% ; Mm +5%].
- En passant vers la 2<sup>ème</sup> étape :

**\* Mm ±10% :**

- Le poids des 20 comprimés/gélules doivent appartenir à l'intervalle [Mm-10% ; Mm +10%]

**I.1.2.2.2. Test de délitement (désagrégation):**

**Intérêt :**

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.[58]

**Protocole opératoire :**

Un panier porte-tubes a été utilisé, un vase cylindrique bas d'une capacité de 1 litre pour le liquide d'immersion, avec une hauteur de 149±11 mm et un diamètre intérieur de 106±9 mm. Un système thermostatique a été utilisé pour maintenir le liquide à une température comprise entre 35 et 39°C. Un dispositif a été utilisé pour imprimer un mouvement vertical alternatif au panier porte-tubes dans le liquide d'immersion, avec une fréquence constante de 29 à 32 cycles par minute et une amplitude de 55 ± 2 mm.

Le volume de liquide dans le vase a été ajusté pour que le treillis métallique se situe à au moins 15 mm de la surface du liquide en position haute et à au moins 25 mm en position basse. Le temps de montée et le temps de descente ont été réglés pour être égaux. La température du chauffe-bain a été réglée à 37°C (ou 25°C ou 20°C) ± 2, en fonction de la forme pharmaceutique testée. La minuterie a été programmée en fonction du temps spécifique requis pour le produit.

Nous avons vérifié la température du bain et du milieu de délitement pour nous assurer qu'ils étaient conformes aux spécifications requises.

Nous avons sélectionné au hasard 6 unités pour déterminer leur temps de délitement. Chaque unité a été placée dans un tube cylindrique, et un disque en cristal a été ajouté pour maintenir l'unité en place pendant le mouvement. Nous avons veillé à ce que toutes les unités soient complètement désagrégées. Les résultats obtenus ont été enregistrés.

Il convient de souligner que la désagrégation a été considérée comme complète lorsque tout résidu, à l'exception de fragments insolubles de revêtement ou d'enveloppe de gélule, était présent sur la grille de l'appareil ou adhérait à la face inférieure du disque.

### **I.1.2.2.3. Test de dissolution :**

#### **Principe :**

L'essai de dissolution 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. [58,140]

#### **Protocole opératoire :**

Dans cette étude, nous avons utilisé deux types de dispositifs de dissolution :

1. Dissolust à palette tournante pour les comprimés: L'appareil se compose d'un récipient cylindrique en verre borosilicaté ou tout autre matériau transparent approprié, d'une capacité de 1000 millilitres, avec un fond hémisphérique. Le récipient est muni d'un couvercle pour éviter l'évaporation, avec un orifice central permettant le passage de la tige de l'agitateur, ainsi que plusieurs autres orifices pour l'introduction d'un thermomètre et des dispositifs de prélèvement du liquide. Les comprimés à tester sont placés au fond du récipient. L'agitateur est composé d'une tige verticale à laquelle est fixée une palette en forme de portion de cercle, délimitée par deux plans parallèles. La palette est insérée au centre de la tige, de sorte que sa base soit alignée avec l'extrémité de la tige. La tige est positionnée de manière à ce que son axe ne s'écarte pas de plus de 2 mm de celui du récipient, et la partie inférieure de la palette se trouve à une distance de  $25 \pm 2$  mm du fond intérieur du récipient. La partie supérieure de la tige de l'agitateur

est reliée à un moteur avec un régulateur de vitesse pour assurer une rotation uniforme de l'agitateur, sans oscillation importante.

Un bain d'eau thermostaté est utilisé pour maintenir la température du milieu de dissolution à  $37 \pm 0,5$  °C pendant le test.

2. Dissolutest à paniers pour les gélules : Pour ce test, la palette est simplement remplacée par un panier.

Le mode opératoire consiste à effectuer six essais de dissolution sur un comprimé, conformément aux directives de la Pharmacopée Européenne. Les conditions opératoires sont :

- Milieu de dissolution : Eau.
- Volume du milieu de dissolution : 900 ml.
- Vitesse de rotation de palette : 75r/m.
- Température du milieu :  $37 \text{ C}^{\circ} \pm 0,5$ .
- Temps d'analyse : 30 min.
- Volume de prélèvement du milieu de dissolution : 2 ml.
- Nombre d'essais : 06.

Les Conditions opératoires pour l'analyse quantitative par HPLC sont:

- Colonne (Nucleosil 100-10 C18, 250 x 4.6mm, 10 $\mu$ m) ;
- la phase mobile : Acétonitrile / Tampon phosphate pH=5  
On a appliqué la règle du (1 :39) :  
1 : 39 =40 ml  
25 : 975=1000 ml  
1000 ml de la phase mobile a été préparée en mélangeant 25 ml d'acétonitrile avec 975 ml du tampon.
- Température du four : 25°C ;
- Longueur d'onde du détecteur UV-visible : 230 nm ;
- Software : Ce système est relié à une unité d'acquisition et de traitement des données à l'aide du logiciel Empower 3;
- Débit : 1.5 ml/min ;
- Volume d'injection : 10  $\mu$ l.

### **Préparation de la solution standard :**

Notre standard est de concentration 0,05 mg/ml donc une dilution correspondante a été choisie:

$$\text{Std} = 50\text{mg}/100\text{ml} \times 1/10 = 0,05\text{mg}/\text{ml}$$

58,4 mg d'amoxicilline trihydratée (contient un peu d'eau) ont été mis dans un volume de 100 ml du tampon et agité par un agitateur magnétique, ensuite un volume de 1 ml de ce mélange a été dilué dans 10ml d'eau distillée.

### **Préparation du tampon phosphate de potassium monobasique à pH=5 :**

27,2g du phosphate de potassium monobasique (45%) sont mis dans 3L d'eau distillée, agité pendant 5min. Le pH est ajusté à  $5 \pm 0,1$  par l'hydroxyde de potassium et enfin on a complété le volume jusqu'à 4L.

### **Préparation de l'échantillon GA05 :**

#### ➤ **Préparation du standard de l'amoxicilline:**

70mg d'amoxicilline trihydraté sont dissoutes dans 100 ml d'eau et agité à l'aide d'un agitateur magnétique, puis 2 ml de ce mélange sont transversés dans une fiole de 25ml et compléter le volume avec de l'eau distillée, enfin nous avons emmené directement ce mélange pour une lecture spectrophotométrique (UV/VISIBLE).

#### ➤ **Préparation de l'échantillon de GA05 :**

Nous avons mis une gélule dans chacun des 6 godets du dissolutest, chaque godet contient 900 ml d'eau, le système est programmé à faire 75 rotation par minute pendant 30minute.

Dès que la dissolution est terminée, nous avons pris 5ml du mélange et le mettre dans une fiole de 25ml et complété avec de l'eau, enfin on a acheminé le mélange pour une lecture spectrophotométrique à 230 nm.

### **Préparation des échantillons GA01, GA02, GA03 et GA04 :**

Nous avons réalisé les étapes suivantes pour préparer et effectuer le test de dissolution des comprimés d'amoxicilline, en utilisant l'appareil à palette tournante, sur les échantillons GA01, GA02, GA03 et GA04 :

Nous avons préchauffé le milieu de dissolution à une température de  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ . Dans chaque récipient, nous avons introduit une unité de comprimé et mis en marche l'appareil. Nous avons démarré l'appareil en réglant la vitesse indiquée à 75 rotations par minute (rpm). Après une durée de 30 minutes  $\pm 2$ , nous avons prélevé manuellement 2 ml de la solution de chaque

réceptif à l'aide d'une pipette en verre, à partir d'une zone située à mi-distance entre la surface du milieu de dissolution et le sommet de la palette (à une distance d'au moins 10 mm de la paroi du récipient). Les prélèvements du milieu de dissolution ont été filtrés, puis complétés avec de l'eau dans une fiole de 50 ml afin d'obtenir un volume final (concentration finale : 0.045 mg/ml).

### Expression des résultats :

Le pourcentage de PA « QPA » (Amoxicilline) dissoute à chaque instant du prélèvement du milieu de dissolution est calculé par la formule suivante:

➤ Pour Clamoxyl, GA1, GA2, GA3, GA4 on applique :

$$QPA = \frac{Aech}{Astd} \times \frac{CS}{CE} \times \frac{Mm}{Du} \times T \times \frac{(100 - t)}{100}$$

Aech /Astd: Surface (HPLC), Absorbance (UV)

CS=mstd/Vstd×dilution;

CE=mech/Vech;

Mm: Poids moyen ;

Du: Dosage unitaire ; T : Titre du standard =98,5% ; t : Titre en eau=13,14 %.

➤ Pour GA5 on applique :

$$QPA = \frac{DOech}{DOstd} \times \frac{CS}{CE} \times \frac{Mm}{Du} \times T \times \frac{(100 - t)}{100}$$

- DO ech : densité optique à 230 nm de chaque solution à examiner de GA5.

- DO std : densité optique à 230 nm du standard

## I.2. Résultats :

### I.2.1. Propriétés organoleptiques :

**Tableau 15:** Principaux caractères organoleptiques des échantillons

Echantillons	Paramètre : Forme, couleur, aspect de la surface
<b>Clamoxyl</b>	Comprimés ovales blanc avec une barre de cassure, gravés "1 g" sans changement
<b>GA1</b>	Comprimés ovales blanc avec une barre de cassure, sans changement
<b>GA2</b>	Comprimés ovales blanc avec une barre de cassure, sans changement
<b>GA3</b>	Comprimés ovales blanc avec une barre de cassure, sans changement
<b>GA4</b>	Comprimés ovales blanc avec une barre de cassure, sans changement
<b>GA5</b>	Gélules jaune et rouge lisse (onctueux)

#### Norme :

Au cours du contrôle macroscopique, les 20 comprimés/gélules de chaque lot doivent présenter une uniformité d'aspects et ne doivent pas révéler d'anomalies (cassures ou couleur/odeur anormale) [58]

### I.2.2. Propriétés pharmaco techniques :

#### I.2.2.1. Uniformité de masse :

La masse moyenne pour les six lots est mentionnée dans le tableau suivant :

**Tableau 16:** La masse moyenne pour les six lots

Masse en mg	Clamoxyl A	GA1	GA2	GA3	GA4	GA5
<b>M. moy</b>	1251,73	1909,60	1947,79	1500,57	1194,32	634,91
<b>M. min</b>	1239,8	1876,3 mg	1914,2	1486,6	1149,5	656,7
<b>M. max</b>	1268,5	1947,0 mg	1974,6	1509,6	1241,7	615,0

**M. moy** : Masse moyenne.

**M. min** : Masse la plus basse ;

**M. max** : Masse la plus élevée.

Forme pharmaceutique	Masse moyenne (Mm)	Ecart limite en pourcentage de la masse moyenne (%)	Ecart toléré pour 2 comprimés
Comprimé	$Mm \leq 80 \text{ mg}$	$\pm 10$	$\pm 20\%$
	$80\text{mg} < Mm < 250 \text{ mg}$	$\pm 7,5$	$\pm 15\%$
	$Mm \geq 250 \text{ mg}$	$\pm 5$	$\pm 10\%$

**Les Normes :**

➤ **Comprimés:**

La masse individuelle de 2 comprimés au plus, des 20 comprimés prélevés peut s'écarter de la masse moyenne d'un pourcentage plus élevé que celui qui est indiqué dans le tableau 01 et aucun comprimé sur les 20 prélevés ne s'écarte de plus du double de ce pourcentage.

**Tableau 17:** Critères d'acceptation des résultats de l'essai d'uniformité de masse des comprimés

Forme pharmaceutique	Masse moyenne (Mm)	Ecart limite en pourcentage de la masse moyenne (%)	Ecart toléré pour deux comprimés
Comprimé	$Mm \leq 80 \text{ mg}$	$\pm 10$	$\pm 20\%$
	$80\text{mg} < Mm < 250 \text{ mg}$	$\pm 7,5$	$\pm 15\%$
	$Mm \geq 250 \text{ mg}$	$\pm 5$	$\pm 10\%$

➤ **Gélules :**

La Pharmacopée européenne propose de peser individuellement 20 gélules prises au hasard et de déterminer la masse moyenne. La masse individuelle de deux au plus des 20 gélules peut s'écarter de la masse moyenne de 10 % (si la masse moyenne est inférieure à 300 mg) ou de 7,5 % (si la masse moyenne est supérieure ou égale à 300 mg), mais la masse d'aucune gélule ne peut s'écarter de plus du double de ce pourcentage.

➤ **L'intervalle de conformité :**

**Clamoxyl :**

L'intervalle de conformité : $Mm \pm 5\%$ :	L'intervalle de conformité $Mm \pm 10\%$
[1140 ; 1260]	[1126,55 ; 1376,9]

**Générique GA1 :**

<b>L'intervalle de conformité : Mm <math>\pm</math>5% :</b>	<b>L'intervalle de conformité Mm <math>\pm</math>10%</b>
[1805 ; 1995]	[1718,64 ; 2100,56]

**Générique GA2 :**

<b>L'intervalle de conformité : Mm <math>\pm</math> 5% :</b>	<b>L'intervalle de conformité Mm <math>\pm</math> 10%</b>
[1805 ; 1995]	[1753,011 ; 2142,569]

**Générique GA3 :**

<b>L'intervalle de conformité : Mm <math>\pm</math> 5% :</b>	<b>L'intervalle de conformité Mm <math>\pm</math> 10%</b>
[1377,5 ; 1522,5]	[1350,513 ; 1650,627]

**Générique GA4 :**

<b>L'intervalle de conformité : Mm <math>\pm</math> 5% :</b>	<b>L'intervalle de conformité Mm <math>\pm</math> 10%</b>
[1092,5 ; 1207,5]	[1074,88 ; 1313,752]

**Générique GA5 :**

<b>L'intervalle de conformité : Mm <math>\pm</math> 5% :</b>	<b>L'intervalle de conformité Mm <math>\pm</math> 10%</b>
[598,5 ; 661,5]	[571,41 ; 698,40]

**II.2.2.2. Test de désagrégation :**

**Tableau 18:** Résultats du test de désagrégation

Echantillons	Temps de désagrégation
Clamoxyl A	40 sec
GA1	51 sec
GA2	1 min 11 sec
GA3	1 min 05 sec
GA4	1 min 53 sec
GA5	10 min 21 sec

➤ **Normes :**

**Tableau 19:** Critères d'acceptation du test de désagrégation [62]

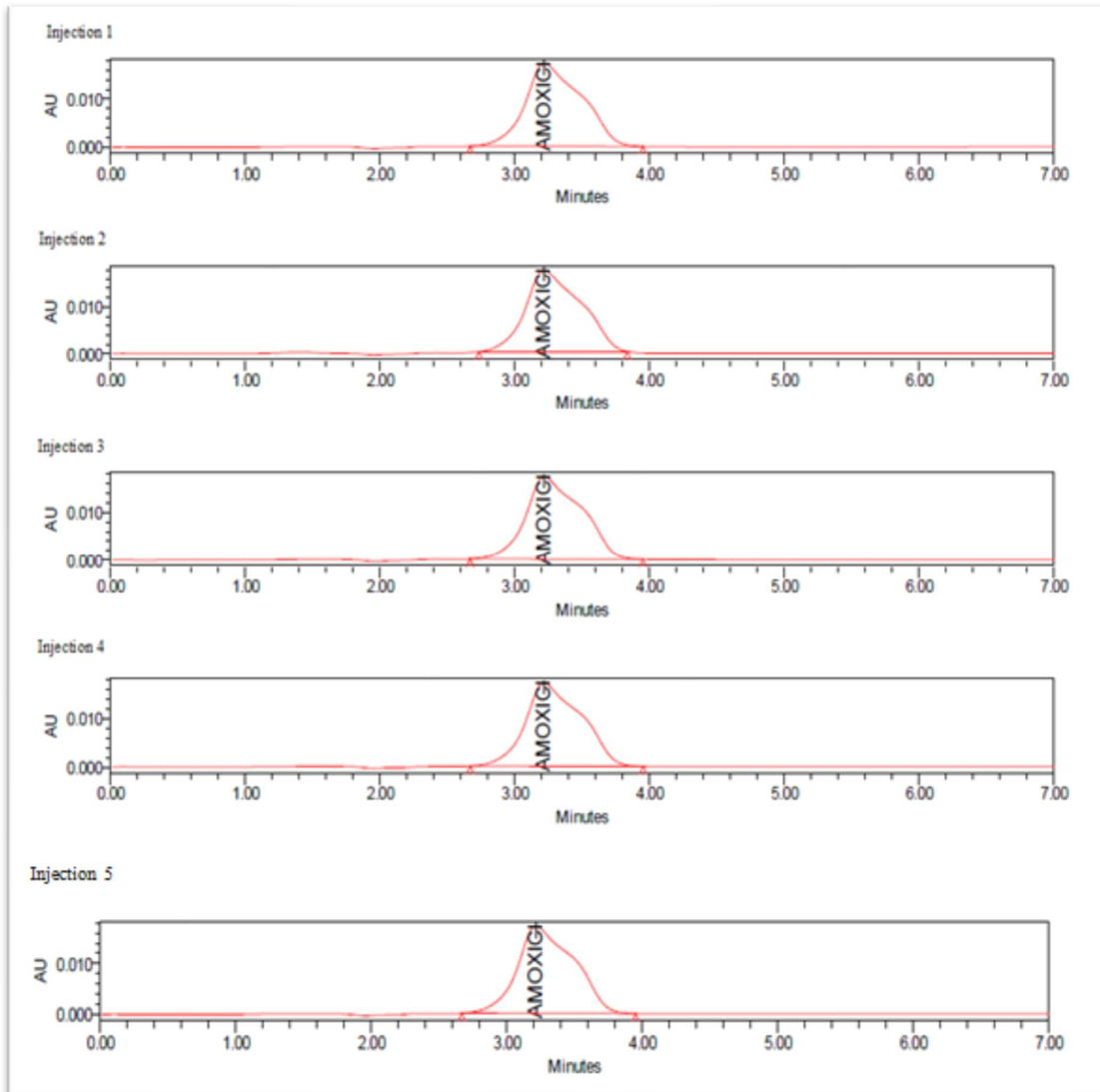
Formes galéniques	Milieu	Temps limites
Gélules, Capsules molles	Eau à 37±2°C	au max 30 min
Comprimés nus	Eau à 37±2°C	au max 15 min
Comprimés dispersibles, orodispersibles	Eau : à température ambiante (20-25)	au max 3 min

- Si toutes les 6 unités soumises à l'essai sont complètement désagrégées, l'essai est conforme.
- Si 01 ou 02 unités ne sont pas complètement désagrégées, répéter l'essai sur 12 unités supplémentaires. Les exigences de l'essai sont satisfaisantes si au moins 16 des 18 unités soumises à l'essai sont désagrégées.

### I.2.2.3. Test de dissolution :

#### I.2.2.3.1. Le standard :

Les chromatogrammes obtenus par HPLC des différents essais du standard sont regroupés dans la figure suivante:



**Figure 16:** Chromatogrammes des essais de dissolution du standard

Les temps de rétention, les surfaces et les hauteurs des pics sont représentés dans le tableau suivant :

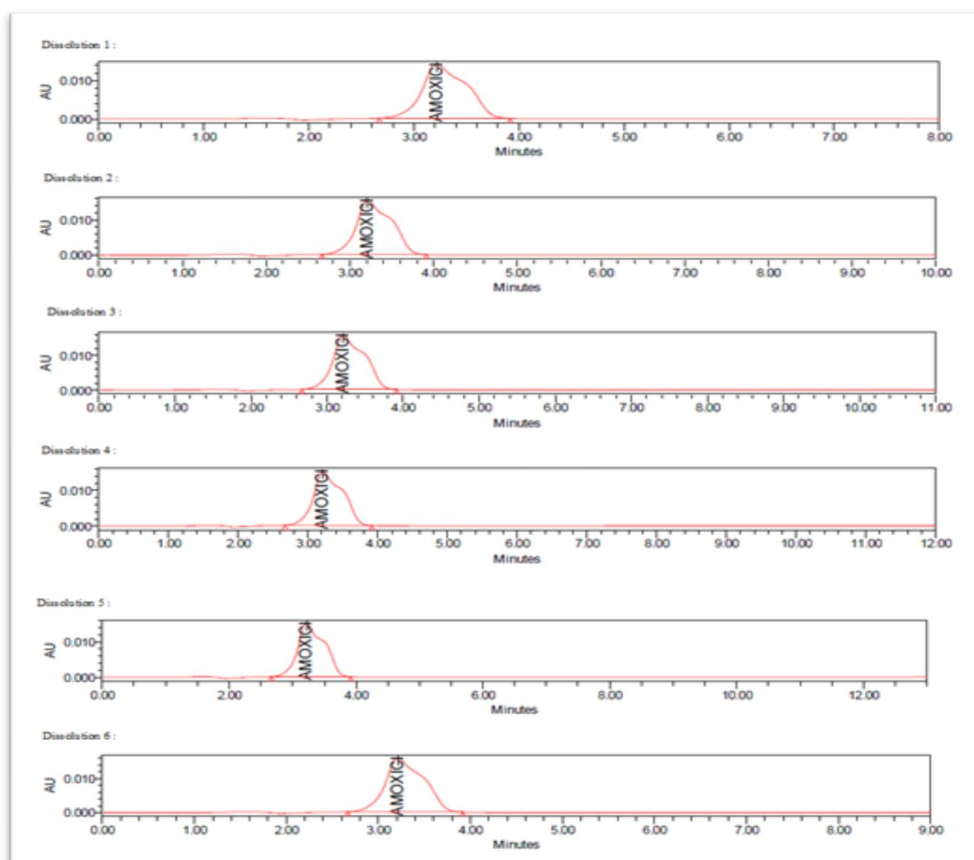
**Tableau 20:** Variation des surfaces et les valeurs de conformité du système selon les cinq injections du standard

Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Height
Std diss	1	1	W2489 ChA	Amoxi	3.219	496381	17552
Std diss	1	2	W2489 ChA	Amoxi	3.221	500034	17272
Std diss	1	3	W2489 ChA	Amoxi	3.221	499486	17220
Std diss	1	4	W2489 ChA	Amoxi	3.217	498977	17261
Std diss	1	5	W2489 ChA	Amoxi	3.218	499766	17244
<b>Mean</b>					3.219	498928.684	17309.915
<b>Std. Dev.</b>					0.001	1477.256	136.999
<b>% RSD</b>					0.0	0.3	0.8

### I.2.2.3.2. Les échantillons à étudier :

#### ➤ Clamoxyl :

Les chromatogrammes obtenus par HPLC des différents essais du Clamoxyl sont regroupés dans la figure suivante :

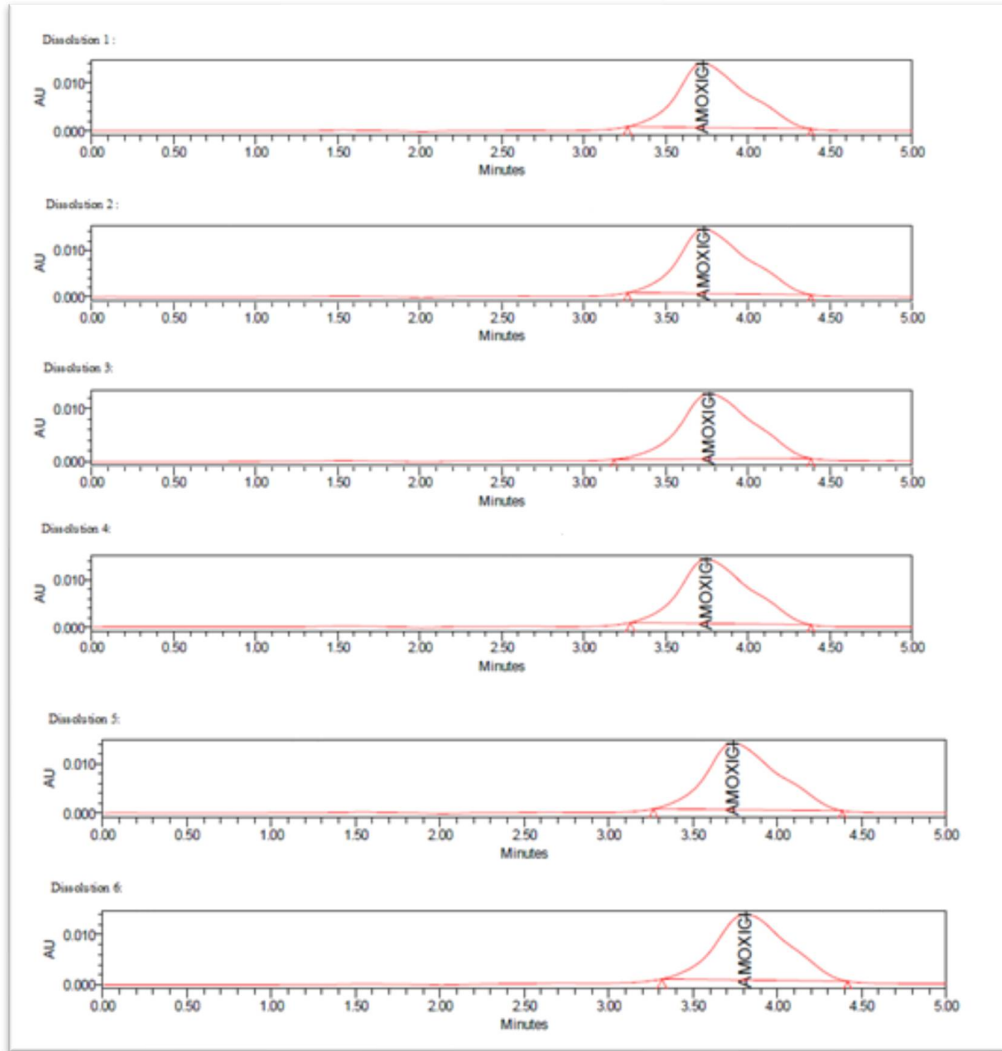


**Figure 17:**Chromatogrammes des essais de dissolution du Clamoxyl.

Les temps de rétention, les surfaces et les hauteurs des pics sont représentés dans le tableau 21

➤ **Le générique GA1 :**

Les chromatogrammes obtenus par HPLC des différents essais du GA1 sont regroupés dans la figure suivante :

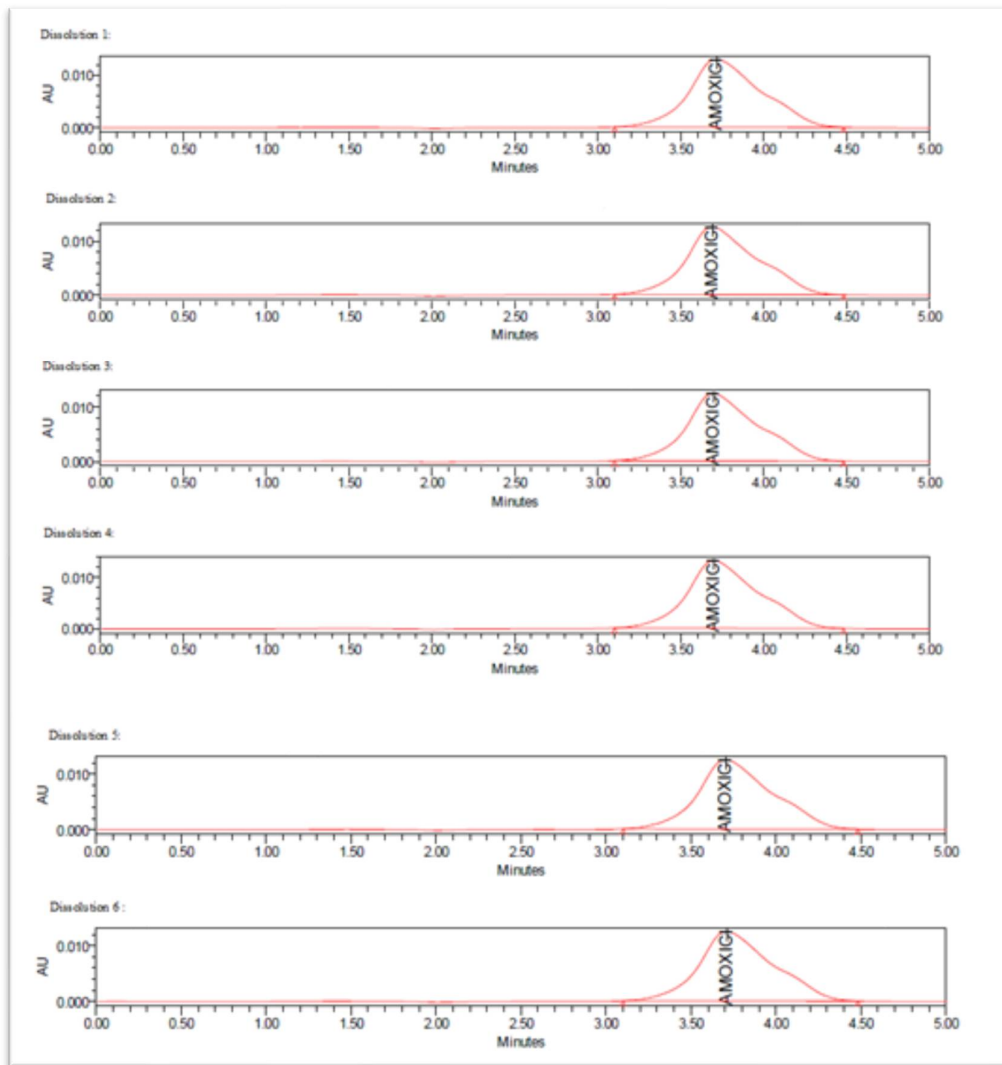


**Figure 18:** Chromatogrammes des essais de dissolution du GA1.

Les temps de rétention, les surfaces et les hauteurs des pics sont représentés dans le tableau 21

➤ **Le générique GA2 :**

Les chromatogrammes obtenus par HPLC des différents essais du GA2 sont regroupés dans la figure suivante :

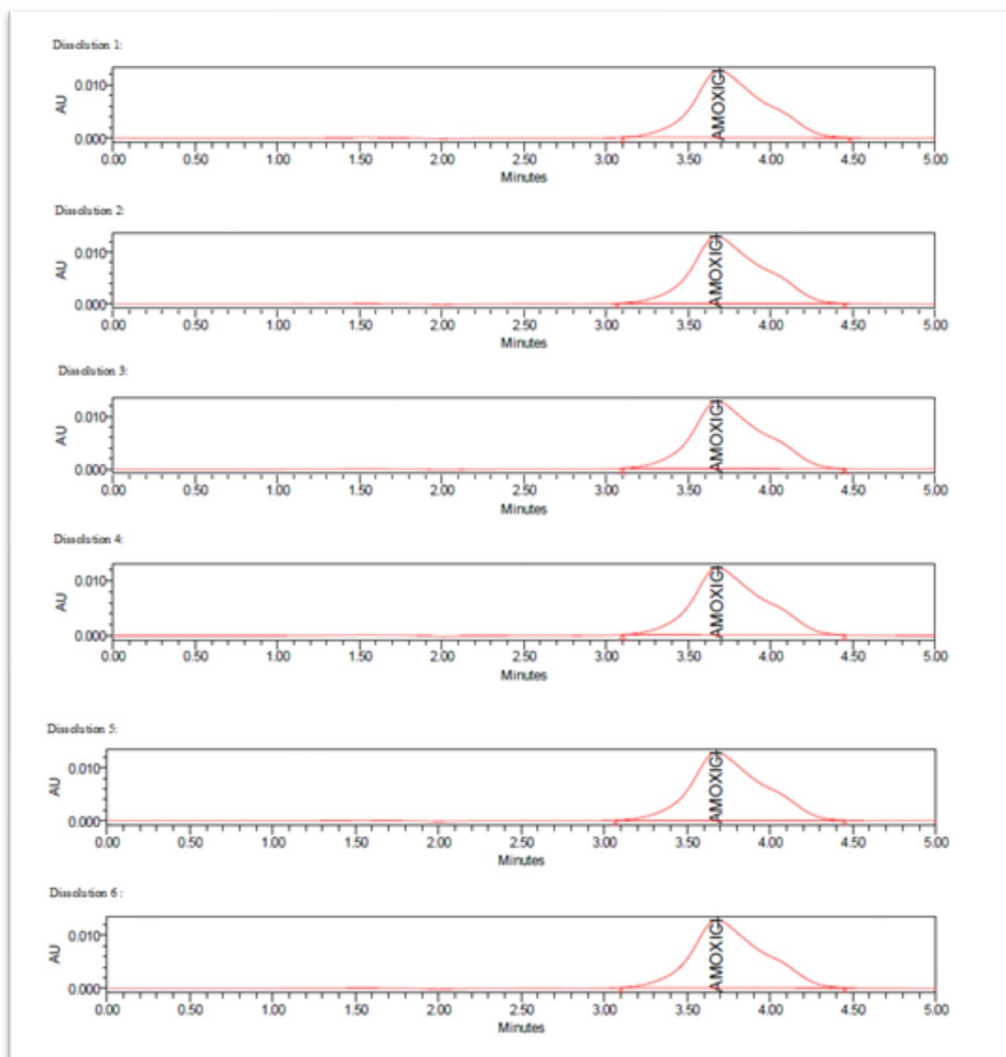


**Figure 19:** Chromatogrammes des essais de dissolution du GA2.

Les temps de rétention, les surfaces et les hauteurs des pics sont représentés dans le tableau 21

➤ **Le générique GA3 :**

Les chromatogrammes obtenus par HPLC des différents essais du GA3 sont regroupés dans la figure suivante :

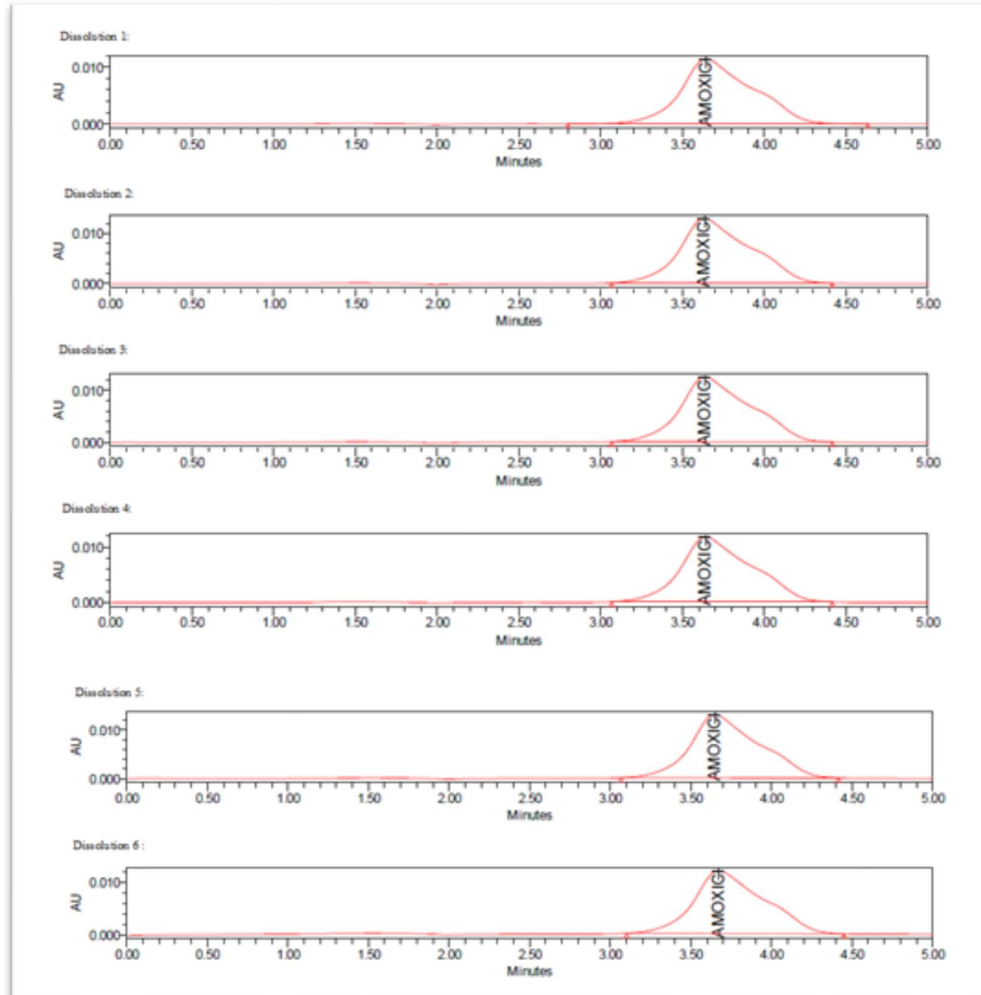


**Figure 20:** Chromatogrammes des essais de dissolution du GA3

Les temps de rétention, les surfaces et les hauteurs des pics sont représentés dans le tableau 21

➤ **Le générique GA4 :**

Les chromatogrammes obtenus par HPLC des différents essais du GA4 sont regroupés dans la figure suivante :



**Figure 21:** Chromatogrammes des essais de dissolution du GA4.

Les temps de rétention, les surfaces et les hauteurs des pics sont représentés dans le tableau 21

➤ **Le générique GA5 :**

Les absorbances pour l'échantillon GA5 et le standard sont représentés dans le tableau 21:

**Tableau 21:** Tableau récapitulatif des temps de rétention, aires sous la courbe et hauteurs des pics pour le test de dissolution

Essais	Clamoxyl A			GA1			GA2			GA3			GA4			GA5 gelule	STd gelule
	Tr	Ar	Ht	Tr	Ar	Ht	Tr	Ar	Ht	Tr	Ar	Ht	Tr	Ar	Ht	Abs	Abs
<b>1</b>	3.218	41157 3	1418 8	3.814	3876 69	1300 2	3.71 7	3934 24	12951	3.689	381687	12691	3.674	3577 82	11870	0,276	0,152
<b>2</b>	3.214	46032 8	1590 4	3.767	3753 28	1219 9	3.71 1	3775 59	12460	3.683	380904	12691	3.651	3863 55	13106	0,269	0,15
<b>3</b>	3.213	44972 4	1550 2	3.749	4006 31	1349 8	3.70 5	3774 46	12489	3.680	386996	12825	3.646	3502 39	11436	0,269	0,15
<b>4</b>	3.213	45545 3	1570 5	3.741	3987 44	1349 3	3.70 1	3988 18	13211	3.681	368699	12256	3.643	3554 59	11772	0,284	0,15
<b>5</b>	3.213	44282 4	1529 1	3.734	4104 08	1388 4	3.69 7	3733 97	12402	3.677	382905	12738	3.639	3750 60	12444	0,27	0,15
<b>6</b>	3.218	41157 3	1418 8	3.814	3876 69	1300 2	3.69 1	3796 13	12625	3.674	390945	12949	3.636	3870 74	12881	0,266	/
<b>Moy</b>	3.215	44342 5.065	1530 0.060	3.755	3940 30.88 7	1324 0.80	3.70 4	3833 76.23 7	12689. 746	3.681	382022.6 29	12691. 599	3.648	3686 61.41 0	12251. 302	0,272	0,150
<b>Ecart type</b>	0.002	17278 .162	602.3 19	0.032	1209 2.634	583.4 40	0.00 9	1021 9.369	322.22 8	0.005	7536.512	234.81 4	0.014	1627 9.271	663.99 8	/	/
<b>%CV</b>	0.1	3.9	3.9	0.9	3.1	4.4	0.3	2.7	2.5	0.1	2.0	1.9	0.4	4.4	5.4	/	/

Tr : Temps de rétention / Ar : Aire sous la courbe / Ht : Hauteur des pics / Abs : Absorbance

### I.2.2.3.3. Normes du test de dissolution

#### ➤ Comprimés :

Selon la Pharmacopée européenne-07, la pharmacopée Américaine-07 et la Pharmacopée britannique 07, les exigences du test de dissolution sont satisfaites, si les quantités de PA dissoutes à partir des Cp testés, sont conformes aux critères du tableau d'acceptation suivant (tableau ...). Il faut poursuivre l'essai de dissolution à travers les étapes E2 puis E3 si les résultats de l'essai ne sont pas conformes dès l'étape E1 puis E2.

**Tableau 22:** Critères d'acceptation du test de dissolution pour les Comprimés à libération conventionnelle et immédiate

Etapes du test de dissolution	Nombre de Comprimés testés	Critères d'acceptation
E1	6	- Pour chaque Comprimé, pas moins de $Q^* + 5\%$
E2	6	- Moyenne des 12 comprimés $(E1+E2) \geq Q$ et - Aucune unité n'a moins de $Q - 15\%$
E3	12	- Moyenne des 24 comprimés $(E1 + E2 +E3) \geq Q$ - Pas plus de 2 comprimés ayant moins de $Q -15\%$ - Aucune unité n'a moins de $Q - 25\%$

\* Q correspond à la quantité dissoute de PA, exprimée en pourcentage de la teneur indiquée sur l'étiquette. La valeur de Q est spécifiée dans les pharmacopées.

Selon la Pharmacopée britannique-07,  $Q = 75\%$ , pour un temps de dissolution de 45 minutes. Cela signifie que le test de dissolution est satisfaisant pour 6 Cp testés, si la teneur en PA dissoute en 45 minutes pour chacun des Cp est supérieure ou égale à 80%.

Dans la Pharmacopée américaine (USP-09), la valeur de Q est spécifiée dans la monographie de chaque PA. Pour l'amoxicilline Au moins 75% (Q) de la quantité d'amoxicilline est dissoute en 30 minutes, c'est ce qu'on a suivi dans notre étude.

La Pharmacopée européenne ne précise pas la valeur de Q. Elle semble cependant s'orienter vers l'acceptation des critères des pharmacopées américaine et britannique.

#### ➤ Gélules :

Selon la Pharmacopée Américaine 07: Au moins 80% (Q) de la quantité d'amoxicilline est dissoute en 60 minutes.

#### II.2.2.3.4. Pourcentage de dissolution des comprimés/gélules dans les six lots:

##### ➤ Clamoxyl :

**Tableau 23:** Résultats du test de dissolution en % des comprimés du clamoxyl

Numéro de dissolution	Q%
1	92,7385
2	103,7244
3	101,335
4	102,625
5	99,78
6	99,289
<b>MOY= 99,915</b>	

##### ➤ Générique GA1 :

**Tableau 24:** Résultats du test de dissolution en % des comprimés du GA1

Numéro de dissolution	Q%
1	87,3523
2	84,571
3	90,273
4	89,847
5	92,476
6	88,194
<b>MOY=88,786</b>	

##### ➤ Générique GA2 :

**Tableau 25:** Résultats du test de dissolution en % des comprimés du GA2

Numéro de dissolution	Q%
1	86,004
2	85,828
3	87,2
4	83,077
5	86,278
6	88,09
<b>MOY=86,080</b>	

➤ **Générique GA3:**

**Tableau 26:** Résultats du test de dissolution en % des comprimés du GA3

Nombre de dissolution	Q%
1	80,618
2	87,056
3	80,189
4	80,094
5	84,511
6	87,218
<b>MOY=83,069</b>	

➤ **Générique GA4 :**

**Tableau 27:** Résultats du test de dissolution en % des comprimés du GA4.

Numéro de dissolution	Q%
1	88,6491
2	85,074
3	85,0488
4	89,8645
5	84,1365
6	85,5371
<b>MOY=86,385</b>	

➤ **Générique GA5 :**

**Tableau 28:** Résultats du test de dissolution en % des gélules du GA5.

Nombre de dissolution	Q%
1	79,244
2	77,234
3	77,234
4	81,541
5	77,521
6	76,373
<b>MOY=78,191</b>	

### **I.3. Discussion :**

#### **I.3.1. Propriétés organoleptiques :**

Les 20 comprimés/gélules de chaque lot des génériques observés au cours du contrôle macroscopique présentent une uniformité d'aspect (couleur, forme, texture) et ne révèlent pas d'anomalies. On peut donc conclure que les lots contrôlés ne présentent pas de défauts de fabrication ou de conservation visibles à l'œil nu. Nos échantillons sont conformes.

#### **I.3.2. Propriétés pharmacotechniques :**

##### **➤ Interprétation des résultats de l'uniformité de masse par rapport aux normes :**

En comparant nos résultats aux normes, nous constatons que la masse individuelle des 20 comprimés/gélules de chaque lot sont inclus dans l'intervalle de conformité. On conclut alors, en se référant aux normes de la Pharmacopée Européenne-07 et de la Pharmacopée Britannique-07 que les lots contrôlés sont conformes aux normes de l'essai d'uniformité de masse.

##### **➤ Interprétation des résultats de désagrégation par rapport aux normes :**

Etant donné qu'au bout de 1 minute et 53 secondes de fonctionnement de l'appareil de désagrégation, on ne retrouve plus de résidus de comprimé d'amoxicilline sur la grille pour les lots de : Clamoxyl, GA1, GA2, GA3, GA4 (Comprimés dispersibles) et de 10 minutes et 21 secondes pour le lot GA5 (Gélules), on conclut en se référant aux normes de la Pharmacopée Européenne-07, la Pharmacopée Britannique-07 et de la Pharmacopée Américaine-07, que tous nos échantillons sont conformes.

##### **➤ Interprétation des résultats de désagrégation par rapport au médicament princeps :**

Le temps de désagrégation du médicament princeps « Clamoxyl » (40 secondes) ne présente pas de variation significative par rapport au temps des lots : GA1, GA2, GA3, GA4 (même forme galénique). On a conclu que ces génériques sont conformes par rapport au princeps.

##### **➤ Interprétation des résultats de la dissolution par rapport aux normes :**

En observant les résultats du test de dissolution sur 6 comprimés /gélules d'amoxicilline examinés pour chaque lot, nous avons constaté qu'au bout de 30 minutes pour les comprimés, tous les échantillons ont un pourcentage de dissolution supérieur à 80 % de la teneur théorique.

On a conclu en se référant à la Pharmacopée Américaine que les lots examinés ont satisfait au test de dissolution dès l'étape E1 pour le princeps et ses génériques.

➤ **Interprétation des résultats par rapport au médicament princeps :**

Le pourcentage du test de dissolution du médicament princeps est de 99,92%, cette valeur présente une variation non significative par rapport au pourcentage de tous les échantillons. On a conclu que les lots des génériques sont conformes par rapport au princeps.

Les résultats de notre étude comparative des propriétés pharmaco techniques des différents génériques sont en concordance avec l'étude de Mizanur et al publiée en 2019 [141].

L'objectif de cette étude était de comparer les différents paramètres physiques, notamment la dureté, la friabilité, le diamètre, l'épaisseur, le temps de désintégration, le test de dissolution et le dosage, afin d'évaluer et de caractériser la qualité des comprimés de cinq marques différentes de chlorhydrate de ciprofloxacine fabriquées par une entreprise pharmaceutique bangladaise. Les cinq marques de chlorhydrate de ciprofloxacine testées répondent aux spécifications de l'USP pour l'uniformité de la teneur, la variation de poids, la dureté, la friabilité, l'épaisseur, le diamètre, la désintégration et la dissolution. La quantité de chlorhydrate de ciprofloxacine active varie de 482,15 mg à 507,85 mg entre les produits. La dureté moyenne des produits varie de 4,76 kg/cm à 9,46 kg/cm respectivement. Toutes les marques ont montré un temps de désintégration de 7,0 à 12,2 minutes, tandis qu'elles ont montré une libération de 88,15% à 96,51% de l'ingrédient actif dans les 30 minutes du test de dissolution. Cela peut confirmer l'absorption du médicament dans le tractus gastro-intestinal pour un effet thérapeutique optimal. Cette étude permet de conclure que les produits de ciprofloxacine disponibles sur le marché pharmaceutique bangladais répondent aux paramètres de qualité pour satisfaire l'efficacité thérapeutique. [141]

Nos résultats sont également en harmonie avec ceux de Mazhar Rasool Shah publiés en 2019, dont l'objectif était de caractériser les paramètres physicochimiques (dureté, variation de poids, Friabilité, désintégration, dissolution, uniformité du contenu et dosage) de cinq marques différentes de comprimés de moxifloxacine 400 mg. [142] Les résultats des tests physiques et chimiques ont montré que toutes les marques de moxifloxacine étaient dans les limites spécifiées.

La quantité de moxifloxacin dans toutes les cinq marques était conforme à la spécification USP de pas moins de 80% à 45 minutes. De même, les valeurs de  $f_2$  pour M-2 (77,20), M-3 (69,56), M-4 (76,98) et M-5 (82,17) ont indiqué que toutes les marques étaient similaires à la marque de référence.

**Chapitre II :**  
**Analyse et caractérisation comparatives**  
**du principe actif, des impuretés et étude**  
**de stabilité**

## Chapitre II : Analyse et caractérisation comparatives du principe actif, des impuretés et étude de stabilité

### II.1. Matériel et Méthodes :

#### II.1.1. Matériel :

##### II.1.1.1. Appareillage :

- Anse de platine.
- Balance électrique.
- Agitateur magnétique.
- Pipettes (1ml, 5 ml...) avec poire.
- Fiole jaugée (500ml, 50 ml...).
- pH-mètre.
- Centrifugeuse.
- Pompe sous vide.
- Bain à Ultrason.
- Filtre jetable de 0.45µm.
- Système chromatographique HPLC.
- Spectrophotomètre UV Visible,
- Enceinte climatique
- Etalon de l'amoxicilline trihydraté de pureté de 98,5% et de teneur en eau de 13,14%.

##### II.1.1.2. Réactifs :

- Eau distillée
- Phosphate de potassium monobasique ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 0.02M
- Acétonitrile HPLC
- Hydroxyde de potassium (45%)
- Amoxicilline trihydrate SCR
- Cefadroxil SCR

## II.1.2. Méthodes :

### II.1.2.1. Identification et dosage du Principe actif :

#### Protocole opératoire :

L'identification d'un PA contenu dans un comprimé a pour but de s'assurer que ce dernier contient bien le PA spécifié par le fabricant. Par cet essai, il est possible de déceler des médicaments contrefaits par substitution du PA. [52] Le dosage du principe actif permet de s'assurer que la quantité moyenne du PA déterminée sur un certain nombre des comprimés d'un même lot, se trouve dans les limites de concentration exigées par les pharmacopées, pour obtenir l'effet thérapeutique désiré. Cet essai s'intéresse donc à la teneur moyenne du principe actif dans un nombre spécifié de comprimé.[52]

Les pharmacopées proposent dans la monographie de chaque préparation, une méthode analytique validée qui permet de doser le PA et ses impuretés avec spécificité et précision.

Dans notre étude on a suit la Pharmacopée Américaine 38, monographie (0260), la méthode la plus préconisée pour le dosage et l'identification de l'Amoxicilline Trihydratée est la Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).

Dans cette partie, les conditions et la composition du système chromatographique étaient les mêmes cités précédemment dans le test de dissolution.

#### Préparation du tampon phosphate de potassium monobasique à pH = 5 :

Une quantité de 6,8 g de phosphate de potassium monobasique ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) a été ajoutée à un flacon de 1000 ml, qui a ensuite été rempli avec de l'eau distillée. Ensuite, le pH a été ajusté à l'aide d'un pH-mètre à une valeur de  $5 \pm 0,1$  en utilisant de l'hydroxyde de potassium (KOH) à une concentration de 45%.

#### Préparation de la phase mobile :

1000 ml de la phase mobile a été préparée en mélangeant 40ml de l'acétonitrile avec 960 ml du tampon, selon la règle de 25 (1 :24).

$$\begin{array}{r} 1 : 24 \text{-----} \rightarrow 25\text{ml} \\ X \quad 42 : 96 \text{-----} \rightarrow 100\text{ml} \\ 3 : 960 \text{---} \rightarrow 1000\text{ml} \end{array}$$

### **Préparation de la solution Standard « Amoxicilline trihydratée pure » :**

Une quantité précise de 70 mg d'amoxicilline trihydratée a été pesée à l'aide d'une balance. Ensuite, elle a été ajoutée à 50 ml du tampon. Le mélange a été agité pendant 10 minutes, puis soumis à un bain à ultrasons pendant 20 minutes afin de faciliter la filtration ultérieure.

### **Préparation des échantillons :**

#### **➤ Clamoxyl :**

Un lot de 20 comprimés a été pris et pesé à l'aide d'une balance de précision appropriée afin de calculer ultérieurement le poids moyen (PM). Les comprimés ont été broyés pour obtenir une poudre fine. Ensuite, une quantité de 313 mg (correspondant à  $PM/4$ ) de cette poudre, équivalente à 250 mg d'amoxicilline, a été prélevée et dissoute dans 250 ml de tampon. Après avoir été agité pendant 10 minutes à l'aide d'un agitateur magnétique et exposé à un bain à ultrasons pendant 5 minutes, une partie de ce mélange a été centrifugée pendant 30 minutes, puis filtrée.

#### **➤ Le générique GA5 (gélules) :**

Les gélules ont été décapsulées pour extraire leur contenu, et une quantité de 317.4555 mg de poudre (équivalent à  $PM/2$ , où PM est le poids moyen) correspondant à 250 mg d'amoxicilline a été pesée. Cette quantité a été ajoutée à 250 ml de solvant. Ensuite, les étapes suivantes ont été réalisées de la même manière que pour le Clamoxyl.

#### **➤ Les génériques GA1, GA2, GA3, et GA4 (comprimés):**

Un comprimé (1000 mg) a été placé dans 1 L du tampon préalablement préparé. Le mélange a été laissé à dissoudre pendant 10 minutes dans l'agitateur magnétique, suivi de 20 minutes dans un bain à ultrasons. Par la suite, une portion de ce mélange a été centrifugée pendant 30 minutes, puis filtrée.

### **Expression des résultats :**

Pour le dosage du principe actif (PA) dans les comprimés prélevés, il est nécessaire de déterminer le pourcentage QPA de PA dans chaque échantillon de chaque lot.

La formule suivante est utilisée pour effectuer ce calcul.

$$QPA = \frac{Aech}{Astd} \times \frac{CS}{CE} \times \frac{Mm}{Du} \times T \times \frac{(100 - t)}{100}$$

Aech / Astd: Surface (HPLC), Absorbance (UV)

CS = mstd / Vstd×dilution

CE = mech / Vech

Mm: Poids moyen

D.u: Dosage unitaire

T : Titre du standard =98,5%

t : Titre en eau=13,14 %

### Validation de la méthode de dosage :

La fidélité d'une méthode correspond au degré d'accord (degré de dispersion) entre les résultats des mesures obtenues par l'analyse individuelle de plusieurs prélèvements d'un même échantillon homogène, prélevés dans des conditions prescrites.

La répétabilité est une expression de la fidélité de l'analyse lorsque celle-ci est reprise dans les mêmes conditions de réalisation, après un court intervalle de temps. La répétabilité est aussi désignée par fidélité intra-analyse La fidélité de la méthode de dosage sera jugée satisfaisante si pour chaque type de fidélité étudiée, les paramètres définis comme l'écart type ou le Coefficient de variation (CV) [RSD] restent inférieurs à une valeur maximale selon la méthode. [143]

### II.1.2.2. Etude comparative des profils d'impuretés entre les génériques et le princeps :

#### Substances apparentées de l'amoxicilline :

➤ **Conditions chromatographiques:** [52]

- Colonne : 250 X 4.6mm, C18 5µm.
- Débit: 1.0 mL/min.
- Volume d'injection: 50µL.
- Longueur d'onde: 254 nm

➤ **Préparation de la solution tampon :** dans un récipient de 3000 ml, dissoudre 20.4g potassium dihydrogène phosphate dans 750 ml d'eau purifiée puis ajuster le pH à 5.0 avec l'hydroxyde de sodium 0.1 N et compléter à 3000 mL avec de l'eau purifiée.

- **Phase mobile A** : Solution tampon pH 5.0 / acétonitrile pour HPLC (990/10 V/V).
- **Phase mobile B** : Solution tampon pH 5.0 / acétonitrile pour HPLC (800/200 V/V).

➤ **Gradient phase mobile :**

Temps (min)	Phase mobile A (% V/V)	Phase mobile B (% V/V)
0	92	8
10	92	8
35	0	100
50	0	100
65	92	8

- **Préparation de la solution standard A:** dissoudre 30 mg d'Amoxicilline trihydrate SCR dans la phase mobile A et diluer jusqu'à 50 mL de la phase mobile A.
- **Préparation de la solution standard B:** dissoudre 4 mg de cefadroxil SCR dans la phase mobile A et diluer jusqu'à 50 mL phase mobile A. Prendre 5 mL de cette solution et ajouter 5mL de la solution standard A, et diluer le mélange dans 100 mL de la phase mobile A.
- **Préparation de la solution standard C:** diluer 2mL de la solution standard A dans 20mL de la phase mobile A, puis diluer 5mL de cette solution dans 20mL de la phase mobile A.
- **Préparation de la solution échantillon :** dissoudre l'équivalent de 30 mg de d'Amoxicilline trihydrate dans 20 mL phase mobile A. (voir fichier Excel prise d'essai de l'échantillon)
- **Injection :**
  - Injecter 2 fois la solution standard B et 3 fois la solution standard C avec la phase mobile **isocratique** : phase mobile A / phase mobile B (92/8)
  - Injecter 2 fois la phase mobile A et 1 fois la solution échantillon avec la phase mobile **gradient** mentionnée dans le tableau ci-dessus.
- **Conformité du système :**

- La résolution entre le pic d'Amoxicilline et le pic du cefadroxil doit être supérieure ou égale à 2.0.
- Le RSD d'Amoxicilline ne doit pas dépasser 2.0%

➤ **Calcul :**

- Eliminer tous les pics obtenus dans le chromatogramme de la phase mobile A
- Eliminer tous les pics inférieurs à l'Aire sous le pic d'Amoxicilline trihydrate obtenu dans le chromatogramme de la solution standard C.
- Autres impuretés :

$$Q = \text{Air Imp} / \text{Air STD}$$

**Air Imp :** surface du pic de n'importe quelle impureté individuelle dans la solution échantillon

**Air STD :** surface du pic d'Amoxicilline trihydrate obtenu dans le chromatogramme de la solution standard C.

- **Critères d'acceptation : Q inférieur à 1.**

➤ **Les prises d'essai des échantillons à analyser :**

**Tableau 29:** Prise d'essai du Princeps Clamoxyl Français (F)

<b>P1</b>	1272,3	<b>F</b>
<b>P2</b>	1246,1	
<b>P3</b>	1243,7	
<b>Moyenne</b>	1254,0	mg
<b>Prise d'essai d'ech</b>	37,62	mg

**Tableau 30:** Prise d'essai du Princeps Clamoxyl Algérien (A)

<b>P1</b>	1220,5	<b>A</b>
<b>P2</b>	1204,7	
<b>P3</b>	1209,6	
<b>moyenne</b>	1211,6	mg
<b>prise d'essai d'ech</b>	36,35	mg

**Tableau 31:** Prise d'essai du générique GA1

<b>P1</b>	1955,9	<b>GA 1</b>
<b>P2</b>	1973,1	
<b>P3</b>	1950,4	
<b>moyenne</b>	1959,8	mg
<b>prise d'essai d'ech</b>	58,79	mg

**Tableau 32:** Prise d'essai du générique GA2

<b>P1</b>	1433,9	<b>GA 2</b>
<b>P2</b>	1433,1	
<b>P3</b>	[[4,1	
<b>moyenne</b>	1420,4	mg
<b>prise d'essai d'ech</b>	42,61	mg

**Tableau 33:** Prise d'essai du générique GA3

<b>P1</b>	1485,1	<b>GA 3</b>
<b>P2</b>	1485,1	
<b>P3</b>	1500,4	
<b>moyenne</b>	1490,2	mg
<b>prise d'essai d'ech</b>	44,71	mg

**Tableau 34:** Prise d'essai du générique GA4

<b>P1</b>	1458,9	<b>GA 4</b>
<b>P2</b>	1468,1	
<b>P3</b>	1475	
<b>moyenne</b>	1467,3	mg
<b>prise d'essai d'ech</b>	44,02	mg

**Tableau 35:** Prise d'essai du générique GA5

<b>P1</b>	641,5	<b>GA 5</b>
<b>P2</b>	614,2	
<b>P3</b>	607,4	
<b>moyenne</b>	621,03	mg
<b>prise d'essai d'ech</b>	37,26	mg

### **II.1.2.3. Etude comparative de la stabilité des génériques par rapport au princeps :**

La notion de stabilité des médicaments est un élément essentiel dans le domaine pharmaceutique. Il s'agit de garantir la qualité, la sécurité et l'efficacité des médicaments tout au long de leur cycle de vie, incluant leur fabrication, leur stockage, leur distribution et leur utilisation par les patients.

L'amoxicilline, l'un des médicaments les plus populaires en Algérie, est largement utilisée dans de nombreuses spécialités pharmaceutiques, qu'elles soient des produits princeps ou des génériques. La stabilité de l'amoxicilline est un paramètre crucial pour assurer sa performance pharmacologique et garantir sa durée de conservation.

Cependant, les études de stabilité réalisées dans le circuit scientifique algérien sont actuellement limitées en termes de couverture et de profondeur d'analyse. Dans cette perspective, notre étude vise à combler cette lacune en réalisant une évaluation approfondie de la stabilité de l'amoxicilline, en mettant l'accent sur cinq génériques spécifiques par rapport au médicament princeps de référence, le "Clamoxy".

Cette partie de notre étude a été menée dans un laboratoire de contrôle qualité, recherche et développement agréé par l'agence nationale des produits pharmaceutiques, garantissant ainsi la fiabilité et la validité des résultats obtenus. L'objectif principal de cette recherche est de fournir des données précises sur la stabilité comparée des génériques de l'amoxicilline par rapport au médicament princeps, en utilisant des conditions réelles et accélérées, permettant ainsi d'évaluer leur performance dans des situations pratiques. Ces résultats contribueront à une meilleure compréhension de la stabilité des génériques de l'amoxicilline sur le marché algérien.

Le personnel du laboratoire a été sensibilisé à l'importance de l'étude et a reçu des informations détaillées à cet égard. Des assurances ont également été fournies quant à la confidentialité des informations et des résultats recueillis, qui seront exclusivement utilisés à des fins scientifiques.

### II.1.2.3.1. Conditions de l'essai de stabilité :

**Tableau 36:** Conditions de stabilité en temps réel et accéléré

Type de stabilité	Conditions	Durée
Réelle	T°: 25°C ± 2°C HR : 60% ± 5%	5 mois
Accélérée	T°: 40°C ± 2°C HR : 75% ± 5%	5 mois

Après avoir récupéré les médicaments de l'enceinte, leur stabilité a été évaluée

### II.1.2.3.2. La stabilité physique :

Attestée par le maintien des propriétés physiques initiales, l'évolution de la stabilité physique repose sur un examen visuel destiné à vérifier l'état des blisters, à détecter les anomalies de la couleur, la forme, ou de l'aspect de la surface, et sur le maintien des propriétés pharmaco-techniques (uniformité de masse, tests de dissolution et de désagrégation).

#### II.1.2.3.2.1. Examen organoleptique :

L'état physique des blisters a été vérifié à l'œil nu, puis quelques comprimés / gélules ont été retirés de leur conditionnement pour s'assurer de l'homogénéité des caractères organoleptiques.

#### II.1.2.3.2.2. Contrôle pharmaco-technique :

##### II.1.2.3.2.2.1. Uniformité de masse :

Une série de 20 comprimés/gélules a été pesée, afin de déterminer le poids moyen d'un comprimé/gélule. Ensuite chaque comprimé/gélule a été pesé individuellement permettant ainsi la comparaison du poids individuel de chaque comprimé/gélule à celui du poids moyen. Cette étape est réalisée à T0 et T5.

**Expression des résultats :** On applique les formules suivantes pour déterminer les intervalles de conformité de masse :

- Valeur type ± 5% : Le poids des 20 comprimés  $M_n$  doit appartenir à l'intervalle  $[M_m - 5\% ; M_m + 5\%]$
- Passant vers la 2<sup>ème</sup> étape :  $M_n \pm 10\%$  : Le poids des 20 comprimés doit appartenir à l'intervalle  $[M_n - 10\% ; M_n + 10\%]$

#### II.1.2.3.2.2.2. Essai de désagrégation :

Nous avons suivi le même mode opératoire décrit précédemment toute en utilisant le même appareillage.

#### II.1.2.3.2.2.3. Test de dissolution :

Nous avons utilisé le même appareillage, mode et conditions opératoires de la dissolution et qui sont citées précédemment.

#### Expression des résultats :

Le pourcentage QPA de PA (amoxicilline) dissout à chaque instant de prélèvement du milieu de dissolution est calculé par la formule suivante:

- Pour Clamoxyl, GA1, GA2, GA3, GA4 on applique :

$$QPA = \frac{Aech}{Astd} \times \frac{CS}{CE} \times \frac{Mm}{Du} \times T \times \frac{(100 - t)}{100}$$

- Pour GA5 on applique :

$$QPA = \frac{DOech}{DOstd} \times \frac{CS}{CE} \times \frac{Mm}{Du} \times T \times \frac{(100 - t)}{100}$$

**DO ech** : densité optique à 230 nm de chaque solution à examiner de GA5.

**DO std** : densité optique à 230 nm du standard

#### II.1.2.3.3. Stabilité chimique :

La stabilité chimique des échantillons a été étudiée après une durée de 5 mois dans des conditions réelles et accélérées, par analyse chromatographique du PA.

Le dosage a été réalisé à temps initial T0 et à la fin de la période de mise des médicaments dans l'enceinte climatique à temps T5.

#### II.1.2.3.3.1. Identification du principe actif :

La méthode de référence utilisée pour le dosage et l'identification de l'amoxicilline trihydratée a suivi les directives de la monographie (0260) de la Pharmacopée Américaine 38. La Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) a été utilisée avec les mêmes conditions et la même composition de système chromatographique. Pour l'identification de l'amoxicilline, les spectres d'absorption dans l'ultraviolet-visible à 230 nm des solutions à examiner des comprimés du princeps et des génériques ont été comparés au spectre d'absorption

de l'amoxicilline dans l'ultraviolet-visible obtenu avec l'étalon de référence. Si les spectres sont superposables, cela indique la présence d'amoxicilline dans tous les échantillons. Le temps de rétention de l'amoxicilline a été déterminé en se référant au temps de rétention de la solution de référence.

#### **II.1.2.3.3.2. Dosage du principe actif :**

Les mêmes étapes et conditions opératoires du dosage du PA citées précédemment ont été utilisées.

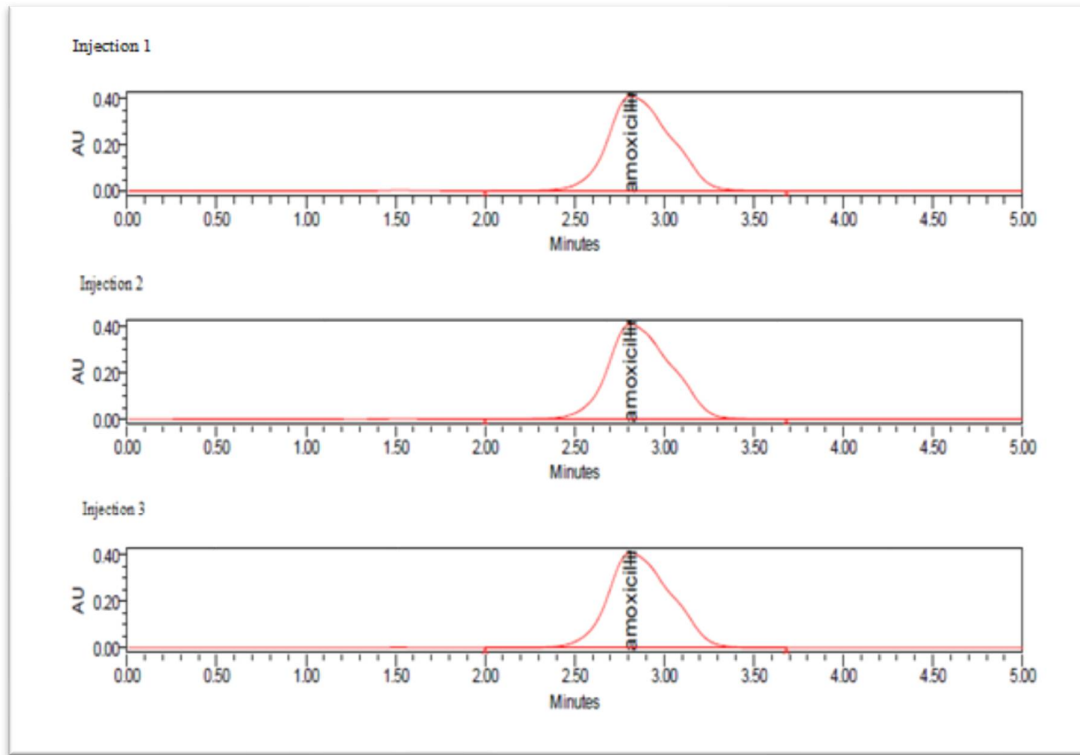
**Expression des résultats :** La même formule a été utilisée pour déterminer pour chaque lot le pourcentage QPA du PA dans chaque comprimé / gélule.

$$QPA = \frac{Aech}{Astd} \times \frac{CS}{CE} \times \frac{Mm}{Du} \times T \times \frac{(100 - t)}{100}$$

## II.2. Résultats :

### II.2.1. Identification et dosage du Clamoxyl :

Les chromatogrammes obtenus par HPLC sont regroupés dans la figure suivante :



**Figure 22:** Variation de l'aire sous la courbe selon les trois injections du Clamoxyl.

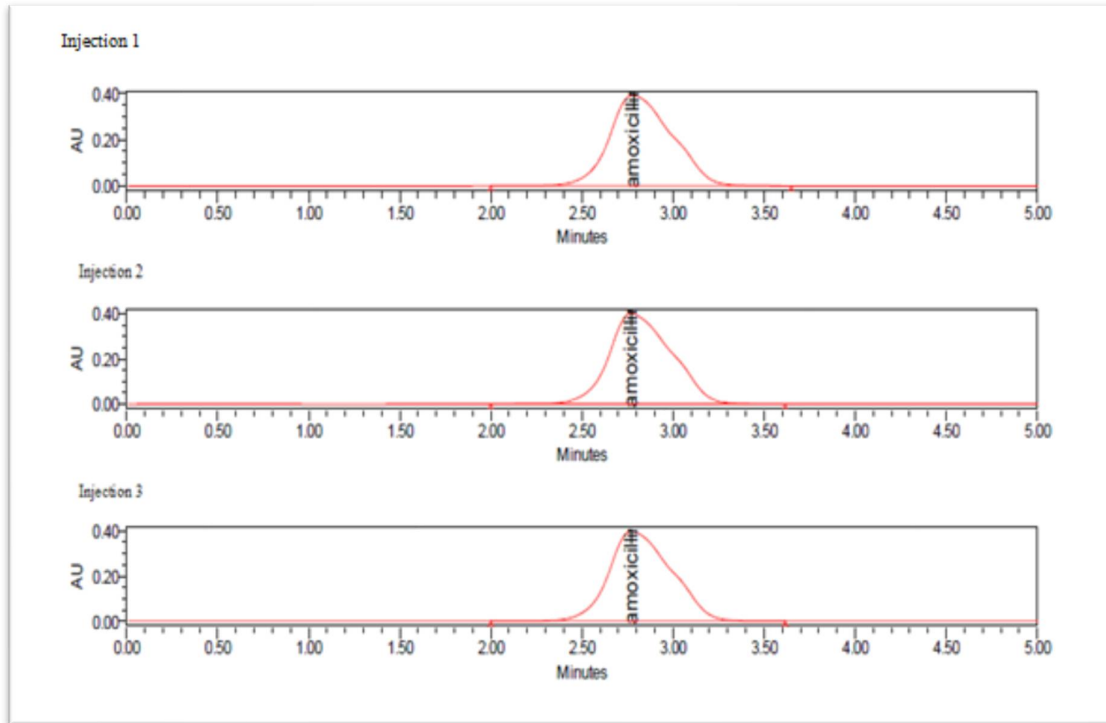
Les temps de rétention, les surfaces et les hauteurs des pics sont représentés dans le tableau suivant:

**Tableau 37:** Variation des surfaces et des valeurs de conformité du système selon les trois injections du Clamoxyl.

Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Height
Clamoxyl	2	1	W2489 ChA	Amoxi	2.818	10119329	410567
Clamoxyl	2	2	W2489 ChA	Amoxi	2.816	10095723	409123
Clamoxyl	2	3	W2489 ChA	Amoxi	2.815	10106263	409029
<b>Mean</b>					2.816	10107105.178	409572.911
<b>Std. Dev.</b>					0.001	11825.255	862.476
<b>% RSD</b>					0.0	0.1	0.2

### II.2.2. Identification et dosage du générique GA1 :

Les chromatogrammes obtenus par HPLC sont regroupés dans la figure suivante :



**Figure 23:** Variation de l'aire sous la courbe selon les trois injections du générique GA1.

Les temps de rétention, les surfaces et les hauteurs des pics sont représentés dans le tableau suivant:

**Tableau 38:** Variation des surfaces et des valeurs de conformité du système selon les trois injections du GA1.

Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Height
-GA1-	3	1	W2489 ChA	Amoxi	2.782	9372266	391154
-GA1-	3	2	W2489 ChA	Amoxi	2.775	9530712	398055
-GA1-	3	3	W2489 ChA	Amoxi	2.774	9583104	401271
<b>Mean</b>					2.777	9495360.402	396826.610
<b>Std. Dev</b>					0.004	109774.731	5169.523
<b>% RSD</b>					0.2	1.2	1.3

### II.2.3. Identification et dosage du générique GA2 :

Les chromatogrammes obtenus par HPLC sont regroupés dans la figure suivante :

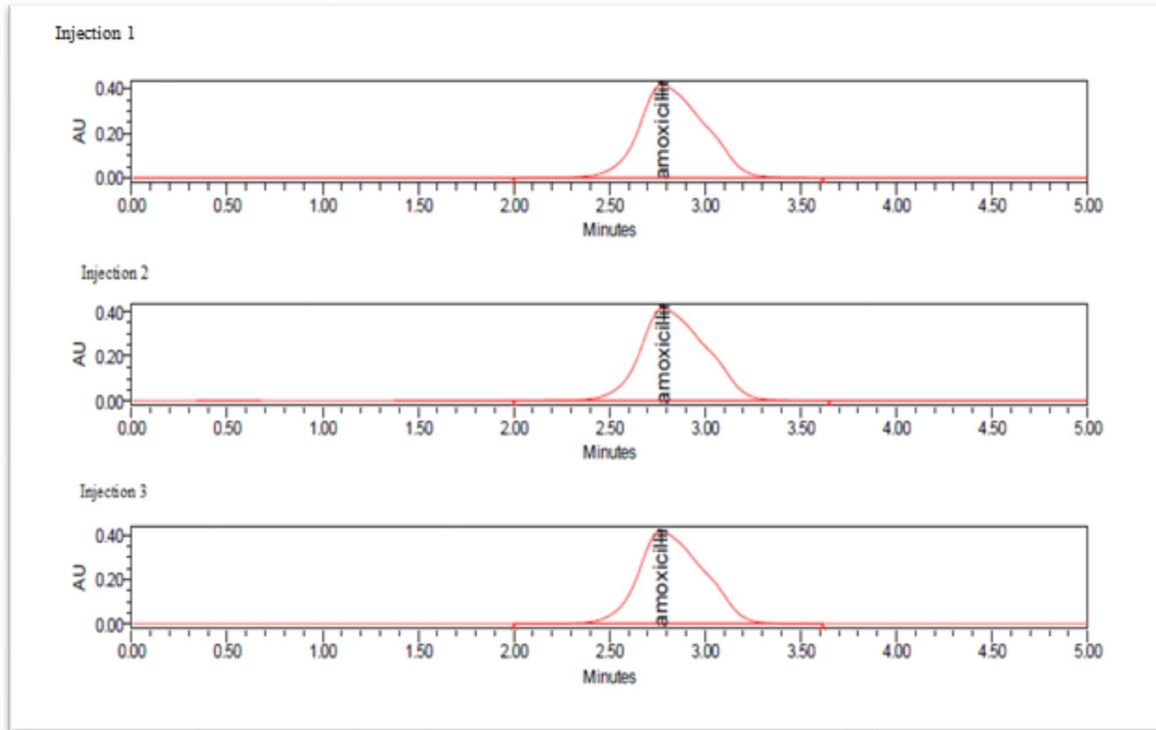


Figure 24: Variation de l'aire sous la courbe selon les trois injections du générique GA2.

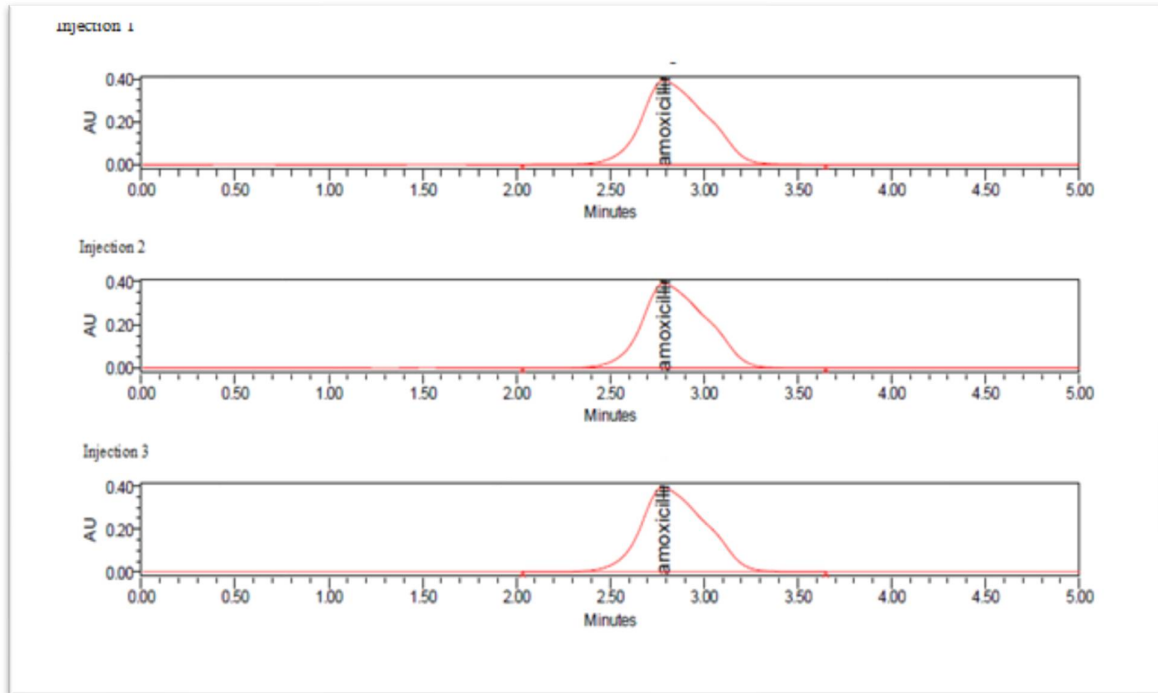
Les temps de rétention, les surfaces et les hauteurs des pics sont représentés dans le tableau suivant:

Tableau 39: Variation des surfaces et des valeurs de conformité du système selon les trois injections du GA2.

Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Height
-GA2-	4	1	W2489 ChA	Amoxi	2.773	9984457	417782
-GA2-	4	2	W2489 ChA	Amoxi	2.779	9969594	416795
-GA2-	4	3	W2489 ChA	Amoxi	2.784	9980189	414929
<b>Mean</b>					2.779	9978080.043	416501.572
<b>Std. Dev.</b>					0.005	7652.829	1448.913
<b>% RSD</b>					0.2	0.1	0.3

### II.2.4. Identification et dosage du générique GA3 :

Les chromatogrammes obtenus par HPLC sont regroupés dans la figure suivante :



**Figure 25:** Variation de l'aire sous la courbe selon les trois injections du générique GA3

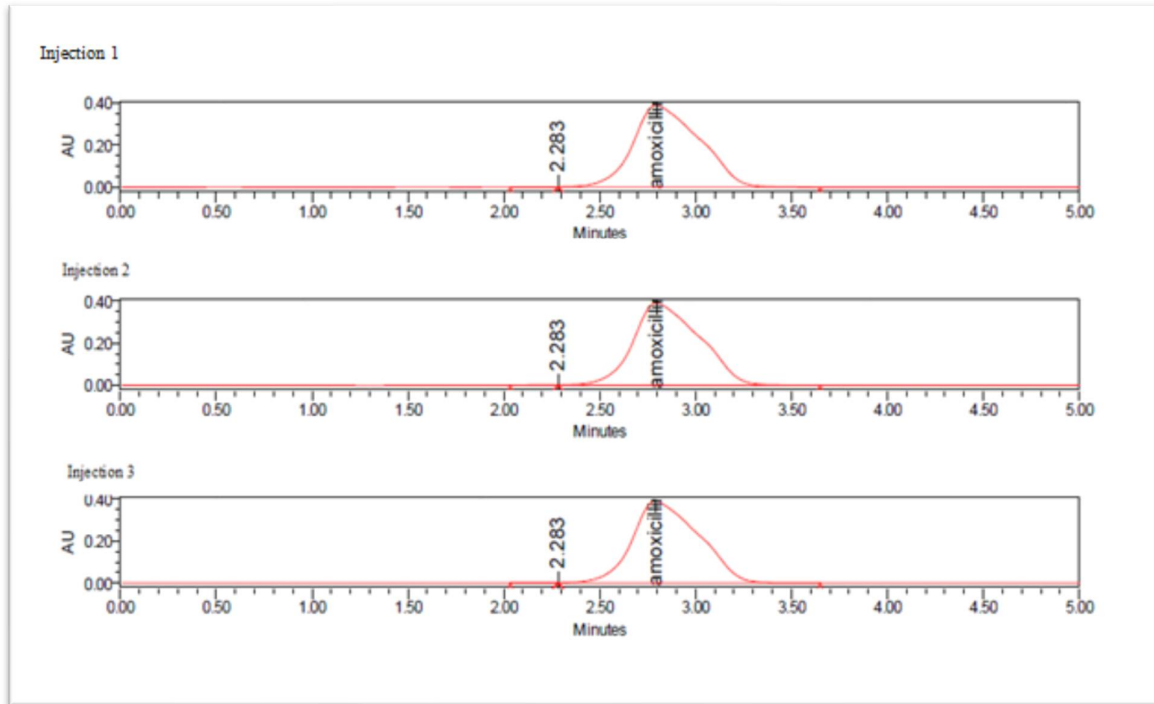
Les temps de rétention, les surfaces et les hauteurs des pics sont représentés dans le tableau suivant:

**Tableau 40:** Variation des surfaces et les valeurs de conformité du système selon les trois injections du GA3.

Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Height
-GA3-	5	1	W2489 ChA	Amoxi	2.787	9471945	393770
-GA3-	5	2	W2489 ChA	Amoxi	2.790	9472305	393800
-GA3-	5	3	W2489 ChA	Amoxi	2.791	9451335	392165
<b>Mean</b>					2.789	9465194.933	393245.115
<b>Std. Dev.</b>					0.002	12004.048	935.259
<b>% RSD</b>					0.1	0.1	0.2

### II.2.5. Identification et dosage du générique GA4 :

Les chromatogrammes obtenus par HPLC sont regroupés dans la figure suivante :



**Figure 26:** Variation de l'aire sous courbe selon les trois injections du générique GA4

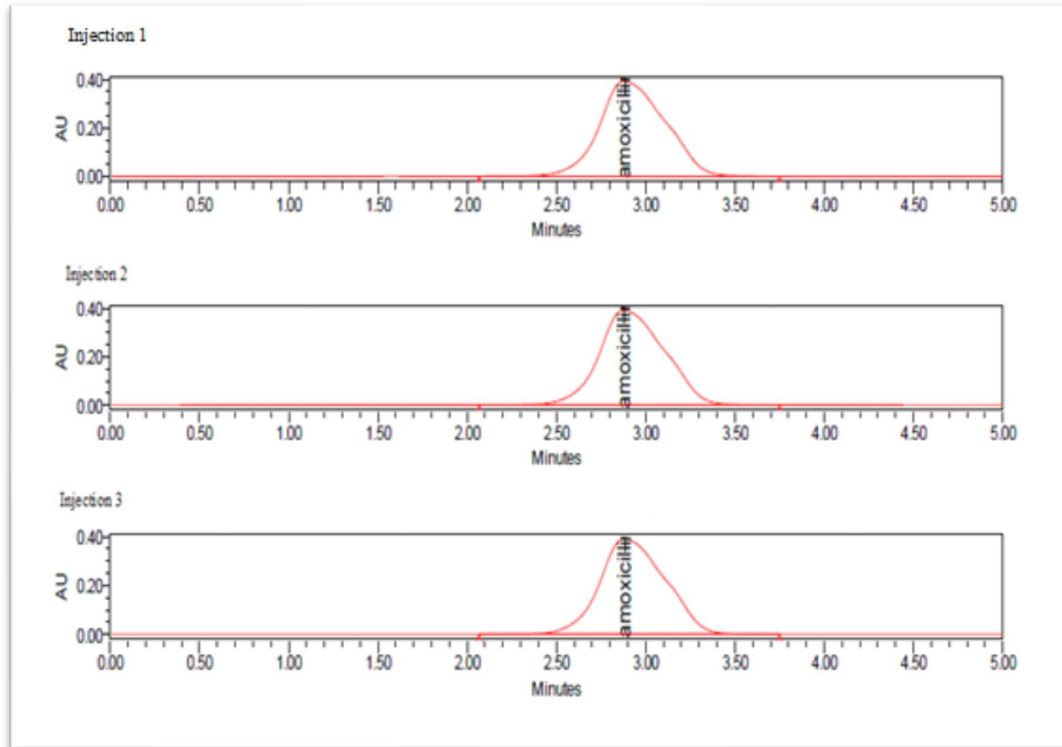
Les temps de rétention, les surfaces et les hauteurs des pics sont représentés dans le tableau suivant:

**Tableau 41:** Variation des surfaces et les valeurs de conformité du système selon les trois injections du GA4.

Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Height
-GA4-	6	1	W2489 ChA	Amoxi	2.793	9395651	390033
-GA4-	6	2	W2489 ChA	Amoxi	2.798	9382832	388503
-GA4-	6	3	W2489 ChA	Amoxi	2.799	9394255	389267
<b>Mean</b>					2.797	9390912.479	389267.641
<b>Std. Dev.</b>					0.003	7033.059	765.157
<b>% RSD</b>					0.1	0.1	0.2

### II.2.6. Identification et dosage du générique GA5 :

Les chromatogrammes obtenus par HPLC sont regroupés dans la figure suivante :



**Figure 27:** Variation de l'aire sous la courbe selon les trois injections du générique GA5 (gélules).

Les temps de rétention, les surfaces et les hauteurs des pics sont représentés dans le tableau suivant:

**Tableau 42:** Variation des surfaces et les valeurs de conformité du système selon les trois injections du GA5 (gélules).

Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Height
-GA5-	7	1	W2489 ChA	Amoxi	2.883	10058086	393137
-GA5-	7	2	W2489 ChA	Amoxi	2.885	10044691	390116
-GA5-	7	3	W2489 ChA	Amoxi	2.884	10122425	393914
<b>Mean</b>					2.884	10075067.402	392388.753
<b>Std. Dev.</b>					0.001	41556.103	2006.629
<b>% RSD</b>					0.0	0.4	0.5

### II.2.7. Résultats des dosages du PA dans chaque Comprimé /gélule pour les six lots (QPA):

**Tableau 43:** Variation des QPA en pourcentage pour les six lots.

LOTS	QPA %
<b>Clamoxyl</b>	102,65
<b>GA1</b>	96,77
<b>GA2</b>	101,69
<b>GA3</b>	96,95
<b>GA4</b>	96,20
<b>GA5</b>	103,2

#### Les Normes : [52,62]

Pour l'évaluation de la répétabilité, on trouve pour :

- **Temps de rétention** : RSD < 2% (Relative standard deviation).
- **L'aire sous la courbe** : RSD < 5%.

Pour l'identification de l'amoxicilline, les spectres d'absorption dans l'ultraviolet-visible à 230 nm obtenus avec les **solutions à examiner** des comprimés du princeps et ses génériques doivent être superposables au spectre d'absorption de l'amoxicilline dans l'ultraviolet-visible obtenu avec le standard, on pourra conclure que tous nos échantillons contiennent de l'amoxicilline.

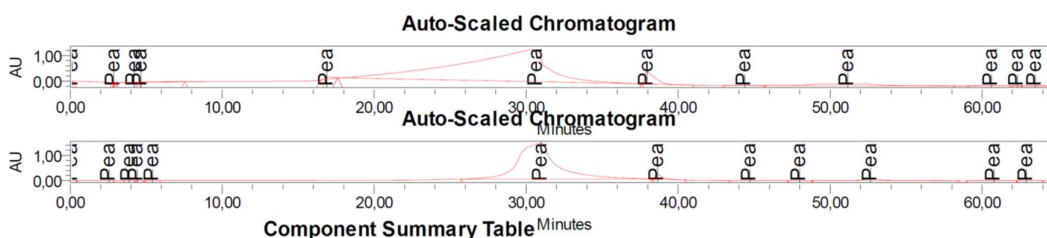
Le temps de rétention de l'amoxicilline est déterminé en se référant au temps de la solution de référence.

Quant au dosage, la pharmacopée Américaine préconise qu'un comprimé/gélule d'amoxicilline doit contenir pas moins de 90% et pas plus de 120% de la quantité d'amoxicilline indiqué.

### II.2.8. Résultats de l'étude comparative des profils d'impuretés des différents génériques par rapport au princeps :

**Tableau 44:** Chromatogrammes du Diluant phase mobile A

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Diluant phase mobile A	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Date Acquired:	19/04/2023 22:55:27 CET,
Vial:	1	Acq. Method Set:	sub app GRAD
Injection #:	1, 2	Date Processed:	21/05/2023 14:32:13 CET,
Injection Volume:	50,00 ul	Processing Method	diluant
Run Time:	65,0 Minutes	Channel Name:	W2489 ChA
Sample Set Name	sub app	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 254nm



Component Summary Table

Name: Peak1

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	Diluant phase mobile A	1	1	W2489 ChA	Peak1	0,117	375	6,871943e-001	
2	Diluant phase mobile A	1	2	W2489 ChA	Peak1	0,081	723	3,328123e+000	
Mean						0,099	549,418		
Std. Dev.						0,026	245,994		
% RSD						26,3	44,8		

Component Summary Table

Name: Peak10

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	Diluant phase mobile A	1	1	W2489 ChA	Peak10	60,617	64877	8,121479e-001	1,926374e+000
2	Diluant phase mobile A	1	2	W2489 ChA	Peak10	52,673	7133419	1,352901e+000	2,535216e+000
Mean						56,645	3599147,895		
Std. Dev.						5,617	4998214,323		
% RSD						9,9	138,9		

Component Summary Table

Name: Peak11

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	Diluant phase mobile A	1	1	W2489 ChA	Peak11	62,317	8400	8,675405e-001	1,350152e+000
2	Diluant phase mobile A	1	2	W2489 ChA	Peak11	60,783	101345	8,258069e-001	3,374938e+000
Mean						61,550	54872,621		
Std. Dev.						1,084	65721,800		
% RSD						1,8	119,8		

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method ID: 1817  
 Page: 1 of 3

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed: 21/05/2023  
 14:35:15 Africa/Algiers

**Component Summary Table**

**Name: Peak12**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	Diluant phase mobile A	1	1	W2489 ChA	Peak12	63,501	8671	9,715066e-001	1,187398e+000
2	Diluant phase mobile A	1	2	W2489 ChA	Peak12	62,917	48223	1,367356e+000	1,101656e+000
Mean						63,209	28447,100		
Std. Dev.						0,413	27967,037		
% RSD						0,7	98,3		

**Component Summary Table**

**Name: Peak2**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	Diluant phase mobile A	1	1	W2489 ChA	Peak2	2,875	140	6,958205e-001	1,889600e+001
2	Diluant phase mobile A	1	2	W2489 ChA	Peak2	2,559	10521	5,710549e-001	1,879770e+000
Mean						2,717	5330,490		
Std. Dev.						0,224	7339,940		
% RSD						8,2	137,7		

**Component Summary Table**

**Name: Peak3**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	Diluant phase mobile A	1	1	W2489 ChA	Peak3	4,230	640249	5,969634e-001	1,932322e+000
2	Diluant phase mobile A	1	2	W2489 ChA	Peak3	3,883	7601	8,316906e-001	9,344851e-001
Mean						4,057	323924,714		
Std. Dev.						0,245	447349,493		
% RSD						6,0	138,1		

**Component Summary Table**

**Name: Peak4**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	Diluant phase mobile A	1	1	W2489 ChA	Peak4	4,667	1914499	6,789723e+000	2,617415e-001
2	Diluant phase mobile A	1	2	W2489 ChA	Peak4	4,397	70998	1,779876e+000	1,337822e+000
Mean						4,532	992748,548		
Std. Dev.						0,191	1303551,756		
% RSD						4,2	131,3		

**Component Summary Table**

**Name: Peak5**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	Diluant phase mobile A	1	1	W2489 ChA	Peak5	16,900	3240057	1,233177e+000	7,339986e+000
2	Diluant phase mobile A	1	2	W2489 ChA	Peak5	5,433	10370	9,787071e-001	2,247635e+000
Mean						11,167	1625213,660		
Std. Dev.						8,108	2283733,864		
% RSD						72,6	140,5		

**Component Summary Table**

**Name: Peak6**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	Diluant phase mobile A	1	1	W2489 ChA	Peak6	30,671	501523869	6,969755e-001	2,765504e+000
2	Diluant phase mobile A	1	2	W2489 ChA	Peak6	30,984	253428045	1,165133e+000	1,141305e+001

Reported by User: System

Report Method: Multi Sample Summary

Report Method II 1817

Page: 2 of 3

Project Name: Amoxicilline

Date Printed:

21/05/2023

14:35:15 Africa/Algiers

**Component Summary Table  
Name: Peak6**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
Mean						30,827	377475956,891		
Std. Dev.						0,221	175430239,934		
% RSD						0,7	46,5		

**Component Summary Table  
Name: Peak7**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	Diluant phase mobile A	1	1	W2489 ChA	Peak7	37,957	22010482	3,756156e+000	1,454130e+000
2	Diluant phase mobile A	1	2	W2489 ChA	Peak7	38,650	6132685	2,985514e+000	3,279955e+000
Mean						38,303	14071583,554		
Std. Dev.						0,490	11227297,54€		
% RSD						1,3	79,8		

**Component Summary Table  
Name: Peak8**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	Diluant phase mobile A	1	1	W2489 ChA	Peak8	44,383	59438	9,514163e-001	3,835177e+000
2	Diluant phase mobile A	1	2	W2489 ChA	Peak8	44,712	100779	1,517941e+000	2,722447e+000
Mean						44,548	80108,311		
Std. Dev.						0,233	29232,775		
% RSD						0,5	36,5		

**Component Summary Table  
Name: Peak9**

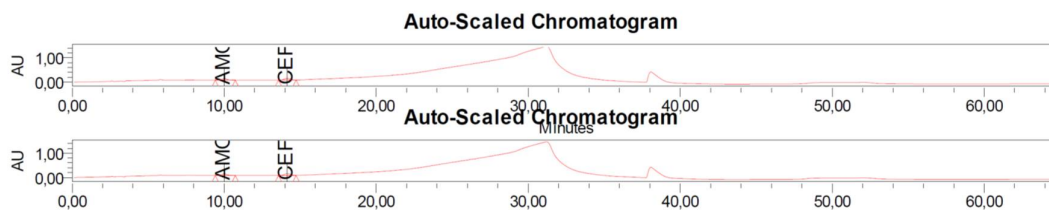
	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	Diluant phase mobile A	1	1	W2489 ChA	Peak9	51,150	20740250	1,169355e+000	1,386859e+000
2	Diluant phase mobile A	1	2	W2489 ChA	Peak9	47,988	14076	1,034254e+000	1,325538e+000
Mean						49,569	10377163,146		
Std. Dev.						2,236	14655618,334		
% RSD						4,5	141,2		

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method ID 1817  
 Page: 3 of 3

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed:  
 21/05/2023  
 14:35:15 Africa/Algiers

**Tableau 45:** Chromatogrammes du Standard de Référence B (Amoxicilline + Céfadroxil):

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	ref solution b	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Date Acquired:	19/04/2023 16:19:26 CET
Vial:	2	Acq. Method Set:	sub app
Injection #:	1, 2	Date Processed:	26/04/2023 09:29:06 CET,
Injection Volume:	50,00 ul	Processing Method:	REF B
Run Time:	65,0 Minutes	Channel Name:	W2489 ChA
Sample Set Name	sub app	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 254nm



**Component Summary Table**  
Name: AMOXICILLIN

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ref solution b	2	1	W2489 ChA	AMOXICILLIN	10,018	1378609	1,088352e+000	
2	ref solution b	2	2	W2489 ChA	AMOXICILLIN	10,018	1378611	1,088352e+000	
Mean						10,018	1378610,603		
Std. Dev.						0,000	0,001		
% RSD						0,0	0,1		

**Component Summary Table**  
Name: CEFADROXIL

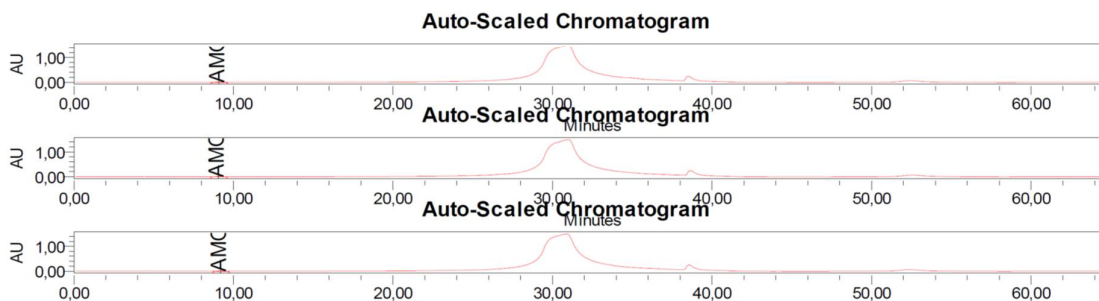
	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ref solution b	2	1	W2489 ChA	CEFADROXIL	14,137	1899634	1,111934e+000	6,717469e+000
2	ref solution b	2	2	W2489 ChA	CEFADROXIL	14,137	1899632	1,111934e+000	6,717469e+000
Mean						14,137	1899633,116		
Std. Dev.						0,000	0,000		
% RSD						0,0	0,1		

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method IL 1817  
 Page: 1 of 1

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed:  
 26/04/2023  
 11:25:43 Africa/Algiers

**Tableau 46:** Chromatogrammes du Standard de Référence C (Amoxicilline trihydrate)

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	ref solution c	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Date Acquired:	19/04/2023 18:31:57 CET,
Vial:	3	Acq. Method Set:	sub app
Injection #:	1, 2, 3	Date Processed:	26/04/2023 09:25:53 CET
Injection Volume:	50,00 ul	Processing Method	REF C
Run Time:	65,0 Minutes	Channel Name:	W2489 ChA
Sample Set Name	sub app	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 254nm



**Component Summary Table**  
Name: AMOXIICILLIN

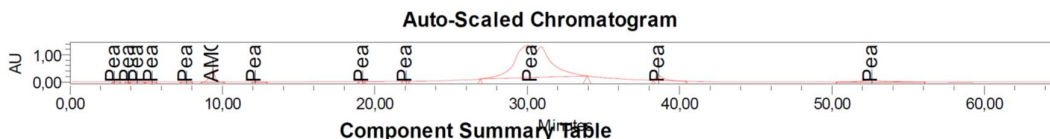
	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ref solution c	3	1	W2489 ChA	AMOXIICILLIN	9,481	698276	1,119300e+000	
2	ref solution c	3	2	W2489 ChA	AMOXIICILLIN	9,475	697699	1,112901e+000	
3	ref solution c	3	3	W2489 ChA	AMOXIICILLIN	9,451	698099	1,106870e+000	
Mean						9,402	698024,955		
Std. Dev.						0,070	591,826		
% RSD						0,8	0,1		

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method ID: 1817  
 Page: 1 of 1

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed: 26/04/2023  
 11:25:19 Africa/Algiers

**Tableau 47:** Profil des impuretés pour Princeps F (Clamoxyl Français)

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	ECH F: Clamoxyl francais	Acquired By:	System
Sample Type:	Standard	Date Acquired:	20/04/2023 01:07:39 CET
Vial:	4	Acq. Method Set:	sub app GRAD
Injection #:	1	Date Processed:	21/05/2023 14:25:43 CET
Injection Volume:	50,00 ul	Processing Method	ECH SUB APP
Run Time:	65,0 Minutes	Channel Name:	W2489 ChA
Sample Set Name	sub app	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 254nm



**Name: AMOXICILLIN**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH F: Clamoxyl francais	4	1	W2489 ChA	AMOXICILLIN	9,376	10338871	8,200425e-001	2,782148e+000
Mean						9,376	10338871,206		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak1**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH F: Clamoxyl francais	4	1	W2489 ChA	Peak1	2,909	26612	2,114282e+000	
Mean						2,909	26611,710		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak10**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH F: Clamoxyl francais	4	1	W2489 ChA	Peak10	30,278	190618663	1,073670e+000	3,862408e+000
Mean						30,278	190618662,503		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak11**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH F: Clamoxyl francais	4	1	W2489 ChA	Peak11	38,611	6111101	2,992682e+000	3,514183e+000
Mean						38,611	6111105,59		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method ID: 1817  
 Page: 1 of 3

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed:  
 21/05/2023  
 14:25:50 Africa/Algiers

**Component Summary Table  
Name: Peak12**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH F: Clamoxyl francais	4	1	W2489 ChA	Peak12	52,606	5927753	1,324410e+000	8,591311e+000
Mean						52,606	5927753,426		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak2**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH F: Clamoxyl francais	4	1	W2489 ChA	Peak2	3,817	1314	8,162931e-001	3,933005e+000
Mean						3,817	1314,415		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak3**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH F: Clamoxyl francais	4	1	W2489 ChA	Peak3	4,415	91695	1,060678e+000	2,299236e+000
Mean						4,415	91695,309		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak4**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH F: Clamoxyl francais	4	1	W2489 ChA	Peak4	5,391	27172	8,615115e-001	2,118894e+000
Mean						5,391	27171,658		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak5**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH F: Clamoxyl francais	4	1	W2489 ChA	Peak5	7,647	25238	9,664536e-001	3,582440e+000
Mean						7,647	25238,181		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak7**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH F: Clamoxyl francais	4	1	W2489 ChA	Peak7	12,156	234532	2,786206e+000	7,367367e+000
Mean						12,156	234531,727		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak8**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH F: Clamoxyl francais	4	1	W2489 ChA	Peak8	19,217	2055	7,335064e-001	2,658230e+001

**Component Summary Table  
Name: Peak8**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
Mean						19,217	2054,765		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak9**

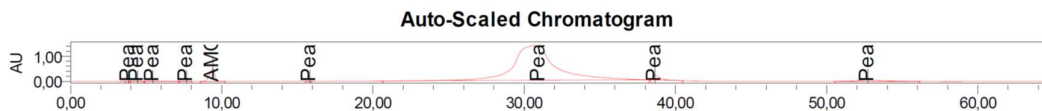
	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH F: Clamoxyl francais	4	1	W2489 ChA	Peak9	22,049	44348	9,021529e-001	7,620732e+000
Mean						22,049	44348,333		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method ID 1817  
 Page: 3 of 3

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed:  
 21/05/2023  
 14:25:50 Africa/Algiers

**Tableau 48:** Profil des impuretés pour Princeps A (Clamoxyl Algérien)

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	ECH A: Clamoxyl algerien	Acquired By:	System
Sample Type:	Standard	Date Acquired:	20/04/2023 02:13:46 CET
Vial:	5	Acq. Method Set:	sub app GRAD
Injection #:	1	Date Processed:	21/05/2023 14:19:11 CET
Injection Volume:	50,00 ul	Processing Method	ECH SUB APP
Run Time:	65,0 Minutes	Channel Name:	W2489 ChA
Sample Set Name	sub app	Proc. Chnl. Descr.:	W2489 ChA 254nm



**Component Summary Table**  
Name: AMOXICILLIN

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH A: Clamoxyl algerien	5	1	W2489 ChA	AMOXICILLIN	9,406	1168449€	8,082028e-001	2,691504e+000
Mean						9,406	11684498,962		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**  
Name: Peak1

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH A: Clamoxyl algerien	5	1	W2489 ChA	Peak1	3,833	2000	7,873137e-001	
Mean						3,833	2000,236		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**  
Name: Peak2

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH A: Clamoxyl algerien	5	1	W2489 ChA	Peak2	4,427	82619	1,047713e+000	2,344655e+000
Mean						4,427	82619,212		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**  
Name: Peak3

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH A: Clamoxyl algerien	5	1	W2489 ChA	Peak3	5,460	65839	6,532156e-001	2,310151e+000
Mean						5,460	65839,234		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method ID: 1817  
 Page: 1 of 2

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed: 21/05/2023  
 14:19:19 Africa/Algiers

**Component Summary Table**

**Name: Peak4**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH A: Clamoxyl algerien	5	1	W2489 ChA	Peak4	7,679	25890	8,752756e-001	3,563092e+000
Mean						7,679	25890,052		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak6**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH A: Clamoxyl algerien	5	1	W2489 ChA	Peak6	15,817	1997	7,434060e-001	1,383696e+001
Mean						15,817	1997,386		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak7**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH A: Clamoxyl algerien	5	1	W2489 ChA	Peak7	30,977	272599598	1,016563e+000	7,304332e+000
Mean						30,977	272599598,317		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak8**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH A: Clamoxyl algerien	5	1	W2489 ChA	Peak8	38,649	6260495	2,979765e+000	3,267829e+000
Mean						38,649	6260495,477		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

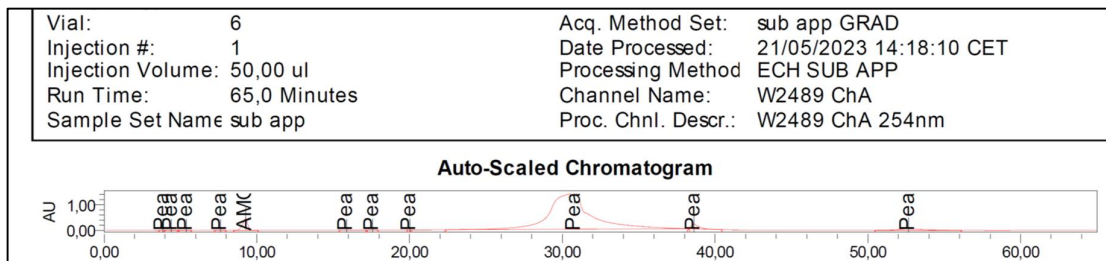
**Name: Peak9**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH A: Clamoxyl algerien	5	1	W2489 ChA	Peak9	52,733	5905189	1,302133e+000	8,993644e+000
Mean						52,733	5905188,510		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method ID: 1817  
 Page: 2 of 2

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed:  
 21/05/2023  
 14:19:19 Africa/Algiers

**Tableau 49:** Profil des impuretés pour Générique GA01



**Component Summary Table**  
Name: AMOXICILLIN

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 1: Amoxicilline EG	6	1	W2489 ChA	AMOXICILLIN	9,275	10529771	8,207953e-001	2,638342e+000
Mean						9,275	10529770,703		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**  
Name: Peak1

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 1: Amoxicilline EG	6	1	W2489 ChA	Peak1	3,842	3429	6,014091e-001	
Mean						3,842	3428,557		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**  
Name: Peak10

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 1: Amoxicilline EG	6	1	W2489 ChA	Peak10	38,609	6177794	2,975827e+000	3,492116e+000
Mean						38,609	6177794,189		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**  
Name: Peak11

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 1: Amoxicilline EG	6	1	W2489 ChA	Peak11	52,664	5857352	1,350728e+000	8,943247e+000
Mean						52,664	5857352,238		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method II 1817  
 Page: 1 of 3

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed: 21/05/2023  
 14:18:18 Africa/Algiers

**Component Summary Table  
Name: Peak2**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 1: Amoxicilline EG	6	1	W2489 ChA	Peak2	4,408	85188	1,075433e+000	2,008258e+000
Mean						4,408	85188,032		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak3**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 1: Amoxicilline EG	6	1	W2489 ChA	Peak3	5,394	31328	8,333464e-001	2,083974e+000
Mean						5,394	31328,061		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak4**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 1: Amoxicilline EG	6	1	W2489 ChA	Peak4	7,622	27582	9,512211e-001	3,419928e+000
Mean						7,622	27581,859		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak6**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 1: Amoxicilline EG	6	1	W2489 ChA	Peak6	15,883	41720	1,872062e+000	5,271644e+000
Mean						15,883	41720,316		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak7**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 1: Amoxicilline EG	6	1	W2489 ChA	Peak7	17,572	89096	1,018013e+000	1,391923e+000
Mean						17,572	89095,831		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak8**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 1: Amoxicilline EG	6	1	W2489 ChA	Peak8	20,017	351	8,334598e-001	6,806486e+000
Mean						20,017	350,866		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak9**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 1: Amoxicilline EG	6	1	W2489 ChA	Peak9	30,793	267190438	1,054626e+000	5,667432e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method ID: 1817  
 Page: 2 of 3

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed:  
 21/05/2023  
 14:18:18 Africa/Algiers

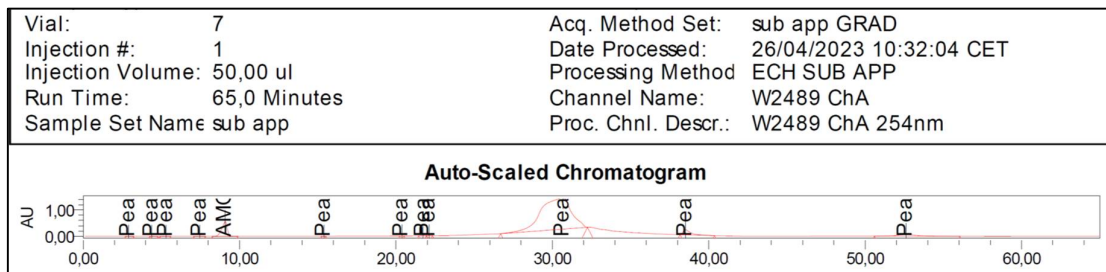
Component Summary Table  
Name: Peak9

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
Mean						30,793	267190438,390		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
Report Method: Multi Sample Summary  
Report Method I: 1817  
Page: 3 of 3

Project Name: Amoxicilline  
Date Printed:  
21/05/2023  
14:18:18 Africa/Algiers

**Tableau 50:** Profil des impuretés pour Générique GA02



**Component Summary Table**  
Name: AMOXICILLIN

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 2: Amodex (amox Sandoz)	7	1	W2489 ChA	AMOXICILLIN	9,082	13194501	7,870323e-001	2,559794e+000
Mean						9,082	13194500,953		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**  
Name: Peak1

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 2: Amodex (amox Sandoz)	7	1	W2489 ChA	Peak1	2,898	34884	1,510190e+000	
Mean						2,898	34883,785		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**  
Name: Peak10

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 2: Amodex (amox Sandoz)	7	1	W2489 ChA	Peak10	30,677	161037559	7,150389e-001	4,385822e+000
Mean						30,677	161037558,836		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**  
Name: Peak11

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 2: Amodex (amox Sandoz)	7	1	W2489 ChA	Peak11	38,516	6121214	2,972249e+000	3,514835e+000
Mean						38,516	6121213,688		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method II 1817  
 Page: 1 of 3

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed:  
 21/05/2023  
 14:22:29 Africa/Algiers

**Component Summary Table  
Name: Peak12**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 2: Amodex (amox Sandoz)	7	1	W2489 ChA	Peak12	52,612	5365994	1,451103e+000	9,033734e+000
Mean						52,612	5365994,450		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak2**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 2: Amodex (amox Sandoz)	7	1	W2489 ChA	Peak2	4,390	72285	1,733046e+000	5,670194e+000
Mean						4,390	72284,867		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak3**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 2: Amodex (amox Sandoz)	7	1	W2489 ChA	Peak3	5,314	23078	8,348554e-001	2,078022e+000
Mean						5,314	23077,724		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak4**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 2: Amodex (amox Sandoz)	7	1	W2489 ChA	Peak4	7,463	27395	9,262691e-001	3,385202e+000
Mean						7,463	27394,559		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak6**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 2: Amodex (amox Sandoz)	7	1	W2489 ChA	Peak6	15,417	310	7,716505e-001	1,499862e+001
Mean						15,417	310,135		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak7**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 2: Amodex (amox Sandoz)	7	1	W2489 ChA	Peak7	20,367	380	1,063415e+000	2,098455e+001
Mean						20,367	380,259		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak8**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 2: Amodex (amox Sandoz)	7	1	W2489 ChA	Peak8	21,733	25766	8,958391e-001	4,704137e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method ID 1817  
 Page: 2 of 3

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed:  
 21/05/2023  
 14:22:29 Africa/Algiers

**Component Summary Table  
Name: Peak8**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
Mean						21,733	25765,856		
Std. Dev.									
% RSD									

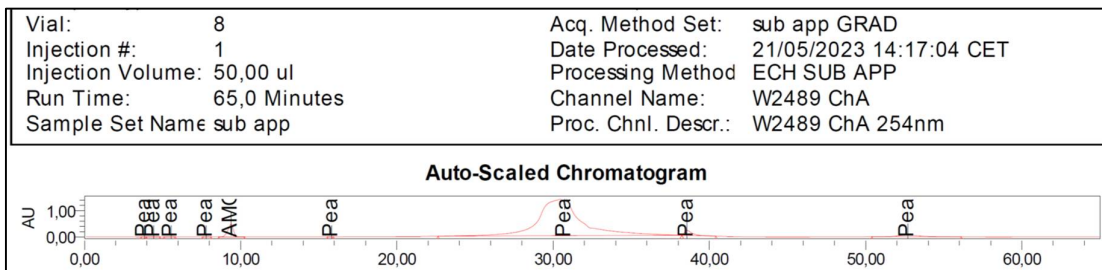
**Component Summary Table  
Name: Peak9**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 2: Amodex ( amox Sandoz)	7	1	W2489 ChA	Peak9	22,105	27920	1,140472e+000	1,149875e+000
Mean						22,105	27920,304		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method ID 1817  
 Page: 3 of 3

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed:  
 21/05/2023  
 14:22:29 Africa/Algiers

**Tableau 51:** Profil des impuretés pour Générique GA03



**Component Summary Table**

Name: AMOXICILLIN

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 3: Amoximex (Amoxyphen)	8	1	W2489 ChA	AMOXICILLIN	9,398	11675844	8,279143e-001	2,868049e+000
Mean						9,398	11675843,623		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

Name: Peak1

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 3: Amoximex (Amoxyphen)	8	1	W2489 ChA	Peak1	3,850	1428	7,265895e-001	
Mean						3,850	1427,746		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

Name: Peak2

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 3: Amoximex (Amoxyphen)	8	1	W2489 ChA	Peak2	4,435	76967	9,949461e-001	2,118677e+000
Mean						4,435	76966,677		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

Name: Peak3

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 3: Amoximex (Amoxyphen)	8	1	W2489 ChA	Peak3	5,550	24020	8,046467e-001	2,342816e+000
Mean						5,550	24020,341		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method ID: 1817  
 Page: 1 of 2

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed: 21/05/2023  
 14:17:13 Africa/Algiers

**Component Summary Table**

**Name: Peak4**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 3: Amoxicem (Amoxyphen)	8	1	W2489 ChA	Peak4	7,795	13552	1,180996e+000	4,012788e+000
Mean						7,795	13552,451		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak6**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 3: Amoxicem (Amoxyphen)	8	1	W2489 ChA	Peak6	15,817	1716	7,442756e-001	1,371005e+001
Mean						15,817	1715,766		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak7**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 3: Amoxicem (Amoxyphen)	8	1	W2489 ChA	Peak7	30,734	267240428	1,054503e+000	7,080884e+000
Mean						30,734	267240428,427		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak8**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 3: Amoxicem (Amoxyphen)	8	1	W2489 ChA	Peak8	38,573	6210803	2,938811e+000	3,291769e+000
Mean						38,573	6210802,809		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

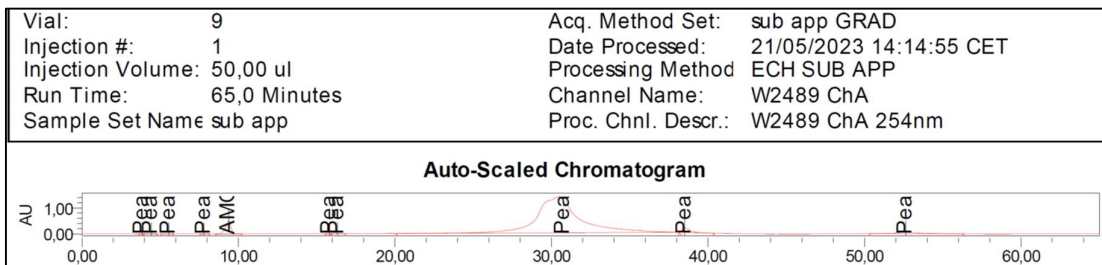
**Name: Peak9**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 3: Amoxicem (Amoxyphen)	8	1	W2489 ChA	Peak9	52,691	5946573	1,306932e+000	8,883637e+000
Mean						52,691	5946573,273		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method II 1817  
 Page: 2 of 2

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed:  
 21/05/2023  
 14:17:13 Africa/Algiers

**Tableau 52:** Profil des impuretés pour Générique GA04



**Component Summary Table**

Name: AMOXICILLIN

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 4: Amoxyphen	9	1	W2489 ChA	AMOXICILLIN	9,389	11751857	8,138184e-001	2,867111e+000
Mean						9,389	11751857,03E		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

Name: Peak1

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 4: Amoxyphen	9	1	W2489 ChA	Peak1	3,850	110E	7,658428e-001	
Mean						3,850	1107,59E		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

Name: Peak10

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 4: Amoxyphen	9	1	W2489 ChA	Peak10	52,655	6065199	1,354675e+000	8,758880e+000
Mean						52,655	6065198,676		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

Name: Peak2

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 4: Amoxyphen	9	1	W2489 ChA	Peak2	4,425	77884	1,067718e+000	2,213781e+000
Mean						4,425	77883,690		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method IL1817  
 Page: 1 of 2

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed: 21/05/2023  
 14:15:07 Africa/Algiers

**Component Summary Table  
Name: Peak3**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 4: Amoxyphen	9	1	W2489 ChA	Peak3	5,560	27524	7,924471e-001	2,311456e+000
Mean						5,560	27523,806		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak4**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 4: Amoxyphen	9	1	W2489 ChA	Peak4	7,809	14385	1,179844e+000	3,867200e+000
Mean						7,809	14385,343		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak6**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 4: Amoxyphen	9	1	W2489 ChA	Peak6	15,817	2216	7,419466e-001	1,401372e+001
Mean						15,817	2215,802		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak7**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 4: Amoxyphen	9	1	W2489 ChA	Peak7	16,336	107521	1,250586e+000	1,614014e+000
Mean						16,336	107521,294		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak8**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 4: Amoxyphen	9	1	W2489 ChA	Peak8	30,751	269260801	1,028408e+000	7,053280e+000
Mean						30,751	269260801,204		
Std. Dev.									
% RSD									

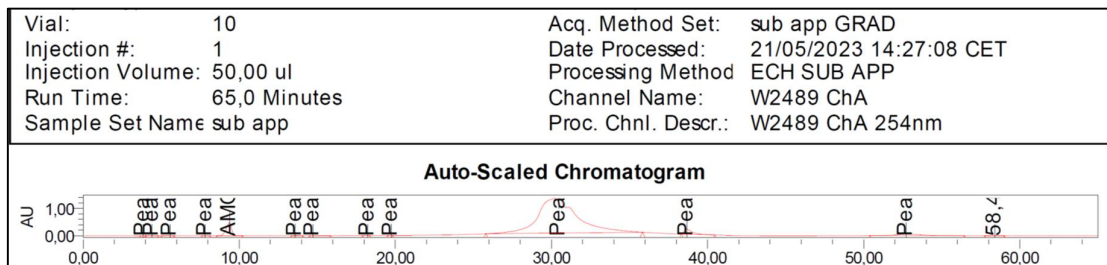
**Component Summary Table  
Name: Peak9**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 4: Amoxyphen	9	1	W2489 ChA	Peak9	38,521	6218892	2,967008e+000	3,347855e+000
Mean						38,521	6218892,107		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method II 1817  
 Page: 2 of 2

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed:  
 21/05/2023  
 14:15:07 Africa/Algiers

**Tableau 53:** Profil des impuretés pour Générique GA05



**Component Summary Table**

Name: AMOXICILLIN

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 5: Biopamox	10	1	W2489 ChA	AMOXICILLIN	9,377	11221976	8,185248e-001	2,840026e+000
Mean						9,377	11221975,536		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

Name: Peak 11

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 5: Biopamox	10	1	W2489 ChA	Peak 11	30,472	226466420	1,115857e+000	5,034569e+000
Mean						30,472	226466419,661		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

Name: Peak1

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 5: Biopamox	10	1	W2489 ChA	Peak1	2,909			
Mean						2,909			
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

Name: Peak10

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 5: Biopamox	10	1	W2489 ChA	Peak10	19,733	1276	7,670154e-001	4,548619e+000
Mean						19,733	1276,106		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method IL1817  
 Page: 1 of 3

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed: 21/05/2023  
 14:27:22 Africa/Algiers

**Component Summary Table**

**Name: Peak12**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 5: Biopamox	10	1	W2489 ChA	Peak12	38,669	6121988	2,895749e+000	3,360941e+000
Mean						38,669	6121988,380		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak13**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 5: Biopamox	10	1	W2489 ChA	Peak13	52,733	6023215	1,377900e+000	8,404787e+000
Mean						52,733	6023215,307		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak2**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 5: Biopamox	10	1	W2489 ChA	Peak2	3,850	2134	9,244504e-001	
Mean						3,850	2133,870		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak3**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 5: Biopamox	10	1	W2489 ChA	Peak3	4,418	78790	1,539782e+000	2,228450e+000
Mean						4,418	78789,995		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak4**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 5: Biopamox	10	1	W2489 ChA	Peak4	5,576	27391	7,512303e-001	2,426534e+000
Mean						5,576	27390,935		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak5**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 5: Biopamox	10	1	W2489 ChA	Peak5	7,834	12667	1,169229e+000	3,995005e+000
Mean						7,834	12667,036		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table**

**Name: Peak7**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 5: Biopamox	10	1	W2489 ChA	Peak7	13,602	136297	1,359209e+000	8,918694e+000

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method ID 1817  
 Page: 2 of 3

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed:  
 21/05/2023  
 14:27:22 Africa/Algiers

**Component Summary Table  
Name: Peak7**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
Mean						13,602	136296,559		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak8**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 5: Biopamox	10	1	W2489 ChA	Peak8	14,722	27933	3,069190e+000	2,351857e+000
Mean						14,722	27933,262		
Std. Dev.									
% RSD									

**Component Summary Table  
Name: Peak9**

	Sample Name	Vial	Inj	Channel	Name	RT	Area	Symmetry Factor	Resolution
1	ECH GA 5: Biopamox	10	1	W2489 ChA	Peak9	18,233	2848	7,285555e-001	6,952150e+000
Mean						18,233	2847,651		
Std. Dev.									
% RSD									

Reported by User: System  
 Report Method: Multi Sample Summary  
 Report Method ID 1817  
 Page: 3 of 3

Project Name: Amoxicilline  
 Date Printed:  
 21/05/2023  
 14:27:22 Africa/Algiers

**Détermination des impuretés :**

**Tableau 54:** Pics dans le diluant A

Peak1	0,117	375	Pics à éliminer tr < tm
	0,081	723	
Peak2	2,875	140	/
	2,559	10521	/
Peak3	4,230	640249	/
	3,883	7601	/
Peak4	4,667	1914499	/
	4,397	70998	/
Peak5	16,900	3240057	/
	5,433	10370	/
Peak6	30,671	501523869	/
	30,984	253428045	/
Peak7	37,957	22010482	/
	38,650	6132685	/
Peak8	44,383	59438	/
	44,712	100779	/
Peak9	51,150	20740250	/
	47,988	14076	/
Peak10	60,617	64877	/
	52,673	7133419	/
Peak11	62,317	8400	/
	60,783	101345	/
Peak12	63,501	8671	/
	62,917	48223	/

Selon le tableau ci-dessus, on constate qu'il n'y a aucun pic qui correspond au temps de rétention de l'amoxicilline.

**Tableau 55:** Les différents pics dans l'échantillon A - Clamoxyl Algérien

Substance	Temps de rétention (tr)	Aire sous la courbe (AUC)	Commentaires
AMOXICILLINE	9,406	11684499	/
Peak1	3,833	2000	imp < 1%
Peak2	4,427	82619	imp < 1% ; Pic présent dans le diluant
Peak3	5,460	65839	imp < 1% ;
Peak4	7,679	25890	imp < 1%
Peak6	15,817	1997	imp < 1%
Peak7	30,977	272599598	imp < 1%
Peak8	38,649	6260495	imp < 1%
Peak9	52,733	5905189	imp < 1%

- imp : impureté

**Tableau 56:** Les différents pics dans l'échantillon F - Clamoxyl Français

Substance	Temps de rétention (tr)	Aire sous la courbe (AUC)	Commentaires
AMOXICILLINE	9,376	10338871	/
Peak1	2,909	26612	imp < 1%
Peak2	3,817	1314	imp < 1%
Peak3	4,415	91695	imp < 1% Pic présent dans le diluant
Peak4	5,391	27172	imp < 1%
Peak5	7,647	25238	imp < 1%
Peak7	12,156	234532	imp < 1%
Peak8	19,217	2055	imp < 1%
Peak9	22,049	44348	imp < 1%
Peak10	30,278	190618663	Pic présent dans le diluant
Peak11	38,611	6111106	Pic présent dans le diluant
Peak12	52,606	5927753	Pic présent dans le diluant

**Tableau 57:** Les différents pics dans l'échantillon Générique GA01

Substance	Temps de rétention (tr)	Aire sous la courbe (AUC)	Commentaires
AMOXICILLINE	9,275	10529771	/
Peak1	3,842	3429	imp < 1%
Peak2	4,408	85188	imp < 1% ; Pic présent dans le diluant
Peak3	5,394	31328	imp < 1%
Peak4	7,622	27582	imp < 1%
Peak6	15,883	41720	imp < 1%
Peak7	17,572	89096	imp < 1%
Peak8	20,017	351	imp < 1%
Peak9	30,793	267190438	Pic présent dans le diluant
Peak10	38,609	6177794	Pic présent dans le diluant
Peak11	52,664	5857352	Pic présent dans le diluant

**Tableau 58:** Les différents pics dans l'échantillon Générique GA02

Substance	Temps de rétention (tr)	Aire sous la courbe (AUC)	Commentaires
AMOXICILLINE	9,082	13194501	/
Peak1	2,898	34884	imp < 1%
Peak2	4,39	72285	imp < 1% ; Pic présent dans le diluant
Peak3	5,314	23078	imp < 1%
Peak4	7,463	27395	imp < 1%
Peak6	15,417	310	imp < 1%
Peak7	20,367	380	imp < 1%
Peak8	21,733	25766	imp < 1%
Peak9	22,105	27920	imp < 1%
Peak10	30,677	161037559	Pic présent dans le diluant
Peak11	38,516	6121214	Pic présent dans le diluant
Peak12	52,612	5365994	Pic présent dans le diluant

**Tableau 59:** Les différents pics dans l'échantillon Générique GA03

Substance	Temps de rétention (tr)	Aire sous la courbe (AUC)	Commentaires
AMOXICILLINE	9,398	11675844	/
Peak1	3,850	1428	imp < 1%
Peak2	4,435	76967	imp < 1% ; Pic présent dans le diluant
Peak3	5,55	24020	imp < 1%
Peak4	7,795	13552	imp < 1%
Peak6	15,817	1716	imp < 1%
Peak7	30,734	267240428	Pic présent dans le diluant
Peak8	38,573	6210803	Pic présent dans le diluant
Peak9	52,691	5946573	Pic présent dans le diluant

**Tableau 60:** Les différents pics dans l'échantillon Générique GA04

Substance	Temps de rétention (tr)	Aire sous la courbe (AUC)	Commentaires
AMOXICILLINE	9,389	11751857	/
Peak1	3,85	1108	imp < 1%
Peak2	4,425	77884	imp < 1% ; Pic présent dans le diluant
Peak3	5,56	27524	imp < 1%
Peak4	7,809	14385	imp < 1%
Peak6	15,817	2216	imp < 1%
Peak7	16,336	107521	imp < 1%
Peak8	30,751	269260801	Pic présent dans le diluant
Peak9	38,521	6218892	Pic présent dans le diluant
Peak10	52,655	6065199	Pic présent dans le diluant

**Tableau 61:** Les différents pics dans l'échantillon Générique GA05

Substance	Temps de rétention (tr)	Aire sous la courbe (AUC)	Commentaires
AMOXICILLINE	9,377	11221976	/
Peak1	2,909	/	/
Peak2	3,85	2134	imp < 1%
Peak3	4,418	78790	imp < 1% ; Pic présent dans le diluant
Peak4	5,576	27391	imp < 1%
Peak5	7,834	12667	imp < 1%
Peak7	13,602	136297	imp < 1%
Peak8	14,722	27933	imp < 1%
Peak9	18,233	2848	imp < 1%
Peak10	19,733	1276	imp < 1%
Peak12	38,669	6121988	Pic présent dans le diluant
Peak13	52,733	6023215	Pic présent dans le diluant

## II.2.9. Résultats de l'étude comparative de la stabilité des différents génériques par rapport au princeps :

### II.2.4.1. Stabilité physique :

#### II.2.4.1.1. Examen organoleptique :

Les renseignements obtenus pour chacun des cinq lots du générique et du princeps sont indiqués dans le tableau suivant :

**Tableau 62:** Principaux caractères organoleptiques des échantillons

Echantillons	Les Paramètres: Couleur, forme, aspect de la surface
<b>Clamoxyl A</b>	Comprimés de forme ovale, blanc à blanc-cassé, avec une barre de cassure, gravés "1 g"
<b>GA1</b>	Comprimés de forme ovale, blanc à blanc-cassé, avec une barre de cassure
<b>GA2</b>	Comprimés de forme ovale, blanc à blanc-cassé, avec une barre de cassure
<b>GA3</b>	Comprimés de forme ovale, blanc à blanc-cassé, avec une barre de cassure
<b>GA4</b>	Comprimés de forme ovale, blanc à blanc-cassé, avec une barre de cassure
<b>GA5</b>	Gélules jaune et rouge lisse (onctueux)

#### Normes :

Au cours du contrôle macroscopique, les 20 comprimés /gélules de chaque lot doivent présenter une uniformité d'aspect et ne doivent pas révéler d'anomalies (cassures ou couleur / odeur anormale).

### II.2.4.1.2. Contrôle pharmaco-technique :

#### II.2.4.1.2.1. Uniformité de masse :

##### ➤ Les résultats en temps réel :

Le tableau ci-dessous indique les valeurs de la masse moyenne des 20 comprimés/gélules de chaque médicament ainsi que le nombre de comprimés/gélules sur 20, dont le poids est hors l'intervalle de  $\pm 5\%$  PM /  $\pm 10\%$  PM à T0 et T5.

**Tableau 63:** Résultats des mesures de la masse moyenne et l'uniformité de masse à T5

Echantillons	T5		
	Mm (mg)	Nb de comprimés/20 hors [Mm-5% ; Mm+5%]	Nb de comprimés/20 hors [Mm-10% ; Mm+10%]
<b>Clamoxyl</b>	1255,5	0	0
<b>GA1</b>	1956,1	0	0
<b>GA2</b>	1932,7	0	0
<b>GA3</b>	1555,7	0	0
<b>GA4</b>	1200,5	0	0
<b>GA5</b>	630,8	0	0

Normes : sont les mêmes citées précédemment

➤ **Les résultats en temps accéléré :**

Le tableau ci-dessous indique les valeurs de la masse moyenne des 20 comprimés/gélules de chaque médicament ainsi que le nombre de comprimés/gélules sur 20, dont le poids est hors l'intervalle de  $\pm 5\%$  PM /  $\pm 10\%$  PM à T0 et T5.

**Tableau 64:** Résultats des mesures de la masse moyenne et l'uniformité de masse à T5.

Echantillons	T5		
	Mm (mg)	Nbr de comprimés/20 hors [Mm-5% ; Mm+5%]	Nbr de comprimés/20 hors [Mm-10% ; Mm+10%]
<b>Clamoxyl</b>	1250,1	0	0
<b>GA1</b>	1958,6	0	0
<b>GA2</b>	1930,1	0	0
<b>GA3</b>	1550,3	0	0
<b>GA4</b>	1195,2	0	0
<b>GA5</b>	632,4	0	0

Normes : sont les mêmes citées précédemment

**II.2.4.1.2.2. Essai de désagrégation :**

➤ **Résultats en temps réel :**

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 65:** Résultats du test de désagrégation en temps réel à T5 des échantillons

Echantillons	Temps de désagrégation (s)
<b>Clamoxy-</b>	40 s
<b>GA1</b>	51 s
<b>GA2</b>	1 min 11 s
<b>GA3</b>	1 min 05 s
<b>GA4</b>	1 min 53 s
<b>GA5</b>	10 min 21 s

➤ **Résultats en temps accéléré:**

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 66:** Résultats du test de désagrégation en conditions accélérées à T5 des échantillons

Echantillons	Temps de désagrégation (s)
Clamoxyl	48 s
GA1	40 s
GA2	1 min 45s
GA3	1 min 05 s
GA4	1 min 52 s
GA5	12 min 05 s

Normes : les mêmes citées précédemment

**II.2.4.1.2.3. Test de dissolution:**

➤ **Résultats en temps réel :**

**Tableau 67:** Résultat de la dissolution des échantillons à T0 et T5 en temps réel

Echantillons	Dissolution (%) à T0	dissolution (%) à T5
Clamoxyl	99,92	97,31
GA1	88,79	87,39
GA2	86,08	88,03
GA3	83,07	85,04
GA4	86,39	84,33
GA5	78,19	80,03

➤ **Résultats en temps accéléré :**

**Tableau 68:** Résultat de la dissolution des échantillons à T0 et T5 en conditions accélérées

Echantillons	Dissolution (%) à T0	Dissolution (%)
Clamoxyl	99,92	95,34
GA1	88,79	85,91
GA2	86,08	84,58
GA3	83,07	80,64
GA4	86,39	80,61
GA5	78,19	82,19

Normes: sont les mêmes citées précédemment

### II.2.4.2. Stabilité chimique :

#### ➤ Résultats en temps réel :

**Tableau 69:** Résultats de dosage du PA des échantillons à T0 et T5 en temps réel.

Echantillons	Dosage du PA (%)		La variation de dosage de PA en (%)
	T0	T5	
<b>CLAMOXYL</b>	102,65	101,14	1.51
<b>GA1</b>	96,77	92,37	4.4
<b>GA2</b>	101,69	100,89	0.8
<b>GA3</b>	96,95	91,02	5.93
<b>GA4</b>	96,2	96,33	0
<b>GA5</b>	103,2	100,14	3.06

#### ➤ Résultats en temps accéléré :

**Tableau 70:** Résultat de dosage du PA des échantillons à T0 et T5 en conditions accélérées

Echantillons	Dosage du PA (%)		La variation de dosage de PA en (%)
	T0	T5	
<b>Clamoxyl</b>	102,65	98,34	4.31
<b>GA1</b>	96,77	93,38	3.43
<b>GA2</b>	101,69	94,39	7.3
<b>GA3</b>	96,95	88,39	8.56
<b>GA4</b>	96,2	94,09	2.11
<b>GA5</b>	103,2	92,94	10.26

**Normes:** sont les mêmes citées précédemment, ajoutant que le dosage de l'amoxicilline à T5 ne doit pas varier de plus de 5 %.

### **II.3. Discussion :**

En se référant aux résultats des 6 tableaux (38, 39 ; 40 ; 41 ; 42 et 43), on note que le CV (coefficient de variation) [RSD] du princeps et des génériques est inférieur à 2% pour le temps de rétention et inférieur à 5% pour l'aire sous la courbe. La fidélité de la méthode de dosage est donc satisfaisante.

#### **II.3.1. Identification et dosage du PA :**

➤ **Interprétation des résultats par rapport aux normes :**

Les résultats obtenus (Figures 23, 24, 25, 26, 27, 28 et tableaux 38, 39, 40, 41, 42 et 43) montrent que le spectre d'absorption à 230 nm de la solution à examiner des comprimés du princeps (Clamoxyl) et celui de la solution à examiner des comprimés/gélules des génériques, se superposent au spectre d'absorption de l'amoxicilline contenue dans la solution témoin de référence.

Le temps de rétention de la solution de référence (standard) est de 2 minutes et 48 secondes et il ne présente pas de variations significatives avec les temps de nos échantillons (variation de quelques secondes). On conclut alors que le lot du princeps et ceux des génériques contiennent de l'amoxicilline.

➤ **Interprétation des résultats par rapport aux normes :**

D'après la formule de calcul, et les résultats du tableau 44 représentant le pourcentage en amoxicilline du princeps [102,65%] et des génériques, nous avons constaté que tous nos échantillons ont un pourcentage en PA compris entre [90%-120%]. On conclut en se référant à la Pharmacopée américaine (USP) que le Clamoxyl et ses génériques ont satisfait au test de dosage.

➤ **Interprétation des résultats par rapport au médicament princeps :**

Le tableau 44 montre que le pourcentage d'amoxicilline dans le princeps « Clamoxyl » est de 102,65%, cette valeur présente une variation minime par rapport au pourcentage des génériques (96,77% ; 101,69% ; 96,95% ; 96,20% ; 103,2%). On a conclu que les lots des génériques sont conformes par rapport au princeps.

Nos résultats sont en concordance avec ceux conclus par Moawia M. Al-Tabakha et ses collaborateurs de la Faculté de pharmacie et des sciences de la santé, Université d'Ajman, il

s'agit entre autres d'une étude comparative des propriétés physicochimiques de cinq génériques de l'amoxicilline associée au clavulanate de potassium en comparaison avec le princeps. [144] L'objectif de cette étude publiée en 2017 était de déterminer si les comprimés d'amoxicilline commercialisés localement présentent les caractéristiques chimiques et physiques requises. Pour répondre à cette question, Cinq produits génériques (T1, T2, T3, T4 et T5) contenant une combinaison de trihydrate d'amoxicilline et de clavulanate de potassium en comprimés 1g, à libération immédiate ont été comparés au produit pharmaceutique de référence, Augmentin® sur le plan variation de poids, la friabilité, la résistance à l'écrasement et la teneur en amoxicilline.

Pour les tests de variation de poids et de friabilité des comprimés, les différents produits ont satisfait aux normes pharmacopées.

La variation de poids n'a pas dépassé 3,5 % et le pourcentage de perte de poids était nul pour tous les produits testés. Le poids moyen du comprimé le plus faible était celui du produit T4, qui différait de 137 mg du poids moyen le plus élevé du produit T5. Les résistances mécaniques des comprimés des différents produits étaient élevées, comme l'indiquent la friabilité et la résistance à la force d'écrasement.

La différence entre les forces nécessaires pour écraser les comprimés entre les valeurs moyennes les plus élevées et les plus faibles de R et T3 respectivement était d'environ 150 Newtons.

Le test statistique ANOVA a montré des différences significatives entre les différents produits en ce qui concerne le test de résistance à l'écrasement ( $p < 0,001$ ). Il s'agit notamment de différences significatives par rapport au produit de référence pour les produits: T1, T2 et T3 ( $p < 0,001$ ) et pour T5 ( $p < 0,0013$ ). [144]

Selon la même étude, La teneur en amoxicilline de tous les comprimés testés s'écartait de moins de 5% de la quantité indiquée sur l'étiquette du produit. Par conséquent, tous les génériques satisfont aux exigences de l'USP en matière de teneur chimique dont la fourchette de conformité est comprise entre 90 et 120 %. [144]

L'introduction de produits médicamenteux génériques provenant de plusieurs sources dans le système de santé de nombreux pays en développement peut entraîner la propagation de médicaments de qualité inférieure. La surveillance après commercialisation est très importante

pour assurer la qualité du produit, éliminer les médicaments de qualité inférieure et par conséquent, garantir de meilleurs résultats cliniques pour les patients.

Dans une étude récente publiée en 2020 par Haile Kassahun et al, portant sur l'évaluation in vitro de la qualité des comprimés génériques de ciprofloxacine disponibles dans les pharmacies communautaires de la ville de Dessie, dans le nord-est de l'Éthiopie, les chercheurs ont évalué la qualité de six comprimés génériques de chlorhydrate de ciprofloxacine 500 mg, en utilisant des tests de contrôle de qualité in vitro. Les tests de variation de poids, de désagrégation, de dissolution et de dosage des principes actifs ont été effectués conformément à la pharmacopée des États-Unis. Tous les comprimés génériques de chlorhydrate de ciprofloxacine ont été évalués pour leur conformité aux normes de la pharmacopée des États-Unis. Les résultats du test de variation de poids ont indiqué que tous les échantillons étaient conformes aux spécifications de la pharmacopée des États-Unis. Le pourcentage de contenu des comprimés génériques de ciprofloxacine était compris entre 90 et 110 % et le temps de désagrégation se situait entre 2,375 et 6,31 minutes. De plus, les comprimés génériques de ciprofloxacine ont libéré plus de 80 % du médicament en 30 minutes. Ainsi, tous les comprimés génériques de ciprofloxacine satisfaisaient aux paramètres de contrôle de qualité conformément aux spécifications de la pharmacopée des États-Unis.[145]

Dans le même contexte, une autre étude publiée en 2019 par Victor Anah et al [146], cette étude a été menée pour évaluer la qualité des comprimés de ciprofloxacine vendus dans la métropole d'Uyo, dans l'État d'Akwa Ibom, au Nigeria. L'analyse de quinze marques de comprimés de ciprofloxacine a été effectuée en testant les propriétés physiques suivantes: l'évaluation de l'uniformité de poids, la friabilité, la dureté, les tests de désintégration et de dissolution. L'analyse quantitative a été effectuée à l'aide d'une titration non aqueuse et d'une spectrophotométrie UV. Toutes les marques étaient conformes aux spécifications officielles d'uniformité de poids (dans les limites de 5%). Une des marques a échoué au test de friabilité (au-dessus de la norme officielle de 1%). Aucune des marques n'a échoué au test de désintégration (dans la spécification de 30 minutes). Le profil de taux de dissolution a révélé que trois des marques ne respectaient pas la spécification officielle (moins de 80% à 30 minutes). L'analyse titrimétrique non aqueuse a montré que dix marques étaient conformes aux spécifications officielles (BP 95-105; USP 90-110). Cinq marques ne respectaient pas la spécification officielle en ayant une puissance inférieure (moins de 90%). [146]

Ces quelques médicaments non conformes, lorsqu'ils sont utilisés en thérapie, peuvent entraîner une défaillance thérapeutique et donc conduire à une résistance d'où la nécessité que les agences de réglementation effectuent régulièrement une surveillance post-commercialisation.

Une troisième étude publiée en 2019 dont l'objectif était de déterminer la qualité ainsi que l'équivalence physico-chimique de neuf marques de comprimés de norfloxacine commercialisées à Jimma, en Éthiopie [147]. Dans cette étude, neuf marques de norfloxacine ont été soumises à des tests in vitro associés à la qualité de la forme posologique en comprimé, et les tests ont été réalisés selon les procédures décrites dans la Pharmacopée américaine (USP). Cette étude a montré que toutes les marques de norfloxacine étaient conformes à l'USP pour l'uniformité de poids, la friabilité, la dureté et l'analyse du principe actif. Cependant, deux des neuf marques évaluées n'ont pas réussi à libérer 80 % de leur contenu en médicament dans les 30 minutes comme indiqué dans l'USP. Toutes les marques étudiées étaient conformes à la spécification du test de dureté. De plus, différentes méthodes de comparaison de profils de dissolution ont prouvé la similitude du profil de dissolution de Negaflox et Norcin avec le produit comparateur (Trizolin). Les approches dépendantes des modèles mathématiques ont montré que les données de libération de médicament s'adaptent bien au modèle de libération de Weibull. Par conséquent, l'évaluation physico-chimique a montré que toutes les marques de norfloxacine respectaient les spécifications de qualité en ce qui concerne l'uniformité de poids, la dureté, la friabilité et l'analyse. En ce qui concerne le test de dissolution, deux marques de norfloxacine ne répondaient pas aux exigences pharmacopéiques spécifiées. [147]

Ces études citées ci-dessus évoquent l'existence d'un sérieux problème de qualité pharmaceutique de certains génériques d'antibiotiques à travers le monde. Ce problème de qualité peut être dû à des anomalies de fabrication, à une réglementation et un contrôle inadéquats, ainsi qu'à une falsification ou une contrefaçon intentionnelle de médicaments.

Le problème de la qualité des antibiotiques génériques est particulièrement préoccupant car il peut affecter le traitement des maladies infectieuses. Les antibiotiques de qualité inférieure ou contrefaits peuvent ne pas être efficaces dans le traitement des infections, entraînant une maladie prolongée, une résistance aux antibiotiques, voire la mort. Des dosages inadéquats d'antibiotiques peuvent également contribuer à l'échec du traitement et au développement de la résistance aux antibiotiques.

De plus, des antibiotiques de qualité inférieure peuvent exposer les patients à des impuretés toxiques, ce qui peut entraîner des effets secondaires nocifs. Cela peut être particulièrement dangereux pour les populations vulnérables telles que les enfants, les personnes âgées, les femmes enceintes et les personnes immunodéprimées.

Dans l'ensemble, le problème de la qualité pharmaceutique des antibiotiques génériques peut avoir des impacts négatifs significatifs sur la qualité des soins de santé. Il est essentiel que les organismes de réglementation effectuent une surveillance régulière après la mise sur le marché pour garantir que seuls des médicaments de haute qualité soient disponibles sur le marché. Les professionnels de la santé et les patients doivent également être conscients des risques potentiels associés aux antibiotiques de qualité inférieure et prendre des mesures pour les atténuer.

### **II.3.2. Etude comparative des profils d'impuretés :**

Selon nos résultats la conformité du système est vérifiée et notre système est conforme (La résolution entre le pic d'Amoxicilline et le pic du cefadroxil était supérieure ou égale à 2.0, et le RSD d'Amoxicilline n'a pas dépassé 2.0%).

Avant de procéder aux Calculs des taux des impuretés, nous avons éliminé tous les pics obtenus dans le chromatogramme de la phase mobile A, et éliminé tous les pics inférieurs à l'Aire sous le pic d'Amoxicilline trihydrate obtenus dans le chromatogramme de la solution standard C.

Nos résultats montrent que le taux des impuretés totales dans les princeps ainsi que dans les génériques ne dépasse pas le seuil recommandé par la 10<sup>ème</sup> édition de la pharmacopée européenne (Q inférieur à 1), par conséquent tous les médicaments testés (2 princeps et 5 génériques) sont conformes par rapport aux impuretés.

L'étude du profil des impuretés consiste à identifier et/ou doser les substances apparentées et les produits de dégradation du PA contenu dans les comprimés/gélules. 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 patient. Cet essai permet donc de :

- S'assurer que les teneurs en substances apparentées et produits de dégradation dans les comprimés/gélules, 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. [148]

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 ou bien des pelletes des gélules, 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 microorganismes.
- 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.[148]

Dans l'étude de Vesga O et al, sur la vancomycine, les génériques testés ne montrent pas tous une efficacité thérapeutique identique à celle du princeps sur l'infection à S aureus [8]. Or, les génériques étudiés sont similaires au princeps pour les paramètres pharmacocinétiques et les effets antibactériens in vitro (Concentration minimale inhibitrice: CMI, Concentration minimale bactéricide: CMB, rapport CMI sur CMB). La seule véritable différence réside dans la proportion de principe actif et d'impuretés. Le princeps est composé à 92% de principe actif (Facteur B) et il contient 4% d'impuretés (Cristalline Degradation Products : CDP-1) contre 84% maximum de substance active et deux à trois fois plus d'impuretés pour les génériques.[8]

Dans une étude de Jeancarolo Pereira dos Anjos et al, publiée en 2019, portant sur la détection des impuretés dans les médicaments génériques anti-infectieux au Brésil [149], les chercheurs ont utilisé la chromatographie liquide avec un détecteur à barrette de diodes couplé à la spectrométrie de masse pour détecter la présence d'impuretés organiques et déterminer la quantité d'ingrédient pharmaceutique actif (IPA) présent dans des antibiotiques et des

antifongiques représentatifs. Des impuretés possibles ont été détectées dans certains des médicaments génériques des deux classes de médicaments anti-infectieux. Aucune impureté n'a été détectée dans l'amoxicilline. Les composés 3'-N, N-Di (déméthyl) azithromycine (impureté E de l'azithromycine) et 3'-De(diméthylamino)-3'-céto azithromycine (impureté N de l'azithromycine) ont été détectés dans l'azithromycine générique. Pour l'itraconazole, les composés-cis-[2-(2,4-dichlorophényl)-2-(1H-1,2,4-triazol-4-yl-méthyl)-1,3-dioxolan-4-yl]méthylméthanesulfonate et trans-[2-(2,4-dichlorophényl)-2-(1H 1,2,4-triazol-1-yl-méthyl)-1,3-dioxolan-4-yl]méthylméthanesulfonate, ainsi qu'une troisième substance identifiée comme 2-(2-butyl)-4-{4-[4-(4-méthoxy-phényl)-pipérazin-1-yl]-phényl}-2,4-dihydro-[1,2,4]-triazol-3-one ont été détectés comme impuretés possibles. De manière intéressante, un pic supplémentaire a été noté dans le chromatogramme pour le fluconazole générique, en plus du pic de l'IPA ; cependant, aucune des impuretés connues du fluconazole n'a été identifiée. Les auteurs ont fini par conclure que des tests supplémentaires en plus des mesures de bioéquivalence peuvent être nécessaires pour évaluer la qualité des génériques après la mise sur le marché. Une telle surveillance de la qualité des génériques devrait être effectuée de manière routinière.

Le niveau d'impuretés dans les génériques d'amoxicilline peut affecter leur efficacité de plusieurs façons. Tout d'abord, les impuretés peuvent réduire la pureté et la puissance du principe actif, ce qui peut entraîner une activité antibactérienne et une efficacité inférieures du médicament générique. Deuxièmement, les impuretés peuvent interagir avec l'actif ou d'autres excipients dans la formulation, ce qui peut affecter la stabilité, la solubilité et la biodisponibilité du médicament. Troisièmement, les impuretés peuvent causer des réactions indésirables ou des effets toxiques, ce qui peut compromettre la sécurité et la tolérabilité du médicament.

Pour évaluer le niveau d'impuretés dans les génériques d'amoxicilline, plusieurs méthodes analytiques sont disponibles, telles que l'HPLC (chromatographie liquide haute performance), la CCM (chromatographie sur couche mince), la spectrophotométrie UV-Vis (ultraviolet-visible) et la chromatographie en phase gazeuse. Ces méthodes peuvent détecter et quantifier des impuretés telles que des produits de dégradation, des solvants résiduels et d'autres substances connexes.

Les autorités réglementaires ont établi des limites pour les impuretés dans les génériques d'amoxicilline, qui sont basées sur les niveaux maximums acceptables d'impuretés qui ne compromettent pas la qualité, la sécurité et l'efficacité du médicament.

Les limites pour les impuretés peuvent varier en fonction de la voie d'administration, de la forme posologique et de l'utilisation prévue du médicament. Par exemple, l'USP (Pharmacopée des États-Unis) et l'EP (Pharmacopée européenne) ont établi des limites pour les impuretés dans les capsules et les comprimés d'amoxicilline, qui comprennent des impuretés telles que l'ampicilline, les acides D-aminés et l'acide pénicilloïque.

Les limites pour ces impuretés sont généralement fixées à 0,2-0,5% pour chaque impureté et à 1,0% pour les impuretés totales.

**Evolution des exigences de la FDA en matière de recherche et de contrôle des impuretés dans les antibiotiques :**

Les médicaments génériques peuvent différer des médicaments de référence en raison de différences dans les ingrédients pharmaceutiques actifs (API), les voies de synthèse, les formules et les processus de fabrication. Par conséquent, des impuretés qui ne sont pas présentes dans les médicaments de référence peuvent apparaître dans les médicaments génériques. Ainsi, dans de nombreux pays, il est courant d'exiger que les impuretés nouvelles soient étudiées et contrôlées, en référence aux informations sur le contrôle des impuretés des médicaments de référence, conformément aux lignes directrices sur le contrôle des impuretés dans les médicaments chimiques. Dans la mesure du possible, les niveaux de ces nouvelles impuretés doivent être maintenus sous le seuil d'identification ou justifiés pour leur niveau de contrôle.[52,150]

Le département de la FDA responsable des médicaments génériques a mis en évidence les similitudes et les différences en termes d'impuretés entre les médicaments génériques et les médicaments princeps, soulignant l'importance de contrôler les impuretés dans le cadre du développement et l'évaluation des médicaments génériques[151]. La FDA suit principalement les principes de base suivants dans ce domaine: [152]

1. Les données sur les impuretés des médicaments princeps peuvent être obtenues à partir de publications telles que des données publiées par des auteurs, des monographies de l'USP, de l'EP et d'autres sources similaires.
2. Les directives techniques de l'ICH Q3A, l'ICH Q3B, et les documents "ANDA : Impuretés dans les substances médicamenteuses" et "ANDA : Impuretés dans les produits médicamenteux" peuvent être considérés comme des références principales.
3. Si un médicament est inclus dans l'USP, la monographie correspondante peut être considérée comme une référence primaire pour obtenir des informations sur les impuretés.
4. En effet, pour éviter que les médicaments génériques ne soient de qualité inégale, la FDA a proposé de mettre en place un référentiel des médicaments de référence en 1979 et a publié le premier catalogue de médicaments de référence (reference listed drug, RLD) en 1980, ou ce qu'on appelle "livre orange". Ce catalogue est mis à jour chaque année [153]. Dans la recherche d'impuretés dans les médicaments génériques, une comparaison s'impose de la formule et de la qualité entre les médicaments génériques et les RLDs du livre orange.
5. La FDA suggère qu'un arbre décisionnel de recherche d'impuretés soit utilisé pour étudier les impuretés des médicaments génériques.

### II.3.3. Etude comparative de la stabilité :

#### II.3.3.1. Stabilité physique :

##### Caractères organoleptiques :

Au cours du contrôle macroscopique, tous les échantillons testés, ont présenté une uniformité: de forme, de couleur, d'aspects et n'ont pas révélé d'anomalies, donc tous nos échantillons sont conformes.

##### Contrôle pharmaco-technique :

###### ➤ Uniformité de masse :

La masse moyenne de tous les échantillons n'a pas été modifiée au cours de l'étude (T0 à T5) et leur valeur en temps réel et accéléré est dans l'intervalle de conformité exigée. Tous nos échantillons sont conformes.

###### ➤ Essai de désagrégation :

Tous les 6 échantillons soumis à l'essai sont complètement désagrégés, au bout de 3 min pour les comprimés dispersibles (Princeps, GA1, GA2, GA3, GA4) et de 30 min pour les gélules (GA5). On a constaté aussi que le temps de désagrégation ne montre pas de variations significatives entre T0 et T5. Tous nos échantillons sont conformes.

###### ➤ Test de dissolution :

En observant les résultats du test de dissolution sur les 6 comprimés/gélules d'amoxicilline examinés pour chaque lot, nous avons constaté qu'au bout de 30 minutes, tous les échantillons ont eu un pourcentage de dissolution supérieur à 80% de la teneur théorique. On a conclu en se référant à la Pharmacopée que les échantillons examinés ont satisfait aux normes.

De T0 à T5 nos échantillons ont conservé leur pourcentage de dissolution tout au long de l'étude.

#### II.3.3.2. Stabilité chimique :

###### ➤ Dosage de PA en temps réel :

Les résultats du tableau 70 montrent qu'à T0 et à T5, le dosage de PA dans tous nos échantillons se trouve dans l'intervalle de conformité [90%-120%], aucun produit alors n'est surdosé ou sous-dosé. La comparaison entre des résultats de chaque échantillon testé entre T0 et T5 montre une légère modification dans la teneur du PA pour le « Clamoxyl » et les génériques GA1 GA2 GA4 et GA5, les valeurs sont comprises entre (0% et 4%) < 5% et donc nous pouvons conclure

que la stabilité de ces médicaments en conditions réelles n'est pas altérée, mais on ne peut juger leur qualité globalement.

En revanche, pour le générique GA3 on note un pourcentage de modification = (5.93%) > 5%, une telle baisse, signifie que le produit n'est pas stable chimiquement. Cette altération peut être justifiée par une dégradation du PA suite à des mauvaises conditions de stockage, à une contamination bactérienne ou à une formulation inadéquate du produit.

Cette diminution de dosage en PA peut avoir des conséquences sur l'efficacité du médicament, une diminution de pouvoir antibactérien et donc une résistance bactérienne pourront avoir lieu. Un risque de toxicité aussi peut survenir, si des impuretés et des produits de dégradation seront détectés à des doses supérieures aux normes, mais rien ne peut être pris comme conclusion finale. D'où la nécessité des tests supplémentaires (un dosage microbiologique à T5, dosage d'impuretés et produits de dégradation, ...) sont indispensables pour évaluer l'impact et les conséquences de cette baisse.

Ainsi, la durée de validité de ce produit, ses conditions de stockage et sa formulation sont à vérifier.

L'ordre des produits en conditions réelles, du plus stable vers le moins stable, est le suivant : GA4 ; GA2 ; « Clamoxyl » ; GA5 ; GA1 ; GA3.

➤ **Dosage de PA en conditions accélérées :**

Selon les résultats du tableau 71, il est clair que pour le Clamoxyl et les génériques : GA1 ; GA2 ; GA4 ; GA5 le pourcentage de PA à T5 est dans l'intervalle de conformité [90% - 120%] ils sont donc tous conformes en terme de teneur en PA.

Le générique GA3, par contre, se trouve à T5 avec un pourcentage de 88.39% < 90%, il est donc non conforme.

Pour la stabilité de teneur en PA entre T0 et T5, on note une diminution pour tous les échantillons, elle est cependant < à 5% pour le « Clamoxyl » et les génériques GA1 et GA4. La stabilité chimique de ces produits est, alors démontrée, mais, on ne peut juger leur sécurité sans un dosage des impuretés et des produits de dégradation.

Par contre, cette diminution de PA dans les génériques GA2 ; GA3 ; GA5 est supérieure à 5%. Ces génériques ne sont pas donc stables chimiquement. La baisse est importante et elle arrive jusqu'à 10.26% pour GA5, cela peut être expliqué par une importante dégradation de PA ou

une contamination bactérienne de produit. Par conséquent, la sécurité et l'efficacité de ces produits sont à redouter.

Une étude « intermédiaire » doit être lancée pour ces 3 génériques, et s'ils couvrent 6 mois de stabilité en intermédiaire plus les 12 mois en temps réel, 18 mois de validité leurs seront accordés.

En conditions de stress, l'ordre des génériques du plus stable vers le moins stable est : GA4 ; GA1 ; « Clamoxyl » ; GA2 ; GA3 ; et GA5.

**On conclut donc que :**

- Les génériques GA2 et GA5 sont stables dans les conditions réelles, mais pas en conditions accélérées à température et humidité élevées. Une vérification des conditions de stockage, de la formulation et de la qualité de la matière première est recommandée.
- Le « Clamoxyl » ; GA1 et GA4 sont stables dans les deux types d'étude.
- Le générique GA3 est, par contre, instable dans les deux types d'études de stabilité.

**II.3.3.3. Interprétation des résultats par rapport au princeps :**

**La stabilité physique :**

La stabilité physique des génériques en conditions réelles et/ou en conditions accélérées ne varie pas significativement de celle du « Clamoxyl ».

Néanmoins, on note qu'à T0 comme à T5 la désagrégation de « Clamoxyl » est plus rapide que tous les autres génériques « comprimés ». Les résultats les plus proches sont ceux du générique GA2.

De plus, la dissolution de « Clamoxyl » est pratiquement totale au bout de 30 min, les valeurs sont entre (95% et 99%), pour les autres génériques le pourcentage de dissolution est entre 80% et 87%. La comparaison ponctuelle n'a pas grand intérêt, une comparaison des profils de dissolution est plus pratique, et peut servir comme critère de jugement de l'efficacité des génériques, et la possibilité d'interchangeabilité des génériques avec le Clamoxyl ou entre eux.

### La stabilité chimique :

En comparant les résultats de dosage des génériques par rapport au princeps on observe que :

- Le générique GA1 en conditions réelles est moins stable que le princeps, mais plus stable que lui en conditions accélérées avec un pourcentage de diminution de PA de 3.43% contre 4.31%.
- Le générique GA2 est plus stable que le princeps en conditions réelles avec 0.8% contre 1.51% ; mais il n'est pas stable en conditions accélérées. Par contre le GA5 est en conditions réelles moins stable que le princeps avec une variation de dosage de PA de 3.06% contre 1.51% pour le « Clamoxyl ». C'est aussi le générique le moins stable en condition de stress.
- Le générique GA3 n'est pas stable dans les deux conditions.
- Il convient de noter que le pourcentage de diminution du dosage de PA entre T0 et T5 pour GA4 est inférieur à celui du princeps avec : (0,8 %) pour GA4 contre (1,51%) pour le « Clamoxyl » en conditions réelles et (3,43%) contre (4,31%) en conditions accélérées. Ainsi, le générique GA4 est plus stable que le princeps dans les deux conditions d'étude. Il est aussi le médicament le plus stable parmi les produits testés dans notre travail.

### On conclut ainsi que :

- En conditions de stabilité réelles : les génériques GA4 et GA2 sont plus stables chimiquement que le princeps, et GA1 GA3 GA5 sont moins stables que lui dans les mêmes conditions.
- De l'autre côté, et en conditions accélérées : GA1 et GA4 sont plus stables que le princeps, et GA2 ; GA3 et GA5 sont moins stables que lui.
- Le générique GA4 est plus stable que le « Clamoxyl » dans les deux types d'étude de stabilité. Il est fortement probable que ce générique soit interchangeable avec le princeps.

**Chapitre III :**  
**Etude de Bioéquivalence in vitro**  
**(cinétiques de dissolution)**

## Chapitre III : Etudes de Bioéquivalence in vitro (cinétiques de dissolution)

### III.1. Matériel et méthodes :

#### III.I.1. Matériel :

##### III.1.1.1. Appareillage :

- Dissolutest à 12 postes (à paniers et à palettes).
- Balance analytique (OHANUS).
- pH mètre (HANNA)
- Système chromatographique HPLC
- Hotte chimique (CAPTAIR)
- Un agitateur magnétique à plaque chauffante.
- Un bain ultrason.
- Un dissolutest (SOTAX)
- Un spectrophotomètre UV visible

##### III.1.1.2. Réactifs :

(Spécifiques à la préparation des milieux de dissolution)

- Chlorure de potassium KCl.
- Acide chlorhydrique HCl 37%.
- Acétate de sodium trihydraté  $\text{CH}_3\text{COONa}, 3\text{H}_2\text{O}$ .
- Acide acétique glacial  $\text{CH}_3\text{COOH}$ .
- Phosphate monopotassique  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .
- Hydroxyde de sodium NaOH.
- Eau purifiée.

### III.1.2. Méthodes :

#### III.1.2.1. Etude pilote de la cinétique de dissolution du générique GA5 & Clamoxyl :

Le test qui, in vitro, reflète le plus le devenir du médicament in vivo, est le test de dissolution. Selon la nature du PA, la directive européenne prévoit que, dans certaines circonstances, une étude in vitro par comparaison des profils de dissolution entre la référence et le générique peut suffire et remplacer l'étude de bioéquivalence in vivo à condition qu'une bonne corrélation des données in vitro / in vivo soit établie, ceci, est notamment important dans les pays en voie de développement où les ressources nécessaires pour mener à des études (in vivo) sont limitées. Notre objectif principal dans cette partie est l'étude de bioéquivalence in vitro d'un générique d'amoxicilline fabriqué et commercialisé en Algérie, par la comparaison de sa cinétique de dissolution avec celle de « Clamoxyl » comme spécialité de référence.

#### Préparation des milieux de dissolution :

Les milieux de dissolution utilisés pour la réalisation des cinétiques de dissolution dans le cadre de la comparaison de ces deux formes pharmaceutiques ont été préparés sans enzymes, en respectant les compositions suivantes :

➤ **Tampon Hcl à pH=1.2 :**

Pour la préparation de **SGF** « **simulated gastric fluid** » afin de simuler le milieu gastrique:

- Chlorure de potassium Kcl : 5.59g ;
- Acide chlorhydrique Hcl 32% : 58,4 ml ;
- Eau purifiée : QSP 7 Litres

➤ **Tampon acétate à pH=4,5 :**

- Acétate de sodium trihydraté : 20,93g ;
- Acide acétique glacial : 11,2 ml ;
- Eau purifiée : QSP 7 L.

➤ **Tampon phosphate à pH=6,8 :**

Pour la préparation de SGF « simulated intestinal fluid » afin de simuler le milieu intestinal

- Phosphate monopotassique  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  : 55,53 g ;
- Hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$  : 7,97g
- Eau purifiée : QSP 7l.

➤ **Le pH du milieu de dissolution a été vérifié à l'aide d'un pH-mètre** (Il ne doit pas s'écarter de 0,05 de la valeur cible) et les milieux ont été dégazés avant chaque essai.

**Protocole opératoire :**

- L'essai a été réalisé avec 12 unités pour chacun des trois tampons avec le produit test (générique) et le produit de référence (princeps).
- Un appareil de type II (palette) avec 75 rpm a été sélectionné pour le princeps (comprimé) et de type I (panier) avec 100 rpm pour le générique (gélule).
- Après la préparation du milieu de dissolution, 900 mL ont été introduits dans chaque godet et la température a été maintenue à  $37^\circ \pm 0.5$  durant tout l'essai.
- Les échantillons ont été introduits selon le type de l'appareil et le mode de prélèvement sélectionné était manuel.
- Après chaque prélèvement, le volume prélevé a été remplacé par un volume égal du milieu de dissolution puis les échantillons ont été filtrés à l'aide d'un filtre adéquat ( $0.45\mu\text{m}$ ) puis dilués, et leurs concentrations en principe actif ont été déterminées par rapport à la solution étalon préalablement préparée.
- Les résultats ont été exprimés en pourcentage de la teneur indiquée sur l'étiquette.
- Nombre de prélèvements: Les prélèvements sont standards pour les 3 milieux et le nombre de prélèvements correspond à la libération conventionnelle est 8 avec un intervalle de 5 minutes comme suit: 5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 30 min, 45 min, 60 min et 90 min.
- La méthode de dosage: L'HPLC a été utilisé tout en gardant les conditions du système chromatographique décrites dans la partie précédente.

### Conformité du système :

- Le standard de déviation relatif de la solution standard ne doit pas dépasser 2.0%
- Le standard de déviation relatif des 12 unités du 1er prélèvement ne doit pas dépasser 20%
- Le standard de déviation relatif des 12 unités des autres prélèvements ne doivent pas dépasser 10%.

**Tableau 71:** Paramètres de l'essai de dissolution.

Echantillon	Clamoxyl	GA5
Forme galénique	comprimé	gélule
Dosage	1g	500g
Type d'appareil	à palette	à panier
Nombre de rpm	75	100
Volume de dilution (ml)	900	900
Facteur de dilution	0,2	0,2
Température	37° ± 0.5	37° ± 0.5
Nombre de prélèvements	8	8
Méthode de dosage	HPLC	HPLC

### Calculs et interprétation des résultats du dosage :

#### ➤ Le dosage :

Les pourcentages dissous d'amoxicilline ont été calculés à partir des densités optiques mesurées avec la Spectrophotométrie UV-Visible selon la formule suivante :

$$\%Di = \frac{AE}{CE} \times \frac{CT}{AT} \times \frac{T(100 - X H_2O)}{100} \times \frac{M_{moy}}{Mi}$$

- %Di : Pourcentage de dissolution du comprimé i,
- AE : Absorbance des essais,
- AT : Absorbance de la solution de référence (étalon),
- CE: concentration des essais,
- CT : concentration de la solution de référence (étalon),
- T : Titre en % de l'étalon de travail,
- X H<sub>2</sub>O: Teneur en eau dans l'étalon de travail,
- M moy: la masse moyenne des comprimés,
- Mi : la masse de comprimé i.

➤ **L'interprétation statistique :**

Plusieurs méthodes statistiques peuvent être utilisées. Dans notre étude on a suivi la méthode de « **fit factors** ou **les facteurs d'ajustement** » qui repose sur le calcul des facteurs  $f_1$  et  $f_2$  où :

- **$f_1$  est le facteur de différence** : il représente le pourcentage moyen de différence entre de la fraction dissoute du PA du princeps et du générique à chaque point du dosage. Sa valeur est nulle lorsque les profils de dissolution sont identiques et elle augmente proportionnellement avec la dissemblance entre les deux profils.
- **$f_2$  est le facteur de similitude** : sa valeur est comprise entre 0 et 100, elle est égale à 100 lorsque les profils de dissolution de la référence et du générique sont identiques et se rapproche de zéro à mesure que la différence augmente.

➤ **Les formules de calcul :**

- $f_1$  est calculé selon la formule suivante :

$$f_1 = \frac{\sum_{i=1}^n |R_i - T_i|}{\sum_{i=1}^n (R_i)}$$

- **R(t) et T(t)** : Pourcentages dissous à chaque point dans le temps.
- **n** : nombre de prélèvements.
- $f_2$  est calculé selon la formule suivante :

$$f_2 = 50 \cdot \log \left[ \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{i=1}^n [\bar{R}(t) - \bar{T}(t)]^2}{n}}} \right]$$

- **R(t) et T(t)**: Pourcentages dissous à chaque point dans le temps.
- **n**: nombre de prélèvements.

**Conditions d'application :**

- 12 unités de chaque forme
- Utiliser la valeur moyenne
- CV% 1er temps < 20 %

- CV% autres temps < 10%
- Les prélèvements dont la conformité du système est non conforme sont exclus de l'interprétation statistique.
- Les données ont été saisies et analysées et les graphiques ont été créés à l'aide de Microsoft Office Excel 2013.
- Les « fit factors » ont été déterminés par le logiciel DDSolver®.

### **III.1.2.2. Etude des cinétiques de dissolution des 5 génériques par rapport au Clamoxyl Algérien et Clamoxyl Français :**

La comparaison des profils de dissolution de l'amoxicilline (princeps et génériques) dans les trois milieux à pH différents (selon les recommandations de l'OMS) est réalisée par une technique de spectrophotométrie UV-Visible.

#### **III.1.2.2.1. Préparation des milieux de dissolution :**

Les milieux de dissolution utilisés pour la réalisation des cinétiques de dissolution dans le cadre de la comparaison de ces formes pharmaceutiques ont été préparés sans enzymes, en respectant les compositions suivantes :

##### **A-Tampon Hcl à pH=1,2 :**

Pour la préparation de SGF « simulated gastric fluid » afin de simuler le milieu gastrique :

- Chlorure de potassium KCl : 11 ,977g ;
- Acide chlorhydrique HCl

##### **B-Tampon acétate à pH=4,5 :**

- Acétate de sodium trihydraté : 44,85 g ;
- Acide acétique glacial : 24 ml ;
- Eau purifiée : QSP 15 l.

##### **C-Tampon phosphate à pH=6,8 :**

Pour la préparation de SGF « simulated intestinal fluid » afin de simuler le milieu intestinal :

- Phosphate mono potassique KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> : 102 g ;
- Hydroxyde de sodium NaOH : 13 ,44 g
- Eau purifiée : QSP 15L.

Le pH du milieu de dissolution a été vérifié à l'aide d'un pH-mètre (Il ne doit pas s'écarter de  $\pm 0,05$  de la valeur cible) et les milieux ont été dégazés avant chaque essai.

### III.1.2.2.2. Préparation des standards :

À partir de l'amoxicilline trihydratée ayant une pureté de 86% et 87,56%, deux standards ont été préparés. Les standards consistaient en 25 mg d'amoxicilline trihydratée, où la substance était desséchée, et ont été dissous dans 100 ml de tampons (tampons pH=1,2 ; pH=4,5 ; pH=6,8). La préparation a été effectuée en plaçant les 25,00 mg de substance dans une fiole de 100 ml, puis en les dissolvants dans le tampon approprié à l'aide d'un bain à ultrasons.

### III.1.2.2.3. Protocole opératoire :

Pour chaque tampon (tampon pH=1,2 ; pH=4,5 ; pH=6,8) et pour les produits test (génériques) ainsi que les produits de référence (princeps français et princeps algérien), 12 unités ont été utilisées.

Un appareil de type II (palette) avec une vitesse de rotation de 75 rpm a été sélectionné pour les échantillons de comprimés d'amoxicilline de 1 g.

Après la préparation du milieu de dissolution, un volume de 900 mL a été introduit dans chaque godet et la température a été maintenue à  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5$  pendant toute la durée de l'essai.

Les échantillons ont été introduits selon le type d'appareil et le mode de prélèvement sélectionnés, qui étaient tous les deux manuels.

Après chaque prélèvement, le volume prélevé a été remplacé par un volume équivalent du milieu de dissolution. Ensuite, les échantillons ont été filtrés à l'aide d'un filtre approprié (0,45  $\mu\text{m}$ ) en jetant les premiers 3 à 5 ml pour saturer les filtres, puis ils ont été dilués.

Une dilution de 1 ml dans 5 ml de tampon (1/5) a été effectuée et le mélange a été bien agité.

Le nombre de prélèvements standard pour les 3 milieux était de 4, avec des intervalles de temps de 10 minutes, 5 minutes, 5 minutes et 10 minutes.

Les conditions opératoires étaient les suivantes :

- Appareil de dissolution : appareil à palette.
- Volume du milieu : 900 ml.
- Vitesse de rotation : 75 tours/minute.

- Temps de prélèvement : 30 minutes.
- Nombre de prélèvements : 4.
- Norme de dissolution :  $\geq 85\%$ .
- Longueur d'onde d'absorbance : 278 nm.
- Facteur de dilution de 1/5 pour les échantillons.
- Température :  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ .
- Méthode de dosage : spectrophotométrie UV-Visible.

#### **III.1.2.2.4. Formules de calcul :**

##### **A- Performance du système :**

###### ➤ **Recouvrement :**

Recouvrement % = (pesée du STD1 / pesée du STD2) \* (moyenne des DO2 de STD / moyenne des DO1 de STD) \* 100

###### ➤ **Coefficient de variation (CV%) :**

Cv % =  $\sigma / \mu = (\text{écart type} / \text{moyenne}) * 100$

##### **B- Concentrations du standard :**

[Pesée STD ÷ volume de dilution 100 ml]

##### **C- Taux de dissolution (T%) :**

###### ➤ **Pour t = 10 min :**

$T1\% = [\text{absorbance échantillon} / \text{absorbance étalon(STD)}] * [\text{étalon}] / [\text{échantillon}] * P$   
(pureté)

[Échantillon] = dosage (1000 mg) / volume du vase (900ml) \* dilution (1ml / 5ml)

###### ➤ **Pour t = 15 min :**

$T2\% = T1\% + \text{correction (T10ml)}$

$T10\text{ml (correction)} = 10 * T1 / 900$

###### ➤ **Pour t = 30 min :**

$T3\% = T1\% + 10 * T2 / 900$

#### **II.6. Critères d'acceptation :**

###### ➤ **Recouvrement :** [98% - 102%]

###### ➤ **Coefficient de variation :**

<20% pour les 5 min ;

<10% pour les 15 et 30 min.

➤ **Taux de dissolution :**

D'après l'USP la classe de la vitesse de dissolution est déterminée comme suit :

○ **Dissolution très rapide :** si le taux de dissolution moyen est  $\geq 85\%$  en 15 mn.

○ **Dissolution rapide :** si le taux de dissolution moyen est  $\geq 85\%$  en 30 mn.

\* Les produits test et référence présentent une dissolution très rapide : les profils de dissolution sont considérés d'emblée similaires (le calcul du f2 n'est pas nécessaire).

\* Les produits test et référence présentent une dissolution rapide : pour comparer entre les profils il faut appliquer une méthode adéquate telle qu'une méthode indépendante en calculant le facteur de similarité f2. Les profils de dissolution sont similaires si f2 est compris entre **50 et 100**.

### III.2. Résultats

#### III.2.1. Résultats de l'étude pilote de bioéquivalence in vitro (la cinétique de dissolution) du générique GA5 par rapport au Clamoxyl :

Les résultats obtenus sont organisés selon les milieux de dissolution :

##### III.2.1.1. Tampon Hcl à pH=1,2 :

###### ➤ Dosage du standard :

Le tableau suivant représente les données et les résultats de l'absorbance « DO » du standard à pH=1,2 :

**Tableau 72:** Données sur la dissolution et l'absorbance « DO » du standard à pH 1,2.

Standard			
Poids (mg)	60	Abs 1	0,3165
Volume (ml)	100	Abs 2	0,3165
Facteur de dilution	0,2	Abs 3	0,3172
Titre (%)	99,1	Moyenne	0,3167
Teneur en eau (%)	12,9	RSD	0,00

###### ➤ Dosage des échantillons:

Les résultats du dosage de chaque médicament sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 73:** Les moyennes des absorbances et des pourcentages de libération du PA Q (%) du princeps et GA5 à pH 1,2

Temps	Princeps		GA5	
	ABS	Q (%)	ABS	Q (%)
0	0	0	0	0
5	0,1867	54,94	0,2303	67,80
10	0,3243	95,57	0,3221	94,98
15	0,3439	101,43	0,3387	99,93
20	0,3481	102,67	0,3415	100,76
30	0,3476	102,55	0,3433	101,30
45	0,3457	101,97	0,3423	101,00
60	0,3486	102,83	0,3449	101,75
90	0,3493	103,02	0,3460	102,08

La représentation graphique de ces résultats est représentée dans la figure ci-dessous:

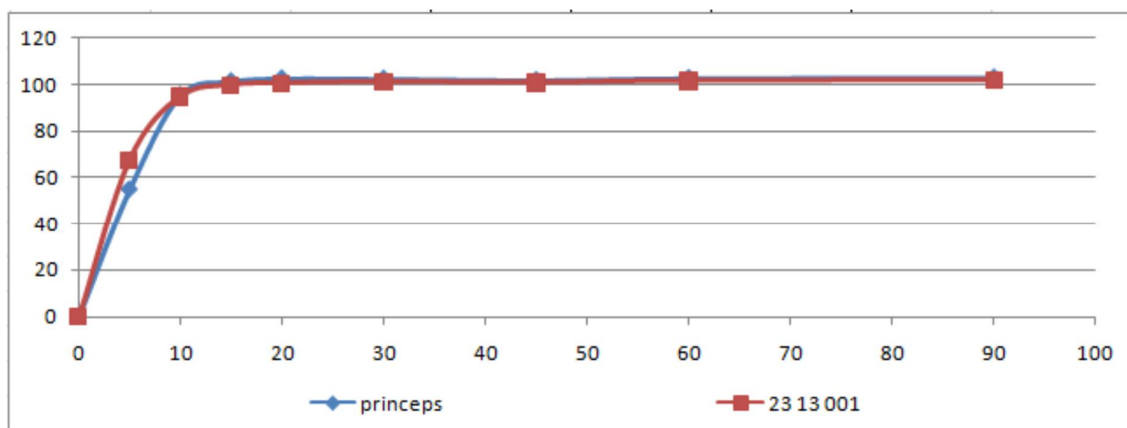


Figure 28: Les profils de dissolution du princeps et GA5 à pH=1,2.

### III.2.1.2. Tampon acétate à pH=4,5 :

#### ➤ Dosage du standard :

Le tableau suivant représente les données et les résultats de l'absorbance « DO » du standard à pH 4,5 :

Tableau 74: Données sur la dissolution et l'absorbance « DO » du standard à pH 4,5 standard

<b>Poids (mg)</b>	60	<b>Abs 1</b>	0,3138
<b>Volume de fiole (ml)</b>	100	<b>Abs 2</b>	0,3136
<b>Facteur de dilution</b>	0,2	<b>Abs 3</b>	0,3156
<b>Titre (%)</b>	99,1	<b>Moyenne</b>	0,3143
<b>Teneur en eau (%)</b>	12,9	<b>RSD</b>	0,35

#### ➤ Dosage des échantillons :

Les résultats du dosage de chaque médicament sont représentés dans le tableau suivant :

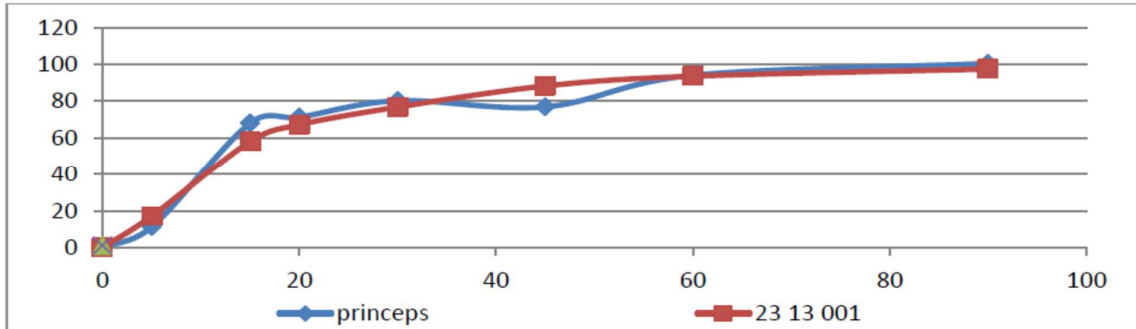
Tableau 75: Les moyennes des absorptions et des pourcentages de libération de PA Q(%) - GA5- à pH 4,5

Temps	Princeps		GA5	
	ABS	Q (%)	ABS	Q (%)
0	0	0	0	0
5	0,0190	11,25	0,0289	17,12
15	0,1146	68,04	0,0976	57,99
20	0,1199	71,27	0,1130	67,18
30	0,1349	80,19	0,1292	76,78
45	0,1293	76,87	0,1484	88,22
60	0,1582	94,01	0,1573	93,52
90	0,3400	100,40	0,3400	97,42

**Remarque :**

Les résultats du prélèvement à 10 min ne sont pas présentés car le système n'est pas conforme: le coefficient de variation (CV) est > 10 pour le princeps et le GA5 : princeps : (13,37) ; générique (10,11). « Voir annexes 6 et 7 ».

La représentation graphique de ces résultats est représentée dans la figure ci-dessous:



**Figure 29:** Les profils de dissolution du princeps et GA5 à pH=4,5

Les valeurs des facteurs de différence f1 et de similarité f2 sont reportées dans le tableau suivant:

**Tableau 76:** Résultats de calcul des facteurs f1 et f2 à pH 4,5

Facteurs de similarité et de différence	GA5
Facteurs de différence (f1)	0,01
Facteurs de similarité (f2)	55,63

**III.2.1.3. Tampon phosphate à pH=6,8 :**

➤ **Dosage du standard :**

Le tableau suivant représente les données et les résultats de l'absorbance « Densité Optique » du standard à pH=6,8 :

**Tableau 77:** Données sur la dissolution et l'absorbance « DO » du standard à pH 6,8 standard

Standard			
Poids (mg)	60	Abs 1	0,3200
Volume de fiole (ml)	100	Abs 2	0,3100
Facteur de dilution	0,2	Abs 3	0,3200
Titre (%)	99,1	Moyenne	0,3167
Teneur en eau (%)	12,9	RSD	0,02

➤ Dosage des échantillons :

Les résultats du dosage de chaque médicament sont représentés dans le tableau suivant :

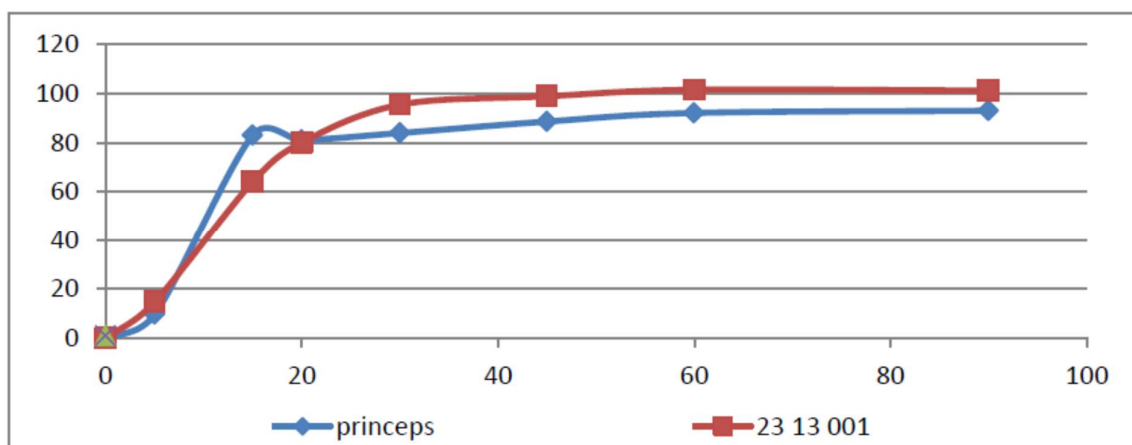
**Tableau 78:** Les moyennes des absorbances et des pourcentages de libération de PA Q(%) du princeps et GA5 à pH=6,5

temps	princeps		GA5	
	ABS	Q (%)	ABS	Q (%)
0	0	0	0	0
5	0,0166	9,75	0,0251	14,77
15	0,1408	83,03	0,1087	64,13
20	0,1374	81,10	0,1357	80,05
30	0,1422	83,92	0,1619	95,47
45	0,1502	88,61	0,1676	98,90
60	0,1561	92,11	0,1721	101,57
90	0,1577	93,03	0,1716	101,25

Remarque :

Le système n'est pas conforme à T=10 min parce que: le coefficient de variation (CV) du GA5 est >15,66, les résultats du prélèvement ne sont pas présentés. «Voir annexe 6 et 7»

La représentation graphique de ces résultats est représentée dans la figure ci-dessous:



**Figure 30:** Les profils de dissolution du princeps et GA5 à pH=6,8

Les valeurs des facteurs de différence f1 et de similarité f2 sont rapportées dans le tableau suivant:

**Tableau 79:** Résultats de calcul des facteurs f1 et f2 à pH 6,5

<b>Facteurs de similarité et de différence</b>	<b>GA5</b>
<b>Facteurs de différence (f1)</b>	0,04
<b>Facteurs de similarité (f2)</b>	52,58

Normes :

Les comprimés sont déclarés conformes si le pourcentage de libération du PA est > 80% au bout de 30 minutes.

Les gélules sont déclarées conformes si le pourcentage de libération du PA est > 80% au bout de 60 minutes.

Pour pouvoir interpréter les résultats, on devra avoir 3 prélèvements (à l'exception du point 0) qui ont une conformité du système conforme et au max un point supérieur à 85%.

Les profils de dissolution sont similaires si f1 est compris entre 0 et 15 et f2 est compris entre 50 et 100.

Si pour le même produit, l'un des facteurs respecte les normes alors que l'autre non, les profils seront déclarés non similaires.

Si le taux de dissolution moyen  $\geq 85\%$  en 15min la cinétique de dissolution est dite très rapide (ou asymptote) et l'interprétation statistique n'est pas applicable, les profils sont similaires.

Le générique doit prouver sa bioéquivalence avec le princeps dans les trois milieux avant que les deux médicaments ne soient considérés comme bioéquivalents in vitro.

### **III.2.2. Résultats des cinq études de bioéquivalence in vitro (cinétiques de dissolution) des 5 génériques & Clamoxyl Algérien et Clamoxyl Français :**

Voir le Tableau suivant :

Tableau 80: Les résultats pour Clamoxyl F à pH=1,2

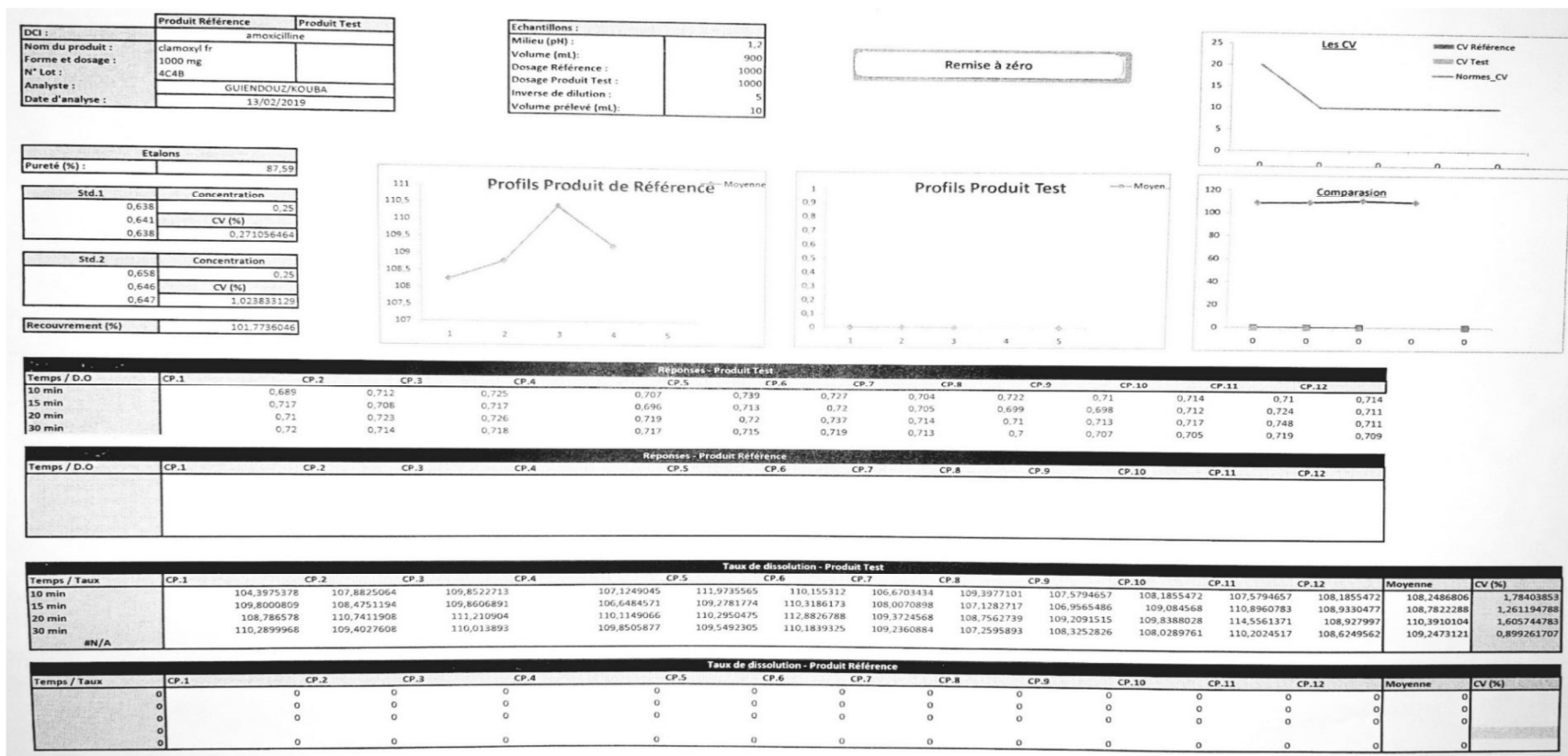


Tableau 81: Les résultats pour Clamoxyl F à pH=4,5.

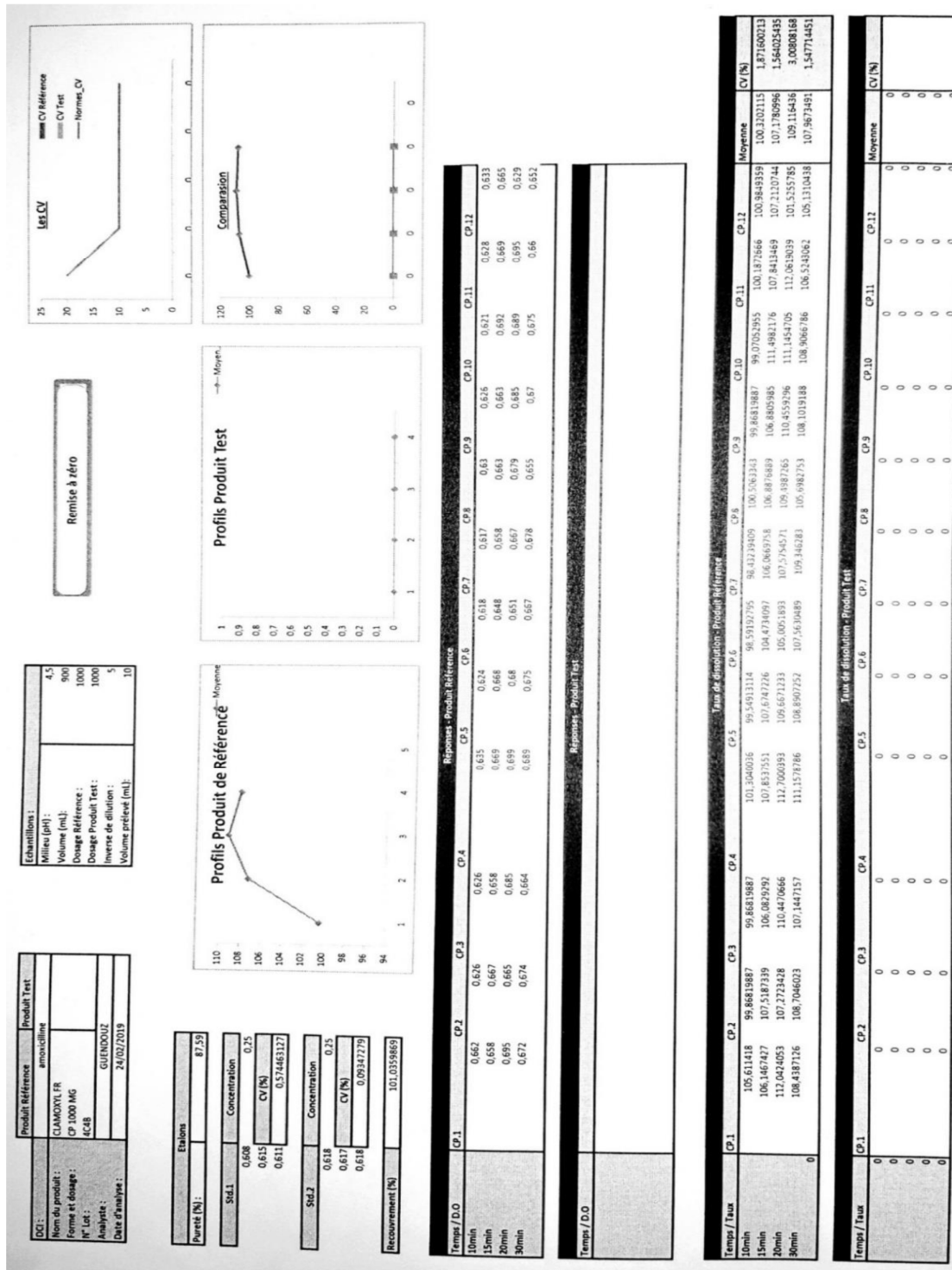
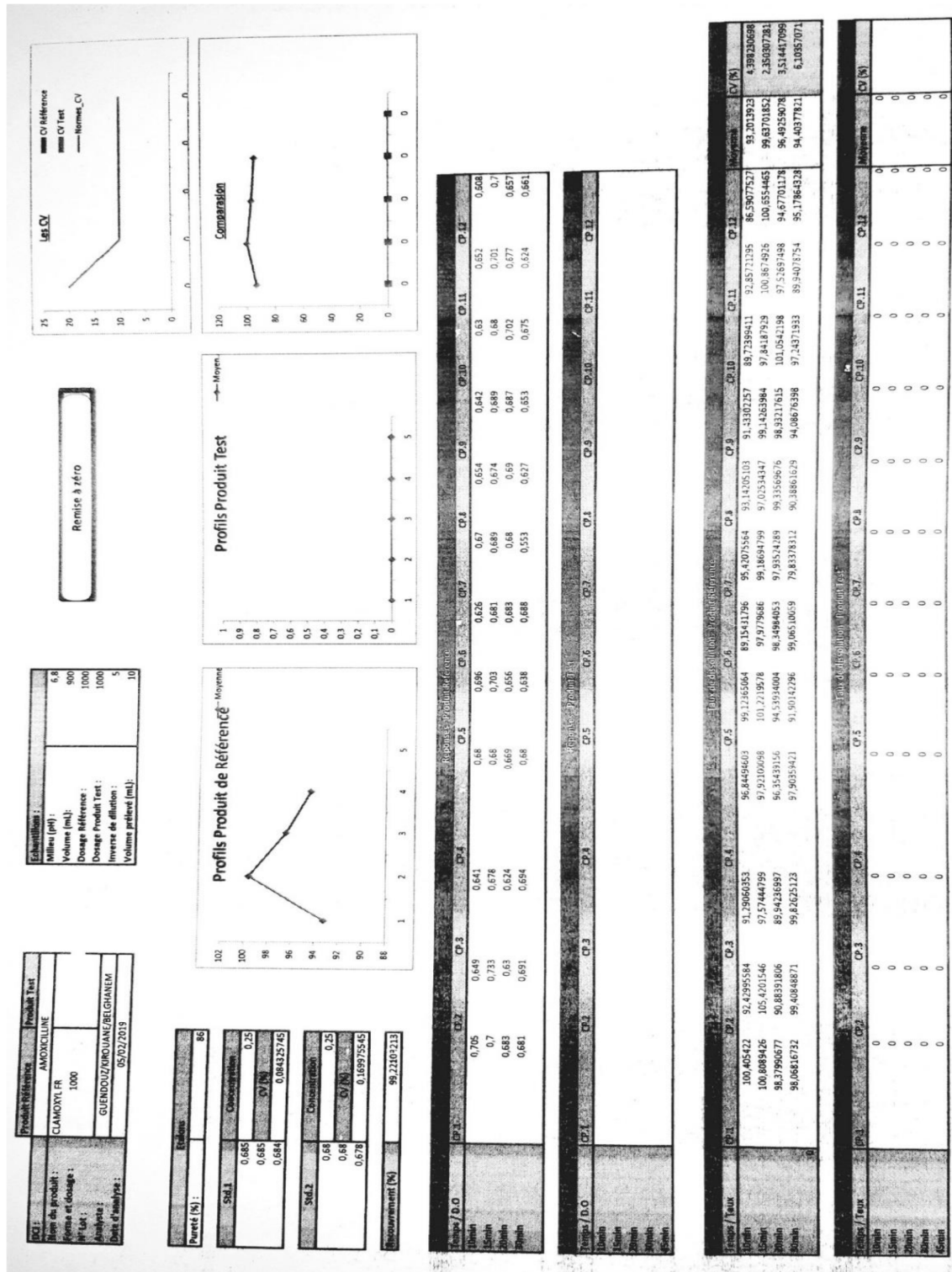
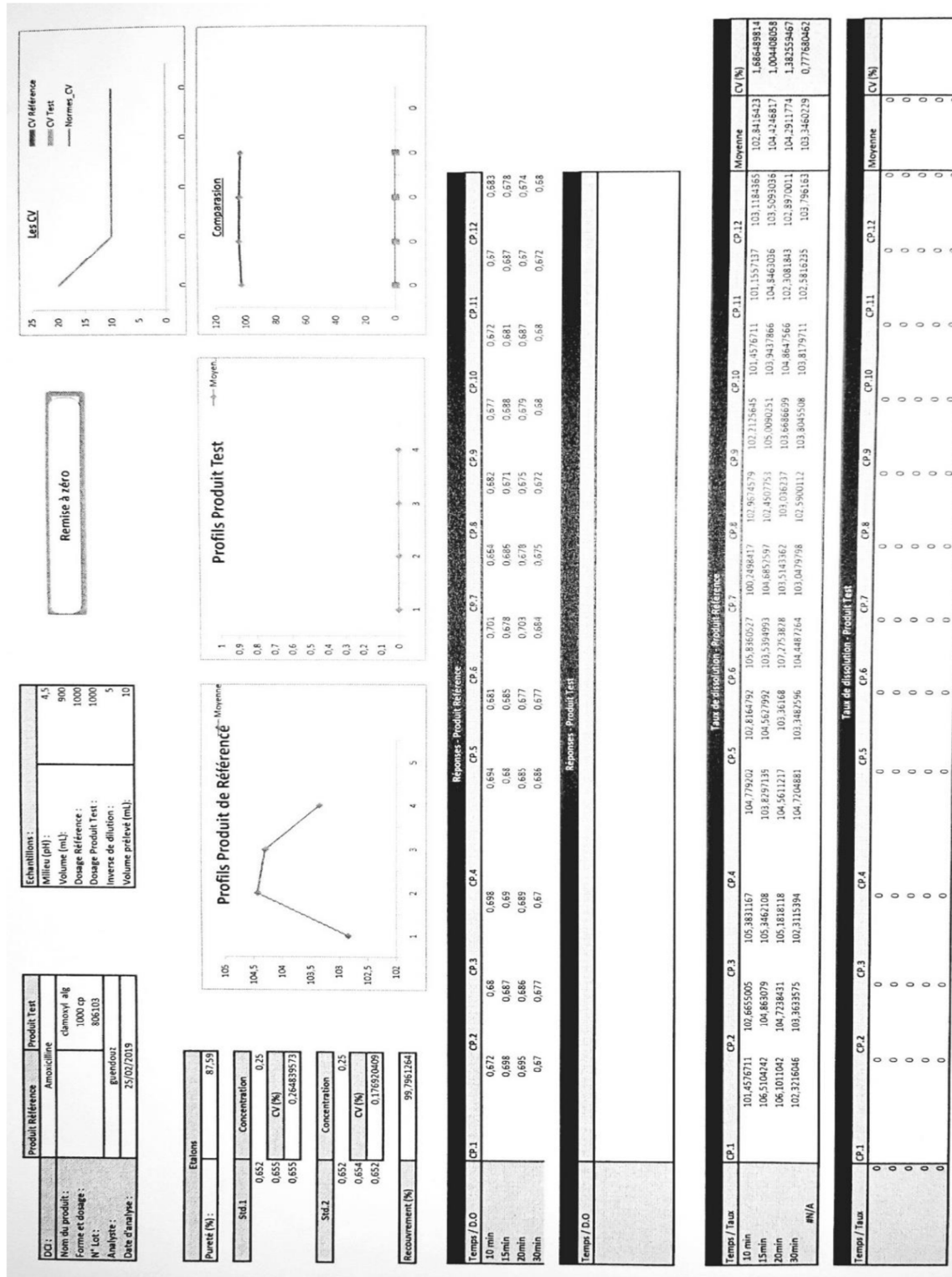


Tableau 82: Les résultats pour Clamoxyl F à pH=6,8.





**Tableau 84:** Les résultats pour Clamoxyl A à pH=4,5.



Temps / D.O	Taux de dissolution - Produit Référence												
	CP.1	CP.2	CP.3	CP.4	CP.5	CP.6	CP.7	CP.8	CP.9	CP.10	CP.11	CP.12	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tableau 85: Les résultats pour Clamoxyl A à pH=6,8.

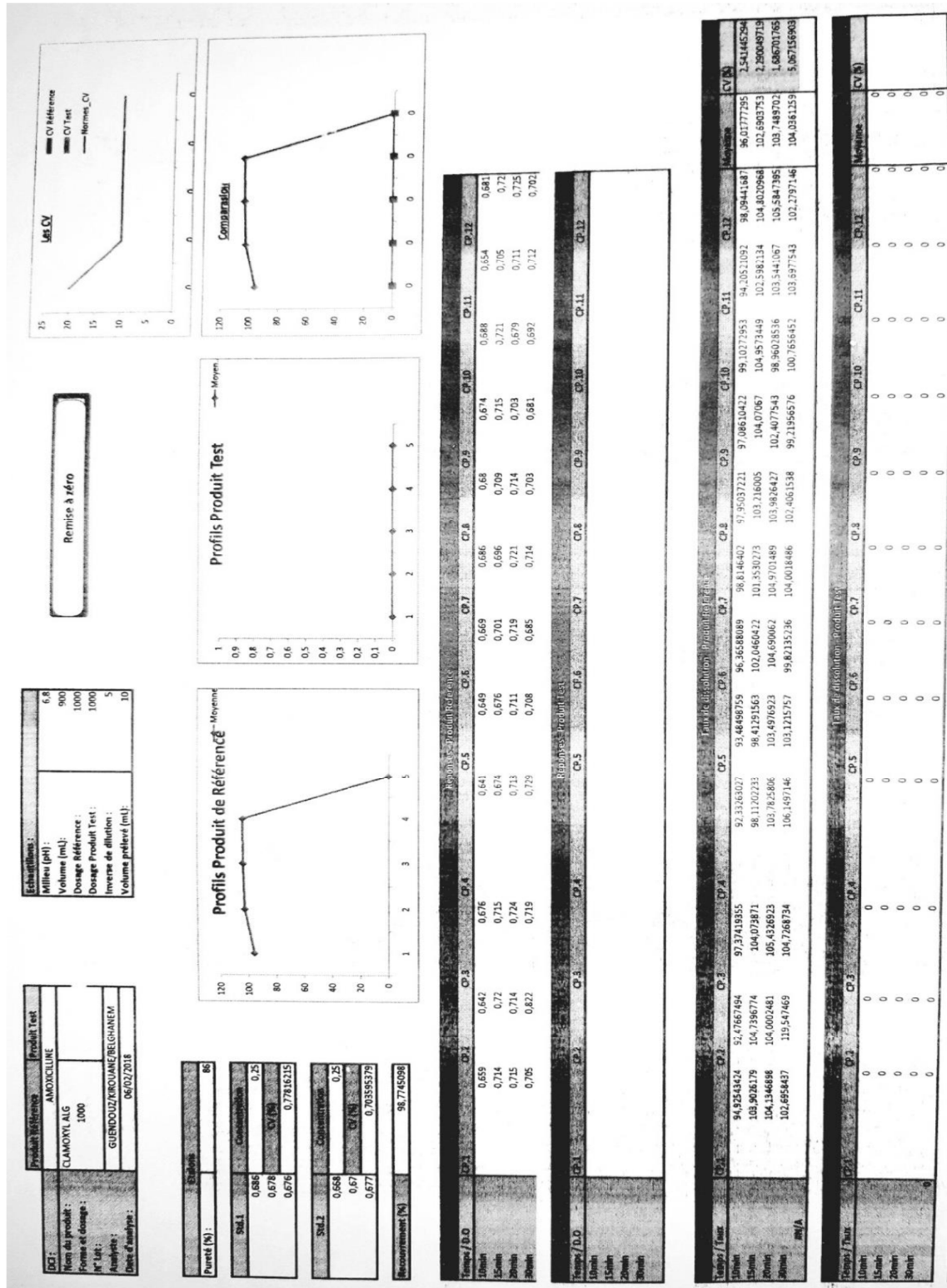


Tableau 86: Les résultats pour le générique GA1 à pH=1,2.

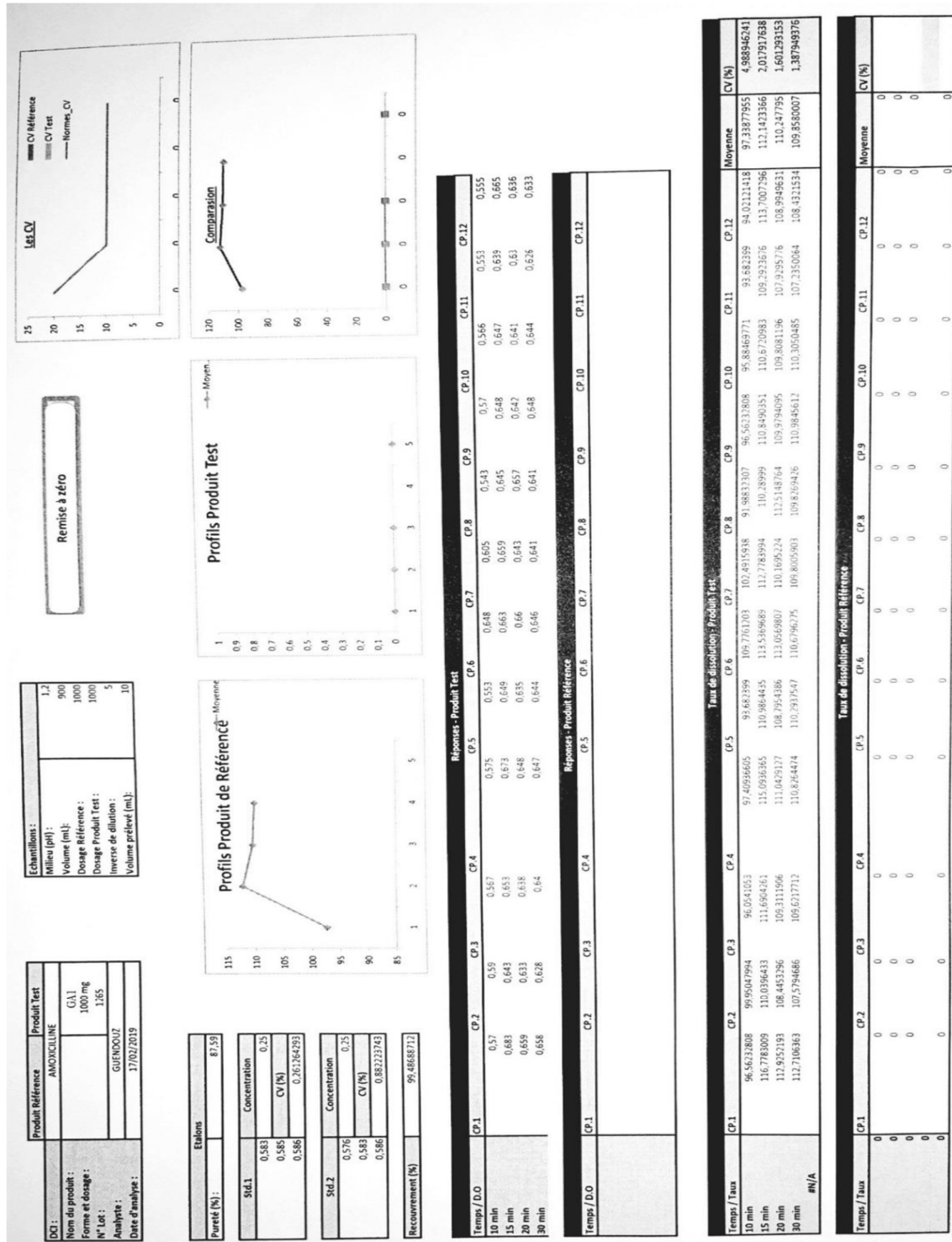
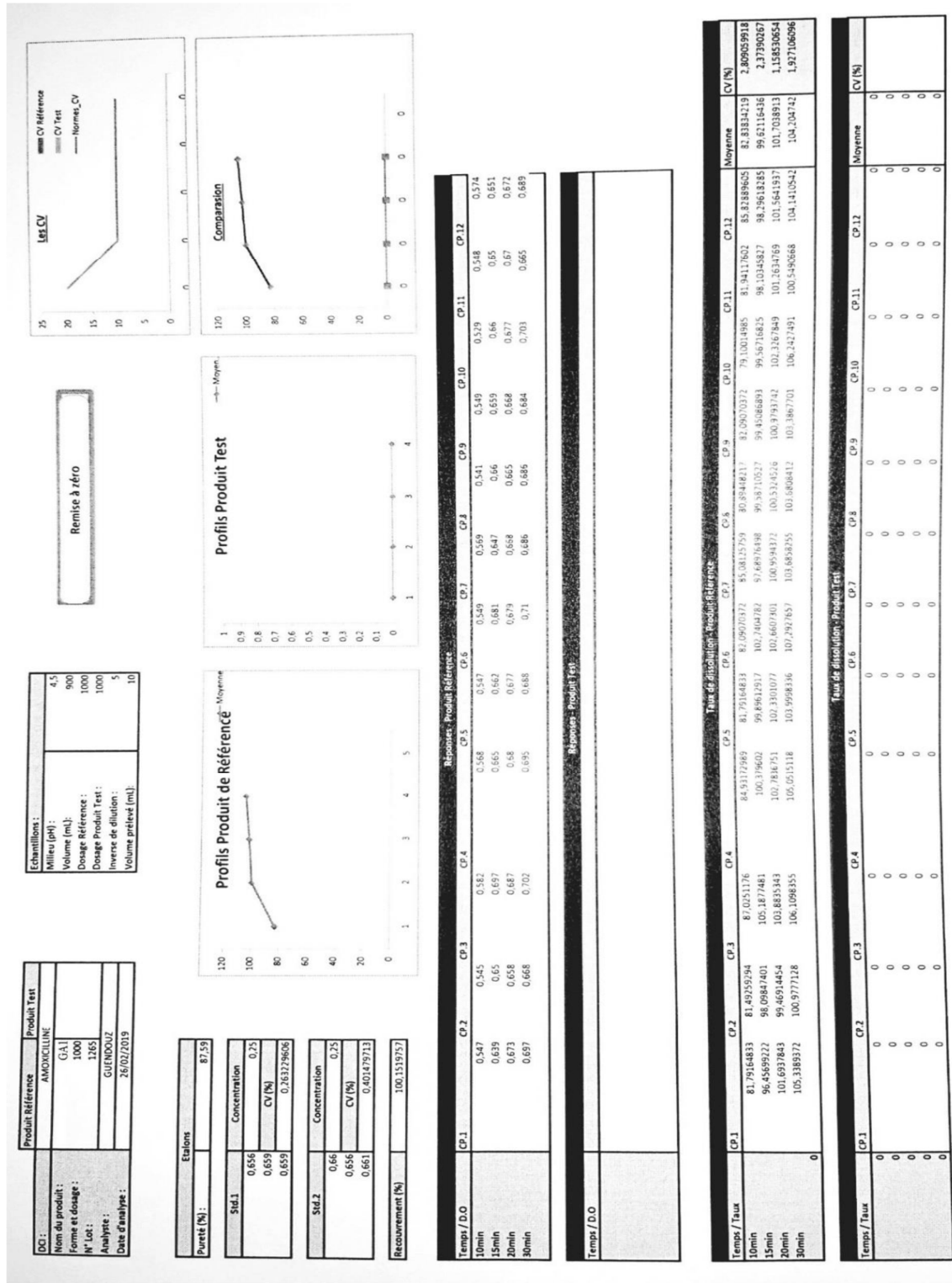


Tableau 87: Les résultats pour le générique GA1 à pH=4,5.



**Tableau 88:** Les résultats pour le générique GA1 à pH=6,8.

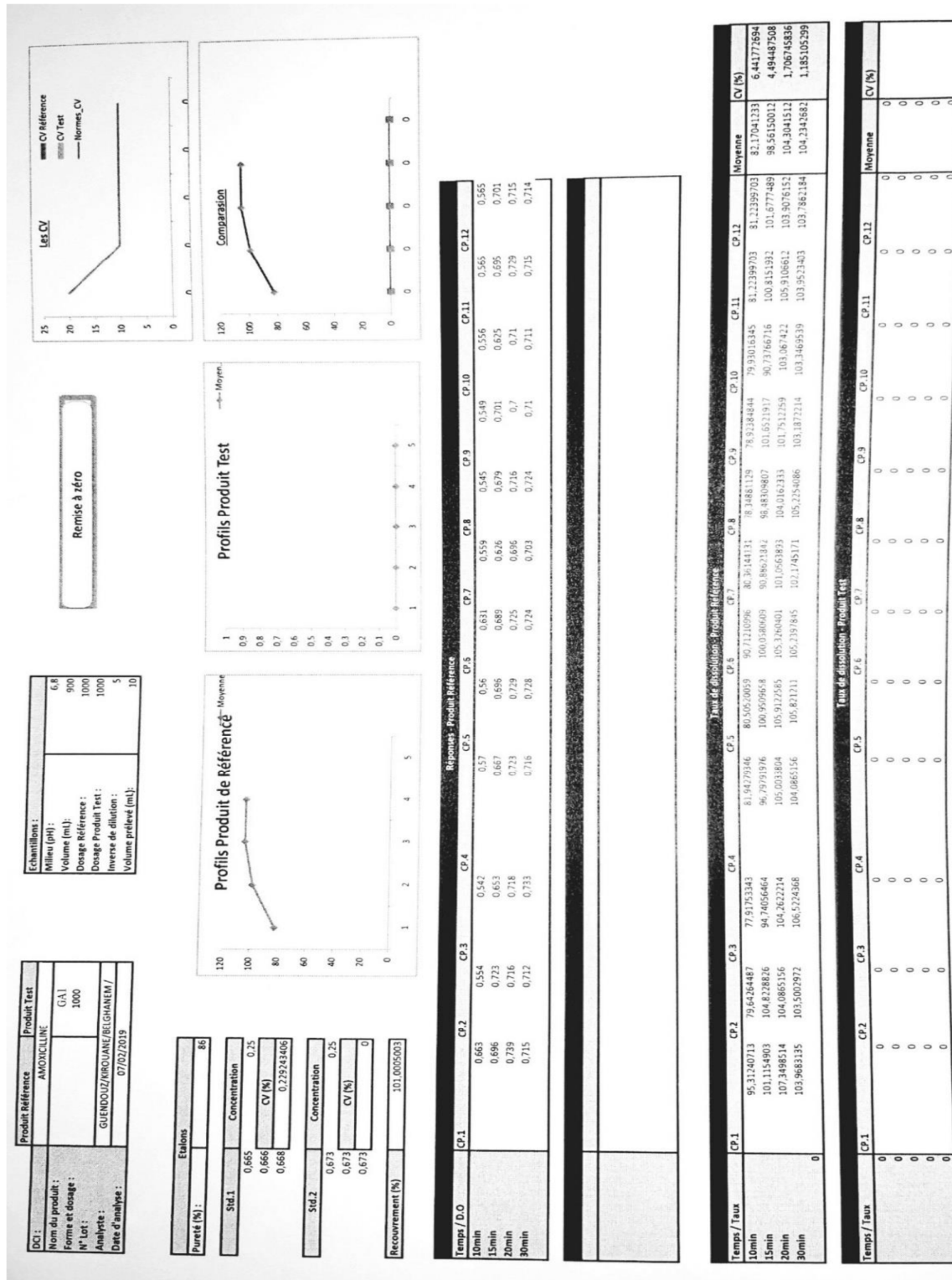


Tableau 89: Les résultats pour le générique GA2 à pH=1,2.

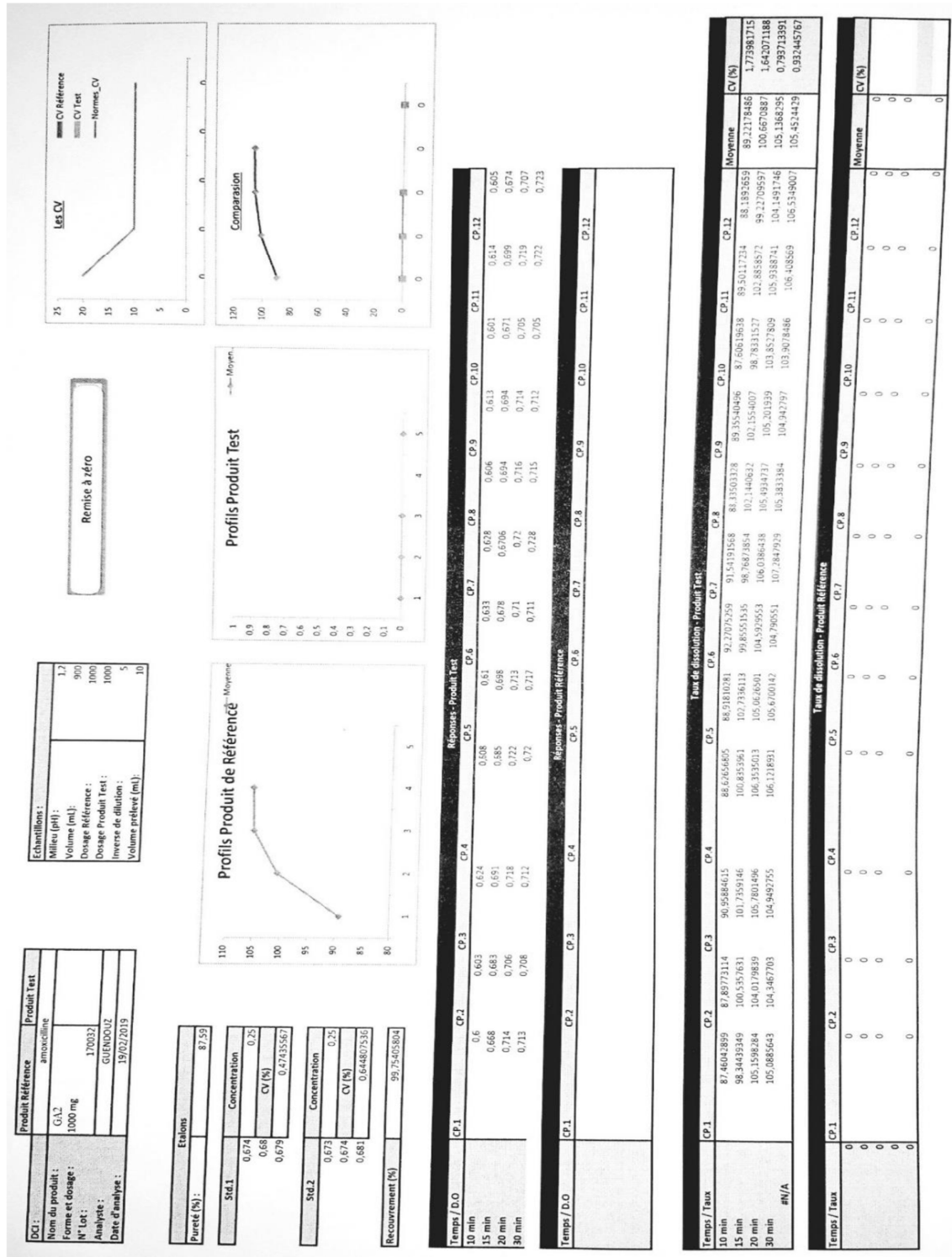


Tableau 90: Les résultats pour le générique GA2 à pH=4,5.

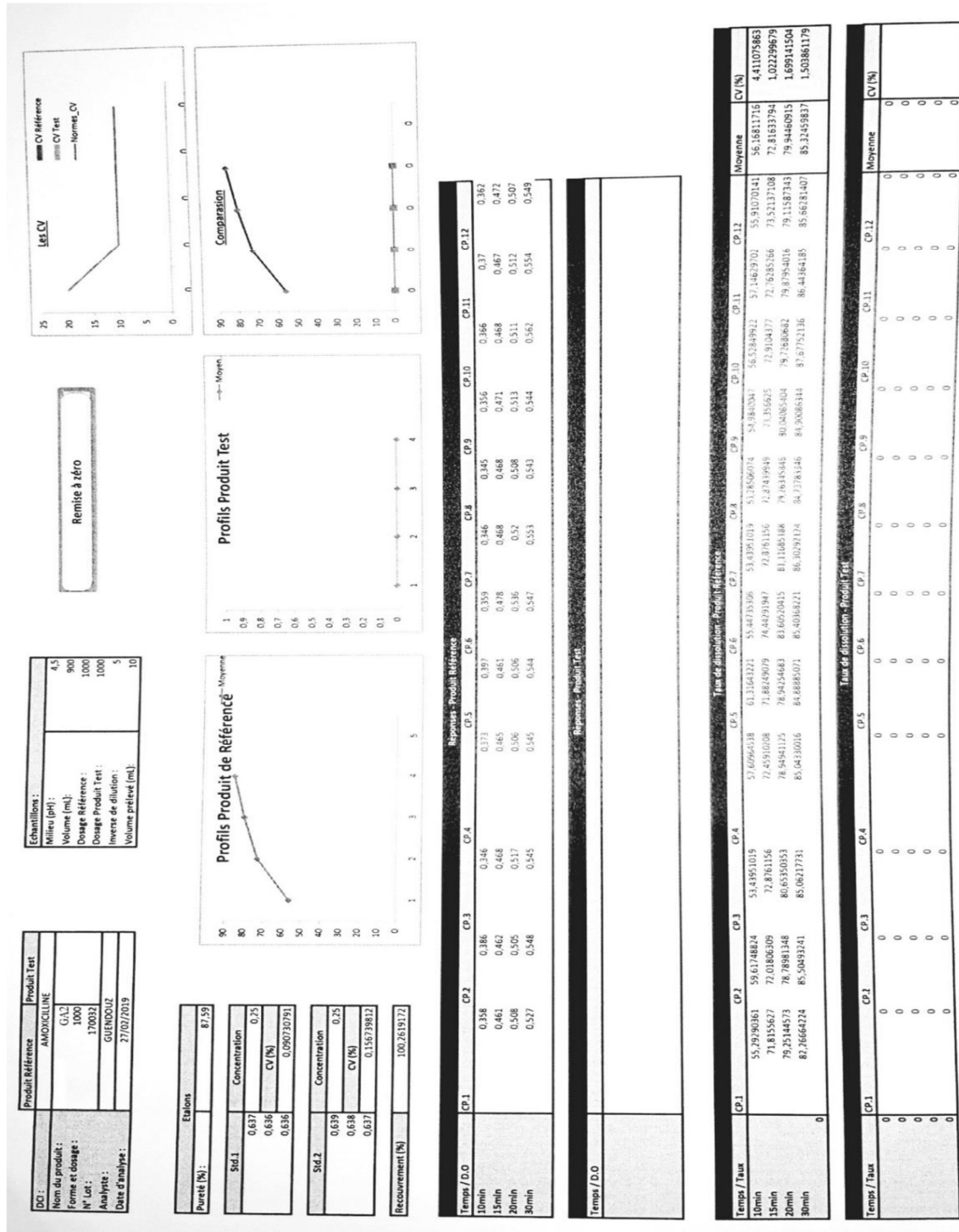


Tableau 91: Les résultats pour le générique GA2 à pH=6,8.

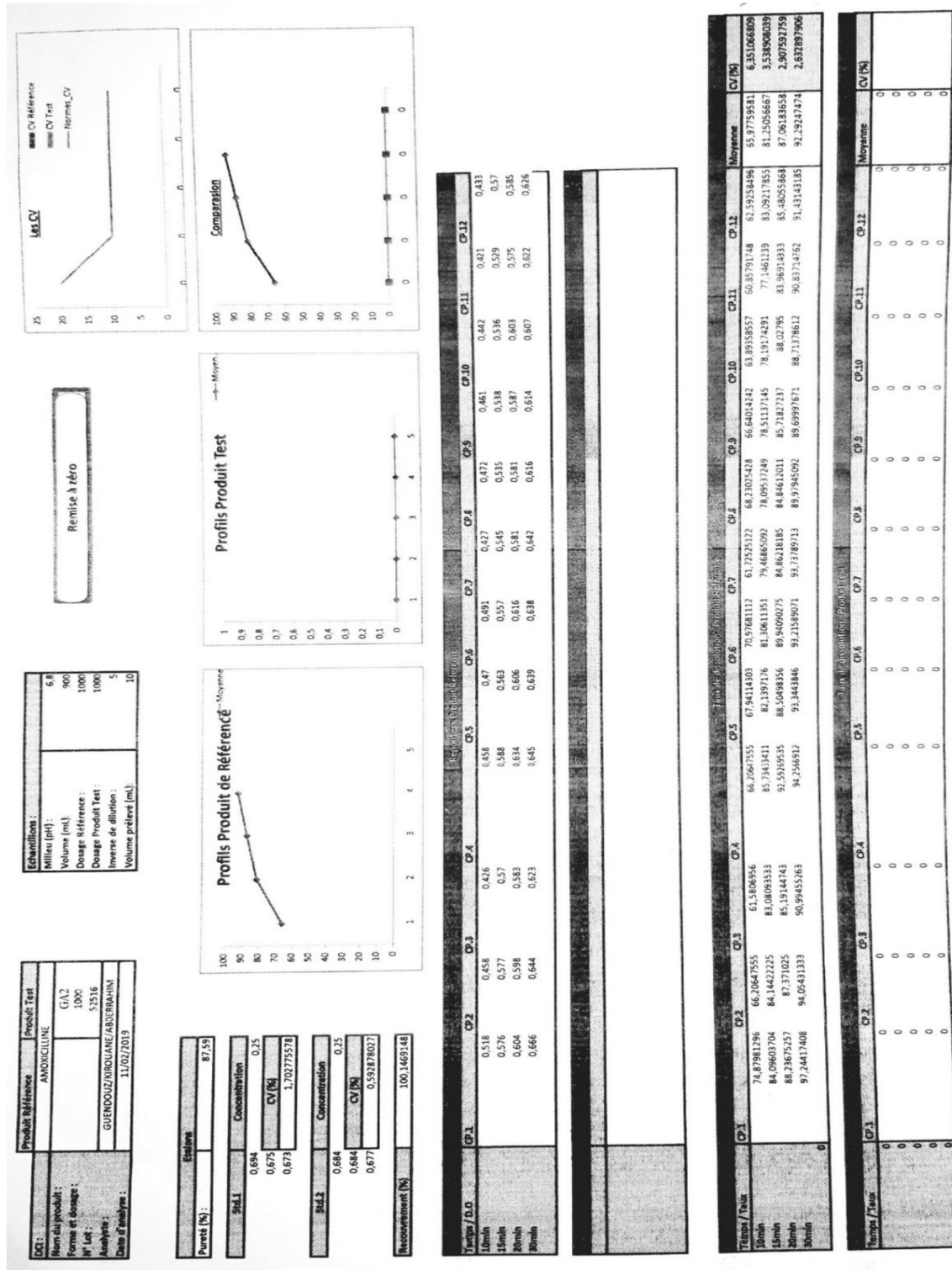
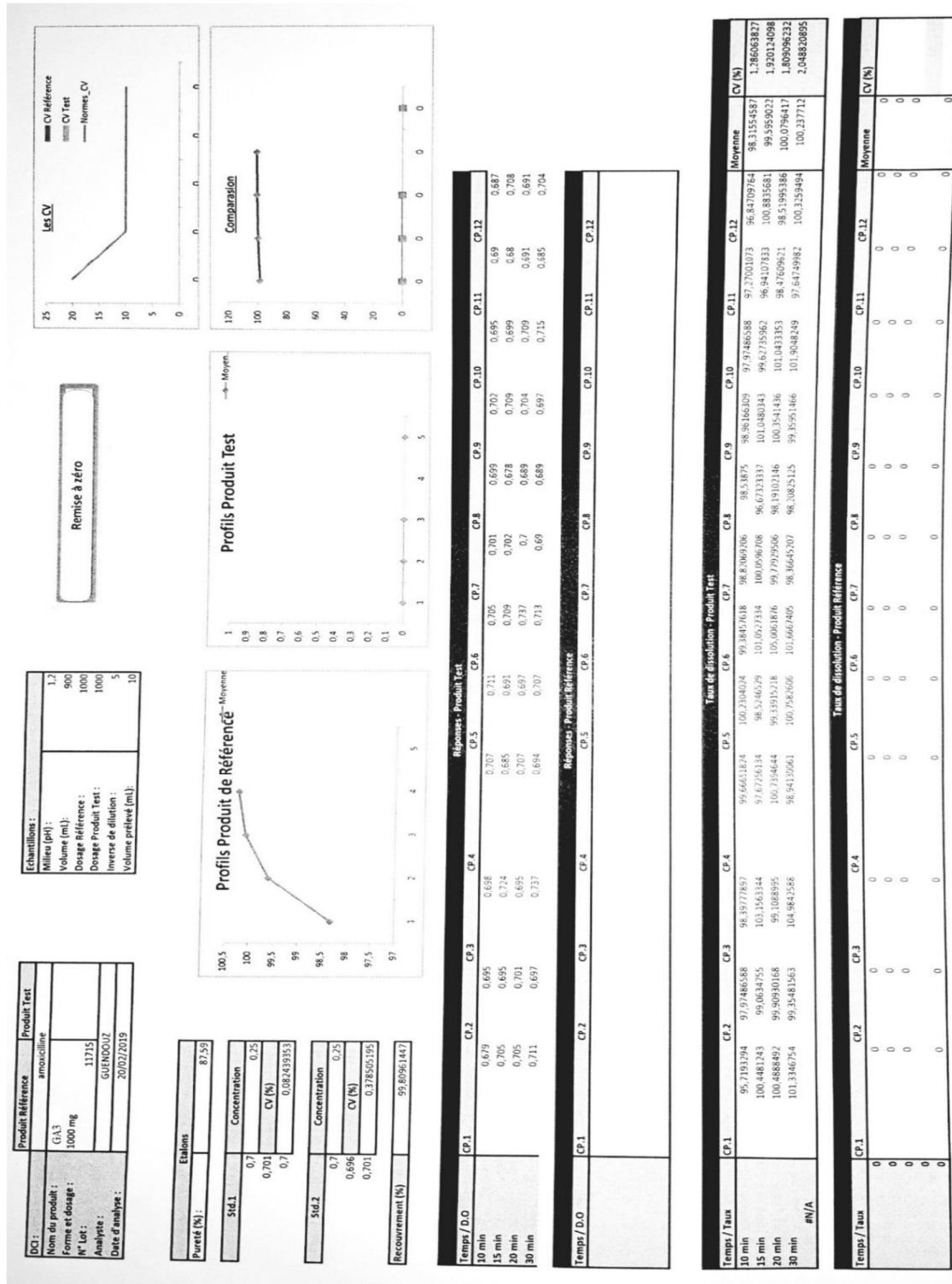


Tableau 92: Les résultats pour le générique GA3 à pH=1,2.



Temps / D.O	Réponses - Produit Test											
	CP.1	CP.2	CP.3	CP.4	CP.5	CP.6	CP.7	CP.8	CP.9	CP.10	CP.11	CP.12
10 min	0,679	0,695	0,707	0,711	0,705	0,701	0,693	0,702	0,678	0,709	0,699	0,688
15 min	0,705	0,705	0,701	0,695	0,707	0,737	0,713	0,69	0,689	0,704	0,709	0,691
20 min	0,711	0,697	0,697	0,694	0,707	0,713	0,69	0,689	0,689	0,697	0,715	0,685
30 min												

Temps / D.O	Réponses - Produit Référence											
	CP.1	CP.2	CP.3	CP.4	CP.5	CP.6	CP.7	CP.8	CP.9	CP.10	CP.11	CP.12
10 min	95,7193294	97,97486588	98,39777857	98,54629	99,66651824	100,2304024	99,38457618	98,87069206	98,53875	98,38166309	97,27001073	96,84709764
15 min	100,481243	99,0634755	103,1463344	97,8725134	98,524629	101,0527334	100,096708	96,67323337	101,4480343	99,62735862	96,94107333	100,8835661
20 min	100,4888492	99,90930168	95,1088995	100,7346444	99,33915218	105,0061876	99,77929506	98,19102146	100,3541436	101,0431353	98,47609821	98,51995386
30 min	101,3346754	99,35483563	104,8842888	98,9433061	100,7582606	101,6667405	98,36645207	98,3085215	99,35951466	101,9048239	97,6474982	100,3259494

Temps / Taux	Taux de dissolution - Produit Test											
	CP.1	CP.2	CP.3	CP.4	CP.5	CP.6	CP.7	CP.8	CP.9	CP.10	CP.11	CP.12
10 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Temps / Taux	Taux de dissolution - Produit Référence											
	CP.1	CP.2	CP.3	CP.4	CP.5	CP.6	CP.7	CP.8	CP.9	CP.10	CP.11	CP.12
10 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0





Tableau 95: Les résultats pour le générique GA4 à pH=1,2.

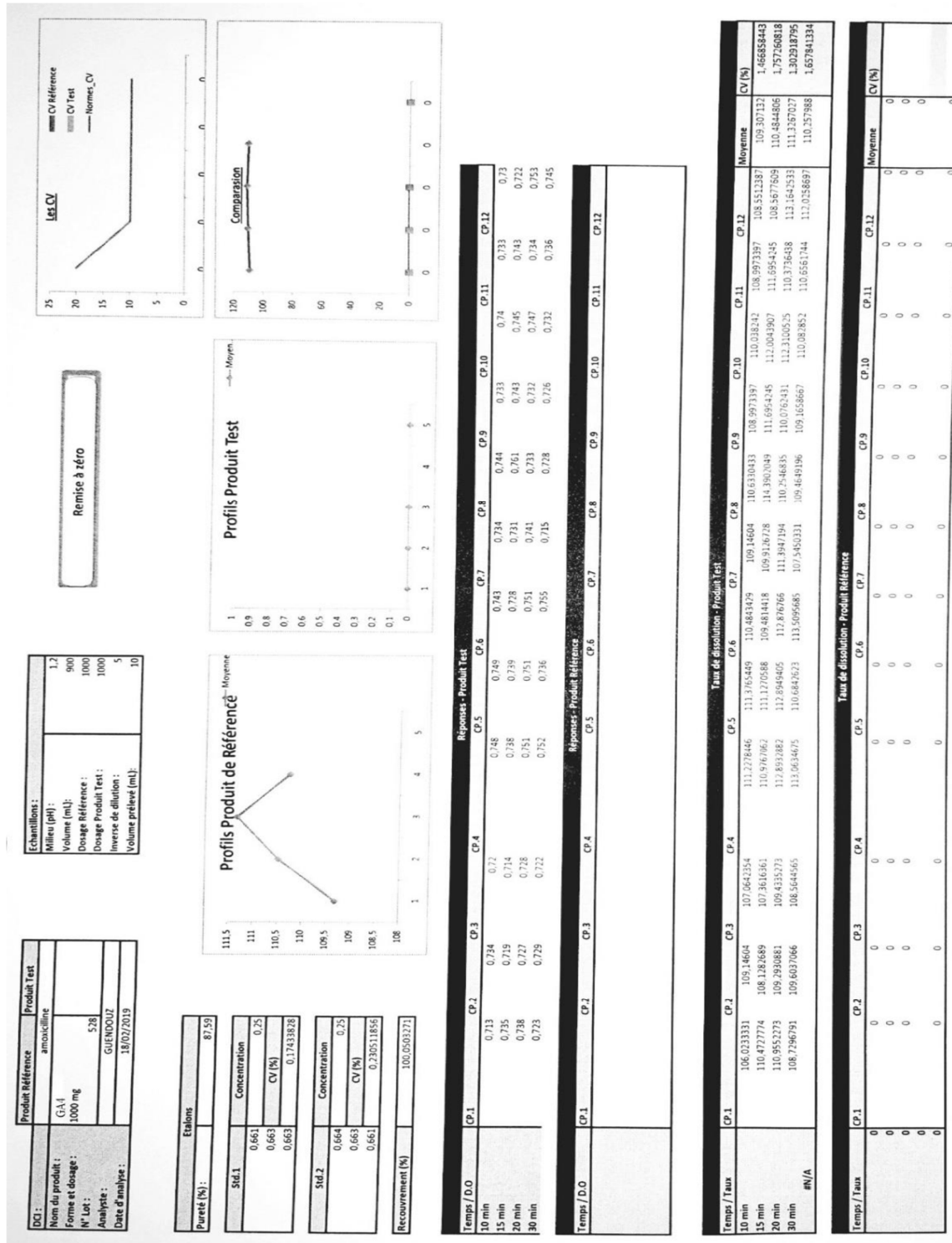


Tableau 96: Les résultats pour le générique GA4 à pH=4,5.

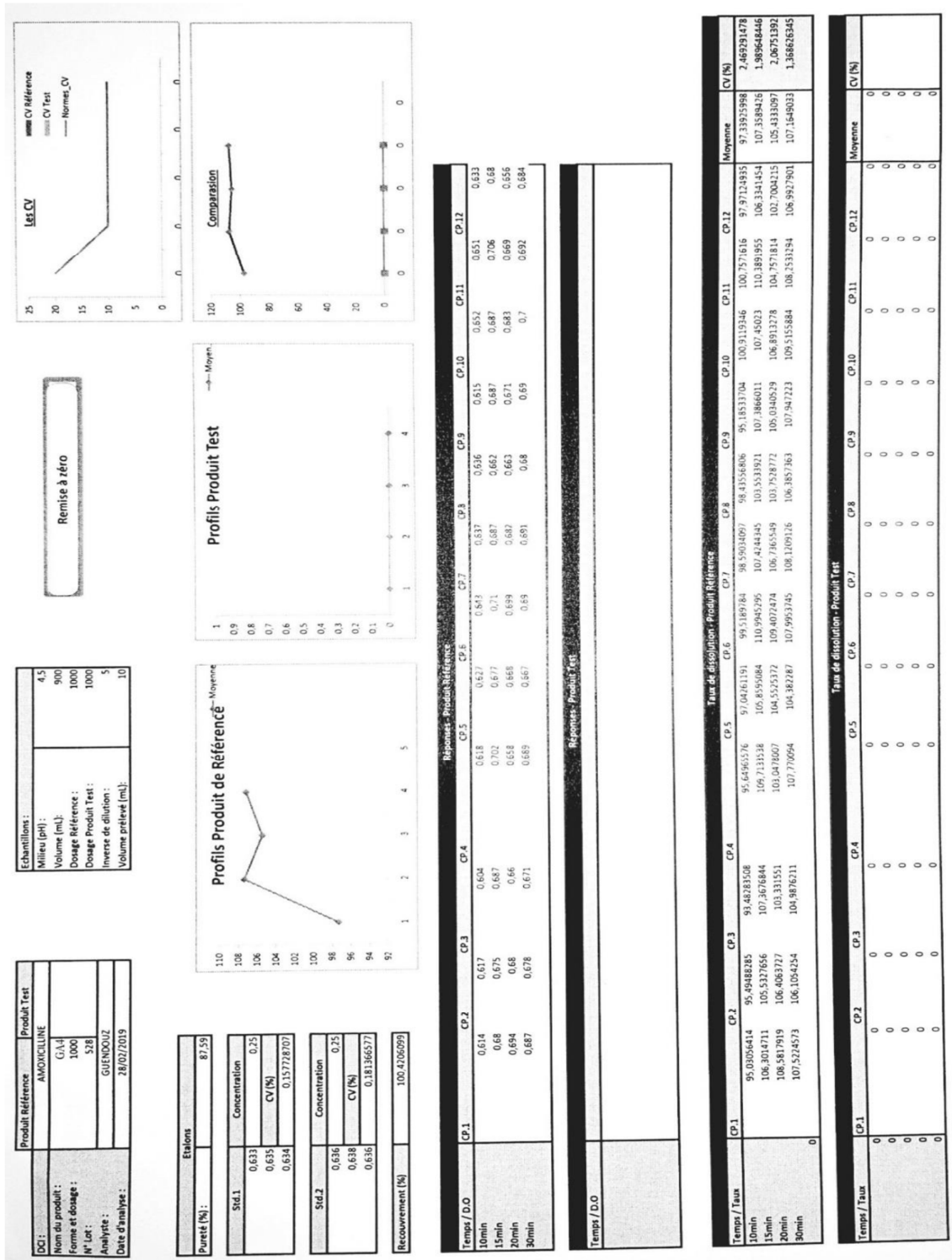
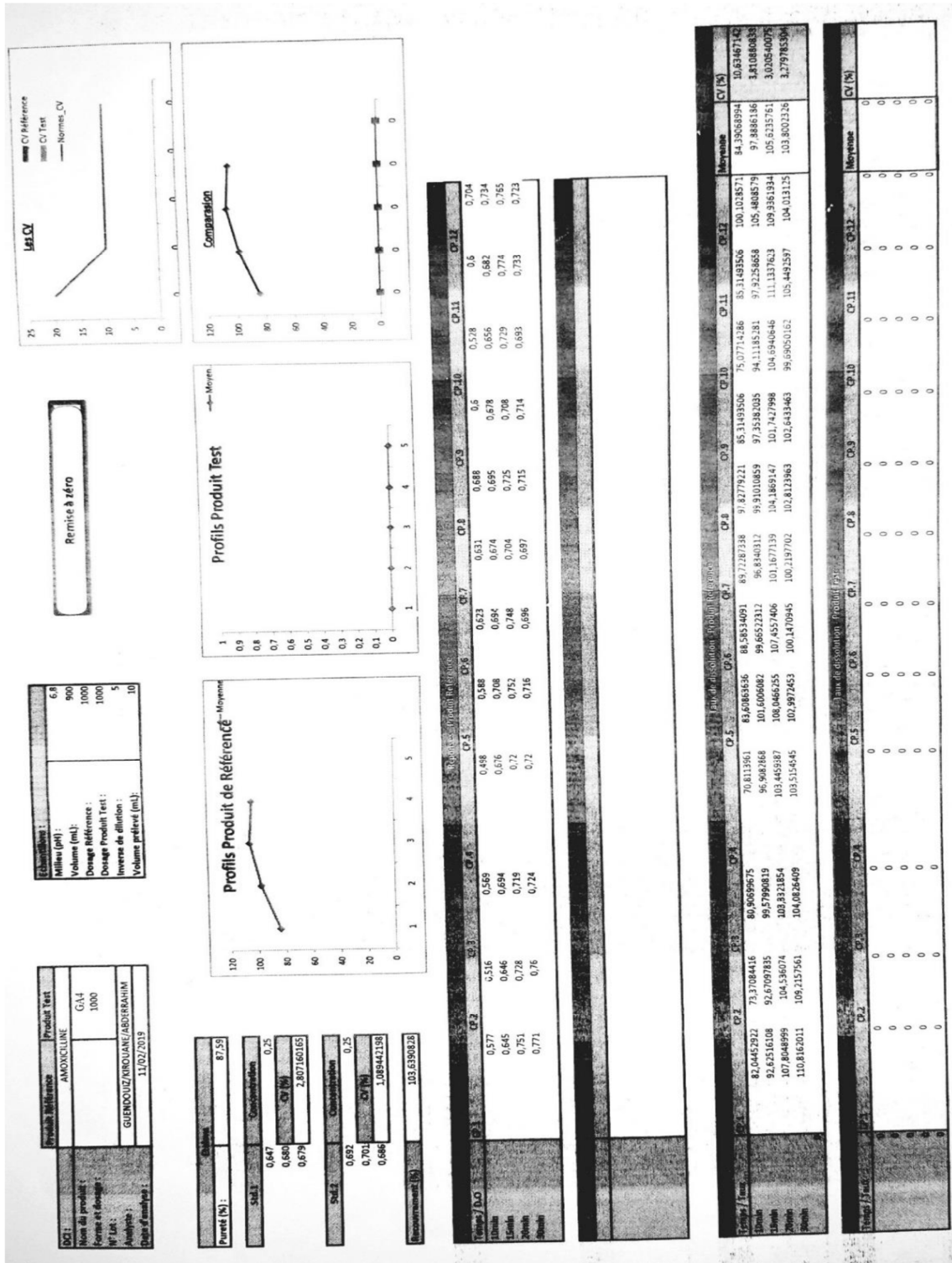


Tableau 97: Les résultats pour le générique GA4 à pH=6,8



**Tableau 98:** Les résultats pour le générique GA5 à pH=1,2.

Q(%) 23 13 002	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	moyenne
5min	69,31	68,02	68,14	69,96	70,34	69,93	68,37	64,99	69,78	69,70	62,22	62,63	67,78
10min	92,42	92,19	95,89	92,28	95,90	96,02	93,57	96,98	96,43	96,25	97,06	94,56	94,96
15min	100,01	101,13	102,40	100,07	101,52	96,13	99,28	96,40	99,11	102,40	101,67	98,78	99,91
20min	100,64	100,85	105,54	100,12	101,97	98,40	104,15	98,43	102,35	97,94	98,71	99,76	100,74
30min	100,65	102,88	101,86	101,09	102,65	101,52	98,68	102,08	97,85	102,35	102,94	100,73	101,27
45min	101,74	98,80	103,77	102,38	102,15	102,30	100,82	101,06	100,26	99,06	99,36	100,06	100,98
60min	101,21	105,20	104,54	100,62	100,65	100,36	101,79	101,59	101,41	101,88	100,76	100,70	101,73
90min	102,44	103,81	100,39	102,68	104,06	101,03	101,36	102,12	102,18	103,12	99,88	101,59	102,05

**Tableau 99:** Les résultats pour le générique GA5 à pH=4,5.

Q(%) -G5-	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	Moy
5min	16,61	16,73	15,07	20,64	15,07	19,45	16,25	15,07	10,32	21,71	21,77	16,73	17,12
10min	45,41	53,54	48,79	43,40	52,11	49,45	52,65	40,01	54,35	41,75	45,42	45,47	47,70
15min	54,02	60,80	58,83	60,42	63,17	59,84	62,40	58,69	56,05	53,18	54,49	53,96	57,99
20min	68,33	69,29	69,65	71,19	68,94	65,85	73,57	63,77	63,65	62,99	65,66	63,23	67,18
30min	72,22	78,92	75,54	73,53	79,22	78,38	77,69	75,89	73,99	76,12	77,19	82,71	76,78
45min	84,92	87,13	87,60	88,48	92,65	93,89	88,67	88,66	86,41	87,30	86,47	86,43	88,22
60min	89,81	91,06	90,17	89,29	95,88	100,33	101,45	93,38	92,84	96,82	91,42	89,82	93,52
90min	91,84	98,78	93,98	90,41	100,16	104,44	103,31	97,07	98,61	95,41	100,32	94,75	97,42

**Tableau 100:** Les résultats pour le générique GA5 à pH=6,8

Q(%) GA5	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	Moy
5min	15,19	12,78	15,19	15,13	15,90	15,19	11,54	15,96	15,19	15,01	15,01	15,19	14,77
10min	52,61	53,31	49,61	57,44	53,08	44,19	67,62	69,51	58,62	50,31	44,01	67,21	55,63
15min	64,17	63,41	66,17	65,30	66,35	65,80	59,03	60,92	67,49	64,05	63,45	63,38	64,13
20min	73,50	84,98	77,86	81,81	81,93	81,45	82,09	78,21	79,28	76,92	77,33	85,22	80,05
30min	92,78	94,51	94,73	93,56	98,09	95,50	97,86	95,26	95,44	96,96	98,08	92,86	95,47
45min	99,77	97,36	99,95	99,42	99,43	98,83	98,66	99,77	96,83	97,19	99,78	99,88	98,90
60min	101,43	99,48	98,72	103,08	101,14	100,43	101,66	102,73	103,96	104,43	100,25	101,55	101,57
90min	103,26	101,08	95,36	101,14	100,55	100,84	103,73	99,85	103,32	103,85	102,43	99,55	101,25



**Tableau 102:** Calcul du facteur de similarité du Clamoxyl F / générique GA2 à pH=4,5.

Temps	T	R	T-R	(TR) <sup>2</sup>
10	56,1681172	102,841642	46,6735251	2178,41795
15	72,8163379	104,424682	31,6083438	999,087395
20	79,9446091	104,291177	24,3465683	592,755386
30	85,3245984	103,346023	18,0214245	324,771743
		Somme	120,649862	4095,03247
				32,0118434
			<b>f2</b>	<b>24,7344658</b>

$$f_2 = 50 \cdot \log \left[ \frac{100}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} [\bar{R}(t) - \bar{T}(t)]^2}{n}}} \right]$$

**Tableau 103:** Les résultats de la comparaison entre le clamoxyl F et le générique GA2 à pH=6,8.

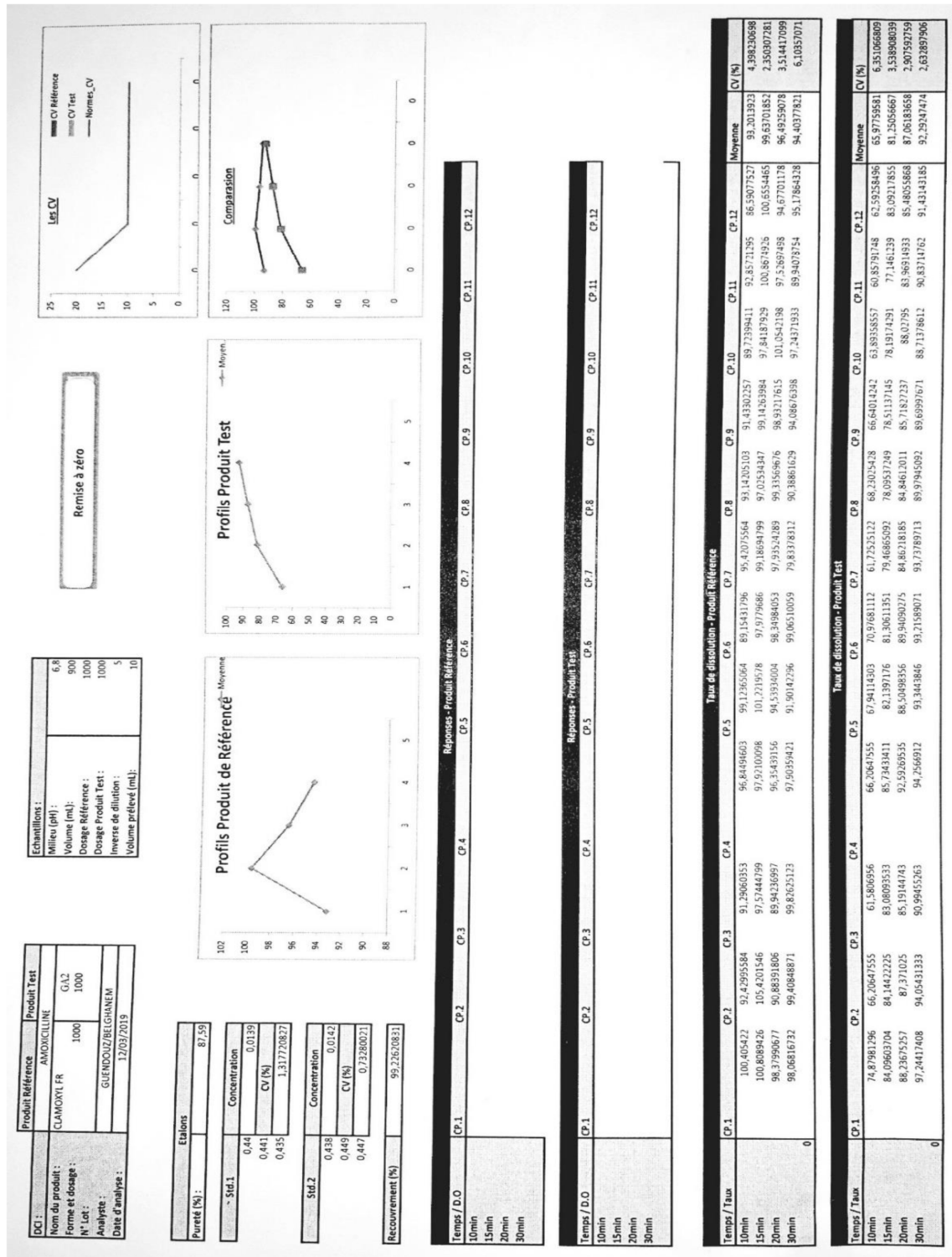


Tableau 104: Calcul du facteur de similarité du Clamoxyl F / générique GA2 à pH=6,8.

Temps	T	R	T-R	(TR) <sup>2</sup>
10	65,9775958	93,2013923	27,2237965	741,135095
15	81,2505667	99,6370185	18,3864519	338,061612
20	87,0618366	96,4925908	9,43075419	88,9391246
30	92,2924747	94,4037782	2,11130347	4,45760236
		Somme	57,152306	1172,59343
				17,1507539
		f2		38,2858393

$$f_2 = 50 \cdot \log \left( \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{i=1}^{i=n} [\bar{R}(t) - \bar{T}(t)]^2}{n}}} \right)$$

### **III.3. Discussion :**

#### **III.3.1. Discussion des Résultats de l'étude pilote de bioéquivalence in vitro (cinétique de dissolution) du générique GA5 par rapport au Clamoxyl :**

Avant d'aborder la discussion de nos résultats, il est important de rappeler que dans les études comparatives de la cinétique de dissolution, le princeps et le générique doivent être de la même forme galénique. Cette condition peut être contournée pour les produits à libération conventionnelle, mais en aucun cas pour les produits à libération prolongée ou gastro-résistante. De plus, la plupart des directives recommandent que le produit générique ait la même forme posologique que l'innovateur lorsque l'interchangeabilité est envisagée, conformément à la définition de l'équivalent pharmaceutique selon la FDA des États-Unis. [154,155]

Cependant, certains organismes acceptent des différences posologiques, à condition que les deux médicaments conservent la même voie d'administration, tels que les comprimés, les capsules et les sirops [156,157]. Par conséquent, cela souligne la nécessité d'une harmonisation mondiale des définitions.

Il convient également de noter que le facteur  $f_2$  peut être utilisé seul car il interprète mieux la similarité. Cependant, l'utilisation des deux facteurs reste un bon choix, compte tenu de la possibilité d'obtenir des résultats contradictoires.

##### **III.3.1.1. Le choix des études de comparaison :**

Les résultats de notre travail seront interprétés par rapport aux normes et par rapport aux résultats d'autres études qui traitent la même problématique. Aucune étude algérienne n'est publiée dans ce contexte, on a sélectionné alors, deux études qui comparent la cinétique de dissolution des comprimés/ capsules de l'amoxicilline dans trois milieux (pH 1,2 ; 4,5 ; 6,8) :

- La première étude réalisée en 2012, par Löben berg et al, elle porte sur l'évolution et la comparaison des profils de dissolution pour l'amoxicilline le métronidazole et le zidovudine. 12 marques d'amoxicilline disponibles sous forme de comprimés en Amérique de sud (5 en Argentine, 4 au Chili et 3 au Pirou) ont été analysées avec l'HAPLC selon une méthode de la Pharmacopéeaméricaine (USP). Les données de profil de dissolution obtenues des 12 marques ont été évaluées et comparées avec un produit pharmaceutique de comparaison (CPP) qui est (Amoxicillin Sandoz) en utilisant le facteur de similarité  $f_2$ . [158]

- La deuxième est réalisée en 2014 par Arlene Villarroel Stuart, Jieyu Zuo, et Raimar Löbenberg, elle a comme objectif de comparer les profils de dissolution et les variations de poids pour différentes formulations d'amoxicilline (250, 500 mg capsules et comprimés) de métronidazole et de zidovudine commercialisés à Trinité-et-Tobago dans les Caraïbes. Les profils de dissolution ont été comparés selon les critères de (OMS) pour l'interchangeabilité entre les produits. Le facteur de similarité,  $f_2$ , a été utilisé pour déterminer l'homogénéité entre les produits. Pour la comparaison on n'interprétera que les résultats des capsules et comprimés à 500 mg. [159]

### III.3.1.2. Interprétation des résultats :

#### ➤ À pH=1,2 :

La comparaison des résultats du tableau 74 entre princeps et GA5 montre que dans les premières 5 minutes le pourcentage de libération du PA du GA5 (gélule) est supérieur à celui du princeps due probablement à la formulation de chacun des médicaments. Au-delà, l'évolution est presque égale. Les deux formulations d'amoxicilline ont libéré plus de 85% de PA en 15 minutes (une libération totale), la cinétique de dissolution est dite alors asymptote (très rapide) et l'interprétation statistique n'est pas applicable, les profils sont considérés comme similaires. Quant aux résultats des deux études, 6 prélèvements ont été effectués aux temps: T= 10 min; 20 min; 30 min; 40 min et 60 min. Dans l'étude caribéenne, toutes les formulations d'amoxicilline ont libéré plus de 85% du PA dans les 15 minutes. La libération maximale du médicament était à T=30 min, puis, les profils de dissolution ont par la suite diminué. Cette diminution a été aussi remarquée dans tous les échantillons (génériques et princeps) de l'étude américaine mais, pas ce dans notre étude, ou le dosage de PA a suivi une évolution croissante jusqu'à 15min puis il s'est stabilisé à une valeur maximale (libération totale) jusqu'à la fin. Ce comportement est dû à l'instabilité de l'amoxicilline dans le milieu acide. De plus, toutes les formulations en Argentine et au Chili avaient une libération du PA supérieure à 85% en 15 minutes, par contre, pour le Pérou, le  $f_2$  de tous les produits était supérieur à 50.

➤ **À pH=4,5 :**

La dissolution dans ce milieu était la plus lente dans toutes les études.

Le tableau 76 et la figure 30 montrent qu'à T=5min, le pourcentage de libération de PA du GA5 est toujours supérieur à celui du princeps. Ce dernier, et à partir de ce point, a développé une cinétique étrange, la concentration de PA a continué à augmenter pour atteindre les 80,19% à T= 30 puis elle est descendu jusqu'à 76,87% à T=45 cela, peut avoir comme cause probable le fait, que le cycle bêta-lactame de l'amoxicilline s'ouvre lorsqu'il est placé dans un environnement neutre ou basique pour donner lieu à une substance inactive. On peut conclure donc qu'à ce stade la vitesse de l'inactivation « dégradation » de PA est supérieure à la vitesse de sa libération. A partir de ce point l'évolution a repris un rythme normal et a dépassé les 85% à T=60min (Q=94,01%) et la libération totale a eu lieu à T=90min (Q=100,40%).

Quant à GA5, l'évolution était croissante tout au long des 90 minutes et la libération de PA a dépassé les 85% à partir de la 45ème minute (Q=88,22%).

Ainsi, et malgré les petites différences, les résultats confirment presque l'égalité des pourcentages de libération de PA entre le princeps et le générique. Les deux médicaments ont répondu aux normes exigées par la méthode de référence (USP) avec un pourcentage supérieur à 80% à T= 30min pour le princeps et à T=60 min pour GA5 et les valeurs des facteurs de similarité  $f_2=55,63 >50$  et de différence  $f_1 =0,01 <15$  viennent de confirmer la similitude de leur profil de dissolution.

Seules les capsules d'Amoxil® (princeps) et les comprimés Ospamox® dans l'étude caribéenne ont libéré plus que 85% du PA à 60 et 30 minutes, respectivement. Alors que dans l'étude de Löbenberg, 2génériques parmi les cinq testés en Argentine avaient une dissolution asymptote, 1 au Pérou et 1 au Chili, pour les autres, le  $f_2$  était inférieur aux normes.

➤ **À pH = 6,8 :**

En s'appuyant sur les résultats du tableau 79 et la figure 31, on observe presque la même chose dans ce milieu.

- Pour le princeps, la libération du PA est inférieure à celle du GA5 à T = 5min, et une baisse de (83,03%) à (81,10%) est remarquée entre T=15 et 20 min.

- L'évolution de la cinétique du générique GA5 est normale, la libération de PA est croissante et elle devient supérieure à celle du princeps à partir de T=30min pour atteindre enfin la libération totale à T = 60 min.

- Les deux formulations sont conformes aux normes : le princeps libère plus de 80% de PA à partir de 30 min (83,92%) et le générique à partir de T= 60 min (101,57%), et le pourcentage est supérieur à 85% à plusieurs points.
- Les résultats trouvés par le calcul de facteur de similarité f2 et facteur de différence f1 révélés par le tableau 80 montrent une similarité de la cinétique de dissolution du princeps et du générique.
- Dans l'étude américaine, en plus de CPP, 3 génériques avaient un pourcentage de dissolution supérieur à 85% en 15 min (2 de l'Argentine et 1 de Chili). Et de nouveau, seuls le princeps Amoxil et le générique Ospamox® présentaient une dissolution asymptote, dans l'étude caribéenne.

On conclut donc que :

- Dans notre travail, la bioéquivalence in vitro de GA5 et du Clamoxyl est démontrée.
  - Dans l'étude de Löbenberg et al, seuls 3 génériques sur 12 prouvent une bioéquivalence in vitro avec le produit de référence.
  - Un seul générique de 500 mg est bioéquivalent in vitro avec le princeps dans l'étude caribéenne. La bioéquivalence in vitro peut être un bon indicateur d'interchangeabilité des médicaments: deux médicaments non-bioéquivalents in vitro sont nécessairement non-interchangeables, mais leur bioéquivalence ne veut pas dire forcément qu'ils sont interchangeables. Pour pouvoir mieux étudier l'interchangeabilité des produits, ce genre d'études doit être forcé par d'autres types d'études telles que : les études de bioéquivalence in vivo, les études de stabilités et les études microbiologiques (dans le cas des antibiotiques).
- En se basant sur les résultats de la stabilité du GA5 dans la prochaine partie on pourra juger mieux sa qualité ainsi que la possibilité de sa substitution avec le « Clamoxyl».

### III.3.2. Discussion des résultats de l'étude des cinétiques de dissolution des 5 génériques par rapport au Clamoxyl Algérien et Clamoxyl Français :

➤ **À pH = 1,2 :**

La comparaison des résultats du tableau 81 et les tableaux 84, 87, 90, 93, 96, 99 entre clamoxyl F et clamoxyl A, GA1, GA2, GA3, GA4, GA5 (respectivement) montre que les formulations d'amoxicilline ont libéré plus de 85% de PA en 15 minutes (une libération totale), la cinétique de dissolution est dite alors asymptote (très rapide) et l'interprétation statistique f2 n'est pas applicable, **les profils sont considérés similaires** (en se référant aux normes de l'USP).

➤ **À pH = 4,5 :**

- La comparaison des résultats du tableau 82 et les tableaux 85, 88, 94, 97, 100 entre clamoxyl F et clamoxyl A, GA1, GA3, GA4, GA5 (respectivement) montre que les formulations d'amoxicilline ont libéré plus que 85% de PA en 15 minutes (une libération totale), la cinétique de dissolution est dite alors asymptote (très rapide) et l'interprétation statistique f2 n'est pas applicable, **les profils sont considérés similaires** (en se référant aux normes de l'USP).
- La comparaison des résultats du tableau 102 entre clamoxyl F et GA2 montre que le pourcentage de libération de PA du GA2 à T=15min était de 72,81 (clamoxyl F 104,42), puis elle a augmenté jusqu'à 79,94% à T= 20, à partir de ce point, la concentration de PA a continué à augmenter pour atteindre les 85,32% à T= 30. Moins de 85% du PA sont dissous à T=15min (dissolution incomplète) et l'interprétation statistique f2 est applicable (f2= 24,73 Tableau 103), **les profils sont considérés non similaires** (en se référant aux normes de l'USP).

➤ **À pH = 6,8 :**

- La comparaison des résultats du tableau 83 et les tableaux 86, 89, 95, 98, 101 entre clamoxyl F et clamoxyl A, GA1, GA3, GA4, GA5 (respectivement) montre que les formulations d'amoxicilline ont libéré plus de 85% de PA en 15 minutes (une libération totale), la cinétique de dissolution est dite alors asymptote (très rapide) et l'interprétation statistique f2 n'est pas applicable, **les profils sont considérés comme similaires** (en se référant aux normes de l'USP).
- La comparaison des résultats du tableau 104 entre clamoxyl F et GA2 montre que le pourcentage de libération de PA du GA2 à T=15min était de 81,25 (clamoxyl F 99,63).

À partir de ce point l'évolution a repris un rythme normal et a dépassé les 85% à T=20min (87,06%). Moins de 85% du PA sont dissous à T=15min (dissolution incomplète) et l'interprétation statistique f2 est applicable (f2= 38,54 Tableau 105), **les profils sont considérés comme non similaires** (en se référant aux normes de l'USP).

- La non similarité de comparaison de deux profils de cinétique de dissolution du Clamoxyl F et GA2 peut se confirmer par les taches jaunes qu'on a observé par un contrôle visuel des comprimés de GA2, qui doivent être de couleur blanche. La couleur jaune peut être due soit à une dégradation de la matière première ou des excipients, soit des problèmes dans le procédé de fabrication ou bien à des problèmes de conditionnements, de transport ou de stockage.
- La cinétique de dissolution est considérée comme un outil important pour prédire la biodisponibilité in vivo et a été utilisée pour démontrer la bioéquivalence et permettre l'interchangeabilité.[136]

La FDA considère souvent que les tests de dissolution sont plus discriminatoires que les tests in vivo. [105]

Les facteurs statistiques f1 et f2 sont largement utilisés dans les études de bioéquivalence in vitro comparant les profils de dissolution de deux produits. Ils sont adoptés non seulement par la FDA, mais également par l'Agence européenne d'évaluation des médicaments (EMA). [160]

**Les résultats de notre étude ont montré que parmi les 5 génériques algériens testés, 4 sont bio-équivalents in vitro (GA1, GA3, GA4 et GA5), alors qu'un seul générique GA2 ne l'était pas.**

Pour mieux comprendre la position de nos résultats par rapport à des études similaires menées à l'échelle internationale. Il convient de noter que les études publiées sur la cinétique de dissolution ont été basées soit sur des méthodes de dissolution en milieu aqueux selon les pharmacopées, soit sur la méthode de biowaiver BCS. Les méthodes de biowaiver basées sur la classification BCS pour la dissolution requièrent l'utilisation de trois milieux à pH 1,2, 4,5 et 6,8 au lieu de l'eau comme milieu de dissolution (comme ce fut le cas dans notre étude).

En général, la méthode de biowaiver basée sur le BCS exige une libération d'au moins 85% en 30 minutes pour une dissolution rapide ou d'au moins 85 % en 15 minutes pour une dissolution très rapide.

Nous avons référencé et analysé plusieurs études de bioéquivalence in vitro, publiées dans de nombreuses revues prestigieuses :

La première étude est une analyse post-commercialisation publiée par Thambavita et col en 2019 pour comparer les profils de dissolution de trois génériques d'amoxicilline enregistrés dans le marché Sri lankais. Les tests de dissolution in vitro ont été réalisés conformément aux lignes directrices de l'OMS pour les études de biowaiver. L'étude a comparé trois génériques d'amoxicilline en forme orale solide de 500 mg (génériques A, B et C) disponibles au Sri Lanka avec le produit innovant. Les échantillons de dissolution ont été quantifiés à l'aide d'une méthode validée de chromatographie liquide à haute performance avec absorption ultraviolette (UV) à 229 nm. Les résultats ont montré que tous les produits étaient conformes aux spécifications de la pharmacopée, mais une variation des données de dissolution supérieure à 20 % a été observée au point temporel de 10 minutes, et une variation de 10 % a été observée aux points temporels ultérieurs avec le produit A à pH 4,5 et le produit C à pH 4,5 et 6,8. Par conséquent, les procédures conventionnelles de facteur de similarité ( $f_2$ ) et de région de confiance multivariée indépendante du modèle (approche bootstrap) ont été utilisées pour comparer les profils de dissolution. Seul le générique « A » a satisfait aux critères de l'étude de dissolution dans les trois conditions de pH. Le générique B n'a pas satisfait aux critères de l'étude de dissolution à un pH de 4,5, et le générique C, dont les données de dissolution sont très variables, a satisfait aux critères de dissolution à un pH 4 en utilisant la méthode bootstrap  $f_2$ , mais n'a pas satisfait aux critères de dissolution à un pH de 6,8. Cette étude souligne la nécessité d'examiner attentivement un ou plusieurs modèles mathématiques appropriés pour comparer les profils de dissolution, en particulier lorsque le coefficient de variation (CV) justifie l'application de deux modèles pour des conditions de pH différentes. Selon les auteurs, les lignes directrices internationales sur les études de dissolution basées sur le BCS ne fournissent pas d'indications adéquates sur ces questions.[161]

La deuxième étude a été publiée par Bronnikova et col en 2008, portant sur l'évaluation de la bioéquivalence in vitro de Huit génériques d'amoxicilline commercialisés en Russie et en Estonie. Cette étude a été réalisée en utilisant l'appareil de dissolution à palette et l'appareil à panier à 75 tr/min pour les comprimés et les gélules d'amoxicilline. L'étude a montré que pour les gélules, bien que la norme USP 28 recommande une analyse HPLC à 230 nm, les résultats ont été obtenus à 272 nm par une simple analyse UV après validation de cette dernière par

rapport à la méthode HPLC ( $\pm 3\%$ ). Les échantillons ont été prélevés à 30 et 90 min. Sept des huit formulations d'amoxicilline ont pu répondre au critère d'acceptation d'au moins 80 % de la quantité marquée en 90 minutes, avec au moins 75 % de la quantité libérée en 30 minutes.[162]

La Troisième étude de dissolution a été réalisée par Naz Hasan Huda et col, sur 24 génériques d'amoxicilline gélules en utilisant la méthode des palettes USP 30 dans de l'eau pendant 60 min. Une spécification de dissolution in vitro d'au moins 80% de la quantité de trihydrate d'amoxicilline en 60 min a été utilisée comme valeur limite dans cette étude. Les résultats de cette étude ont montré une conformité pour 22 des 24 produits testés.[163]

La Quatrième étude est celle de Löbenberg, R et ses collaborateurs, publiée en 2012 dans le journal de l'association américaine des scientifiques pharmaceutiques. L'étude a évalué la bioéquivalence in vitro de 12 génériques de l'amoxicilline commercialisés dans trois pays de l'Amérique latine (Argentine, Pérou et Chili) par rapport à un princeps américain, les résultats de cette étude ont montré que seulement trois génériques parmi 12 étudiés, sont bio-équivalents in vitro par rapport au princeps.[158]

La Cinquième étude publiée par L Kassaye 1 et G Genete en 2013, l'étude a porté sur 8 génériques commercialisés en Ethiopie, ces derniers sont testés sur le plan bioéquivalence in vitro selon l'USP 2009, les auteurs ont conclu que la majorité des génériques testés (5 sur 8) ne sont pas bio-équivalents in vitro. [164]

La Sixième étude est réalisée par N. M. Saptarini en 2013. Dans cette étude, la dissolution de 6 génériques en comprimés d'amoxicilline de 500 mg a été réalisée conformément à l'USP 31, avec une analyse par absorbance UV à 271 nm. Tous les produits étaient conformes aux spécifications pharmacopée, à savoir une dissolution d'au moins 80 % en 30 minutes.

Cependant, cette étude a également quantifié l'amoxicilline en utilisant l'absorption UV au lieu de la méthode HPLC recommandée et n'a pas fourni de données sur la validation de la méthode analytique. Par conséquent, la fiabilité des résultats de cette étude est à remettre en cause.[165]

La Septième étude est menée par Arlene Villarroel Stuart et Col, et publiée en 2014 dans le journal de l'association américaine des scientifiques pharmaceutiques (AAPS). Les résultats

de cette étude ont montré qu'aucun produit des 7 génériques testés n'est bio-équivalents par rapport au princeps. [159]

La Huitième étude est réalisée et publiée par Nallagundla H. S. Reddy et col en 2014, portant sur l'évaluation de 14 génériques commercialisés en Inde et en Afrique du Sud. Cette étude a conclu que tous les génériques testés ne sont pas bio-équivalents in vitro par rapport au princeps. [104]

La Neuvième étude est menée par Mubarak Nasser Al Ameri et col, publiée en 2011 dans la revue *Pharmasciences*, l'étude a évalué 24 génériques entre autres des génériques de l'amoxicilline, cette étude a montré que tous les génériques d'amoxicilline répondent aux normes de la bioéquivalence in vitro. [136]

La Dixième étude a été menée par Odulaja J. Olanrewaju et col en 2012 au Nigeria. Cette étude a examiné sept génériques de comprimés d'amoxicilline/acide clavulanique et a révélé que seulement l'un d'entre eux n'était pas bioéquivalent au produit innovateur. [166]

La Onzième étude a été publiée par Moawia M. Al-Tabakha et col en 2017 aux Emirats arabes. Cette étude visait à déterminer si les génériques en comprimés d'amoxicilline commercialisés localement présentent les caractéristiques chimiques et physiques requises, y compris les performances de bioéquivalence in vitro. Cinq produits génériques (T1, T2, T3, T4 et T5) contenant une combinaison de trihydrate d'amoxicilline et de clavulanate de potassium en comprimés à libération immédiate de 1g, ont été comparés au produit pharmaceutique de référence, Augmentin® (R) pour la variation de poids, la friabilité, la résistance à l'écrasement et le contenu chimique de l'amoxicilline. Les facteurs de différence (f1) et de similarité (f2) ont été calculés pour évaluer les exigences de bioéquivalence in vitro. Trois produits génériques ont libéré plus de 85 % de l'amoxicilline au cours des 15 premières minutes, tout comme le produit de référence, et ont été considérés comme des produits bioéquivalents. T1 et T4 avaient des valeurs f1 de 16,5 % et 25,4 % respectivement et leurs valeurs f2 étaient de 44,5 et 34,6 respectivement, ce qui indique qu'ils ne satisfont pas aux exigences de bioéquivalence in vitro. Les formulations de comprimés peuvent jouer un rôle important dans l'obtention de la bioéquivalence. Selon les auteurs, les enquêtes indépendantes telles que la présente étude constituent un outil important pour révéler d'éventuels produits de qualité inférieure ou non conformes susceptibles de se retrouver sur le marché. [144]

La Douzième étude a été menée par ZOUNGRANA Wendpouire en 2021. Le but de cette étude était d'évaluer la qualité physicochimique ainsi que la bioéquivalence in vitro des différentes marques de gélules d'amoxicilline commercialisées au Burkina Faso. Neuf marques différentes de gélules d'amoxicilline (y compris le produit comparateur) ont été achetées auprès des distributeurs locaux agréés. Les essais de contrôle de qualité (uniformité de masse, désagrégation, dissolution, identification et dosage) ont été réalisés selon la monographie de la pharmacopée américaine (USP). La comparaison des profils de dissolution in vitro a été réalisée dans trois milieux de pH différents (1,2 - 4,5 - 6,8) en utilisant les calculs statistiques des facteurs de différence (f1) et de similitude (f2).[100] Les résultats des essais d'identification ont révélé que tous les échantillons contenaient le principe actif indiqué. Les teneurs moyennes en principe actif se situaient entre 104,60 et 114,94 %, les temps désagrégation étaient de 6,12 à 13,44 minutes et les pourcentages moyens de dissolution en 60 minutes étaient compris entre 83,21 à 94,93 %. Deux échantillons (c'est-à-dire 25,0%) avaient des profils de dissolution non similaires à ceux du produit comparateur. Les valeurs de f1 étaient >15 et les valeurs de f2 étaient < 50 pour ces deux échantillons. Cette étude de Zoungrana a révélé que toutes les marques de gélules d'amoxicilline étudiées étaient conformes aux spécifications de l'USP pour la qualité physicochimique. Cependant, la similitude des profils de dissolution avec la référence n'a pu être démontrée que pour six marques génériques (75,0 %) qui pourraient être considérées comme interchangeables avec le produit innovateur dans la pratique clinique.[100]

Nos résultats sont très cohérents avec la plupart des études décrites ci-dessus, qui ont trouvé de nombreux échecs de bioéquivalence in vitro de l'amoxicilline générique par rapport à l'innovateur.

La variabilité de la bioéquivalence in vitro des produits génériques de l'amoxicilline peut dépendre de divers facteurs tels que la qualité des matières premières utilisées dans le processus de fabrication, le processus de fabrication lui-même et la formulation du produit final.

Les études de bioéquivalence in vitro consistent généralement à tester le taux et l'étendue de la libération du médicament par le produit générique par rapport au produit d'origine. Si le

taux et l'étendue de la libération du médicament sont similaires entre les deux produits, ils sont considérés comme bioéquivalents.

Cependant, même si les matières premières utilisées dans le processus de fabrication sont de haute qualité et que le processus de fabrication est soigneusement contrôlé, il peut toujours y avoir des différences dans le produit final qui peuvent affecter sa bioéquivalence. Par exemple, la distribution de la taille des particules de la substance médicamenteuse, le type et la quantité d'excipients utilisés dans la formulation et la méthode de fabrication du produit final peuvent tous affecter le taux et l'étendue de la libération du médicament.

En outre, la variabilité de la bioéquivalence in vitro des produits génériques de l'amoxicilline peut également être influencée par la variabilité de la méthode d'analyse elle-même. Les études de bioéquivalence in vitro font généralement appel à des tests de dissolution, qui peuvent présenter une variabilité inhérente en raison de facteurs tels que la variabilité de l'équipement et la variabilité de la méthode.

Cette non-conformité que nous avons obtenu pour le générique GA2 est peut être liée à un ou plusieurs facteurs de variabilité qui impactent directement ou indirectement la bioéquivalence in vitro et par conséquent la bioéquivalence in vivo ce qui peut avoir causé des problèmes quant à l'interchangeabilité de ces génériques avec le princeps, parmi ces facteurs de variabilité nous pouvons citer :

- **Les problèmes liés à la formulation galénique et le choix des excipients :** Les excipients sont les ingrédients inactifs d'une formulation médicamenteuse qui sont ajoutés pour améliorer les propriétés physiques et chimiques du médicament. Les excipients peuvent affecter la bioéquivalence d'un médicament en modifiant sa vitesse de dissolution, sa vitesse d'absorption, sa perméabilité et d'autres propriétés pharmacocinétiques.

L'amoxicilline est souvent formulé dans des comprimés ou des gélules contenant des excipients qui améliorent sa solubilité et sa vitesse de dissolution. Par exemple, le glycolate d'amidon sodique, la croscarmellose sodique et la cellulose microcristalline sont couramment utilisés comme désintégrants pour aider le comprimé ou la gélule à se désintégrer rapidement dans le tractus gastro-intestinal, favorisant ainsi la libération et la dissolution du médicament.

Outre les désintégrants, d'autres excipients tels que les surfactants, les modificateurs de pH et les agents complexants peuvent également affecter la vitesse de dissolution et la biodisponibilité de l'amoxicilline. Par exemple, l'utilisation d'un modificateur de pH tel que l'acide citrique peut améliorer la vitesse de dissolution en ajustant le pH du milieu de dissolution.

Les variations du processus de fabrication peuvent également avoir un impact sur la vitesse de dissolution des génériques de l'amoxicilline. Par exemple, la taille et la forme des particules du principe actif, la force de compression utilisée pour fabriquer les comprimés et l'enrobage des comprimés peuvent tous affecter la vitesse de dissolution.

Le processus de fabrication des génériques d'amoxicilline peut être un facteur important dans le taux élevé d'échec des tests de dissolution. Le processus de fabrication comprend diverses étapes telles que le mélange, la granulation, le séchage et la compression, qui peuvent toutes avoir un impact sur les propriétés de dissolution du médicament. Si ces processus ne sont pas correctement contrôlés, les propriétés de dissolution du produit pharmaceutique peuvent être incohérentes, ce qui entraîne un taux d'échec élevé des tests de dissolution. Par exemple, un mauvais mélange ou une granulation inadéquate peut entraîner la formation d'agrégats ou de particules qui ne se dissolvent pas facilement, ce qui entraîne une dissolution incomplète du médicament. De même, un séchage excessif ou une force de compression élevée peuvent conduire à un comprimé plus dense qui se dissout lentement ou incomplètement, ce qui entraîne un taux d'échec élevé lors des tests de dissolution. Il est donc essentiel que les fabricants de médicaments génériques mettent en place des systèmes de contrôle qualité solides qui garantissent la cohérence et la reproductibilité du processus de fabrication et, par conséquent, la qualité du produit pharmaceutique final. Pour garantir la bioéquivalence des génériques de l'amoxicilline, les autorités compétentes réglementaires exigent que la vitesse de dissolution du produit générique soit comparable à celle du produit de référence. Des tests de dissolution in vitro sont généralement effectués sur les produits génériques et de référence afin d'évaluer leurs profils de dissolution et de garantir la bioéquivalence. En choisissant des excipients appropriés et en contrôlant le processus de fabrication, les fabricants de génériques d'amoxicilline peuvent optimiser la vitesse de dissolution de leurs produits et atteindre la bioéquivalence par rapport au produit de référence.

o **Les problèmes de la solubilité :**

Le trihydrate d'amoxicilline à des doses inférieures à 750 mg est considéré comme très soluble et très perméable, ce qui entraîne une classification en tant que substance BCS I avec éligibilité à une dérogation basée sur le BCS. À des doses plus élevées, il doit être considéré comme un composé BCS de classe II (doses de 750 mg à 1000 mg), voire de classe IV (doses supérieures à 1000 mg), en raison d'une cinétique d'absorption non linéaire, très probablement due à des limites de solubilité et à la saturation des mécanismes de transport actif via les transporteurs de peptides humains (hPEPT).[167]

En se référant à la classification biopharmaceutique (BCS) [168], le générique GA2 ainsi que les génériques GA1, GA3 et GA4 sont classés en BCS II (faible solubilité et forte perméabilité), alors que le GA5 est le seul générique qui appartient à la classe I.

Les doses de 500 mg d'amoxicilline administrées par voie orale sont presque complètement et rapidement absorbées [33], avec une fenêtre d'absorption pour le transport actif via hPEPT dans l'intestin grêle [170,171], et montrent donc une apparition précoce (Tmax de 1,0 à 2,5 h) de la concentration maximale Cmax observée dans le plasma sanguin.[108] L'amoxicilline est éliminée à une demi-vie d'élimination courte (1 à 1,5 h) [169,172,173] par filtration et sécrétion rénales [174] comme principale voie d'élimination, avec 43 à 80% de la dose se retrouvant dans l'urine sous forme d'amoxicilline intacte [173,175,176] et jusqu'à 25% sous forme de son métabolite inactif, l'acide pénicillique. [177]

Pour les médicaments tels que l'amoxicilline qui présentent un Tmax précoce et une demi-vie pharmacocinétique courte, Kortejarvi et ses collaborateurs ont souligné que la Cmax, l'un des principaux paramètres évalués par la bioéquivalence, est particulièrement susceptible d'être influencée par les différences dans le comportement de dissolution des principes actifs pharmaceutiques.[178]

- o **Le choix de la méthode d'évaluation de la bioéquivalence in vitro :** Dans ce contexte, une étude a été menée par J. Okumura en 2010 en Cambodge, Cette étude a été lancée suite aux résultats d'une enquête sur les médicaments de qualité inférieure au Cambodge en 2007, l'enquête a constaté que plus de 90% des génériques en capsules d'amoxicilline de 500mg échouaient au test de dissolution (Test 1) de la pharmacopée américaine (USP 30). Dans l'USP, plusieurs monographies proposent plusieurs méthodes pour réaliser le test de dissolution. En utilisant la gélule d'amoxicilline/acide clavulanique (AMPC) de 500 mg

comme exemple, les auteurs ont cherché à identifier les problèmes et les implications des méthodes de l'USP adoptées pour le test de dissolution en tant que norme mondiale.

Cette étude, portant sur 35 génériques d'amoxicilline de 500 mg, a utilisé les méthodes USP 30 TEST 1, USP 30 TEST 2 et USP 28 et a montré un taux élevé d'échec de la dissolution par rapport à USP 30 TEST 1 (avec un taux de conformité de seulement 3/35 génériques soit 8,6 %). En revanche, le taux de conformité avec l'USP 30 TEST 2 était de 97,1 %, et avec le test USP 28, il était de 97,1 %. La différence entre les résultats de dissolution des trois méthodes était significative ( $p < 0,0001$ ). Cette étude a révélé que de nombreux utilisateurs choisissent la méthode la plus stricte alors que plusieurs méthodes existent dans l'USP. Cela peut conduire à un taux d'échec élevé des tests USP. À la lumière des résultats de cette étude, les auteurs ont recommandé que l'USP prenne en considération les pays en voie de développement et qu'elle crée un manuel plus détaillé et plus facile à utiliser pour la sélection des méthodes appropriées.[179]

- **La mauvaise qualité des matières premières :** La qualité de l'ingrédient pharmaceutique actif (IPA) utilisé dans le produit générique d'amoxicilline peut avoir un impact significatif sur ses propriétés de dissolution. Un IPA de mauvaise qualité peut ne pas se dissoudre correctement, ce qui entraîne un taux d'échec élevé lors des tests de dissolution et de bioéquivalence in vitro.
- **Conditions de stockage inadéquates :** Des conditions de stockage inadéquates peuvent entraîner la dégradation de l'amoxicilline générique, ce qui peut affecter sa vitesse de dissolution. Des facteurs tels que la température, l'humidité et l'exposition à la lumière peuvent avoir un impact sur la stabilité du médicament.

Dans le même contexte, une étude intitulée « les Effets des conditions d'emballage et de stockage sur la qualité de l'amoxicilline-acide clavulanique, analyse d'échantillons cambodgiens », l'étude a été publiée par Mohiuddin Hussain Khan et col en 2013, dans laquelle, les auteurs ont souligné que l'utilisation de médicaments de qualité inférieure et dégradés est un problème majeur de santé publique dans les pays en développement comme le Cambodge. Les comprimés d'amoxicilline-acide clavulanique ont été obtenus dans des points de vente au Cambodge. L'état de l'emballage, les informations imprimées et les autres sources d'information ont été examinés. Les échantillons ont été testés en termes de dosage, d'uniformité du contenu et de dissolution. L'authenticité a été vérifiée

auprès des fabricants et des autorités réglementaires. Au total, 59 échantillons ont été prélevés dans 48 points de vente de médicaments. La plupart (93,2 %) des échantillons étaient d'origine étrangère. Sur la base de critères d'acceptation prédéterminés, 12 échantillons (20,3 %) étaient non conformes. Huit (13,6 %), 10 (16,9 %) et 20 (33,9 %) échantillons ont échoué respectivement aux tests de dosage, d'uniformité du contenu et de dissolution. Les échantillons qui ne respectaient pas les critères d'acceptation par observation étaient significativement plus susceptibles d'échouer aux tests de qualité (test exact de Fisher,  $p < 0,05$ ). L'étude a conclu que des conditions d'emballage et de stockage inadéquates peuvent réduire la qualité des préparations d'amoxicilline-acide clavulanique dans les pharmacies communautaires. Les auteurs ont recommandé des mesures strictes de contrôle de la qualité en urgence pour maintenir la qualité de l'amoxicilline-acide clavulanique dans les pays tropicaux.[180]

- **Variations de la méthode analytique :** Les variations de la méthode analytique utilisée pour mesurer la dissolution du médicament peuvent également contribuer à un taux d'échec élevé des tests de dissolution. Des incohérences dans la préparation de l'échantillon, l'analyse et l'interprétation peuvent affecter les résultats du test de dissolution.

Il est important de noter que les raisons ci-dessus ne sont pas exhaustives et qu'il peut y avoir d'autres facteurs contribuant au taux élevé d'échec des tests de dissolution pour les génériques de l'amoxicilline. Il est donc essentiel que les fabricants surveillent attentivement le processus de fabrication et effectuent des tests de contrôle de qualité rigoureux afin de garantir une qualité de produit et un taux de dissolution constants.

**Chapitre IV :**  
**Etude comparative de la pharmacodynamie (activité antibactérienne) in vitro des génériques d'amoxicilline par rapport au princeps**

## **Chapitre IV: Etude comparative de la pharmacodynamie (activité antibactérienne) in vitro des génériques d'amoxicilline par rapport au princeps**

Il s'agit d'une étude microbiologique et pharmacodynamique visant à déterminer la qualité microbiologique et l'activité antimicrobienne in vitro des génériques de l'amoxicilline par rapport au princeps. Les objectifs de cette étude sont les suivants :

- Contrôler la qualité microbiologique des génériques de l'amoxicilline en dénombrant les germes aérobies viables totaux, y compris les bactéries, les moisissures et les levures.
- Étudier et comparer l'activité antibactérienne des génériques de l'amoxicilline par rapport au princeps, ainsi que du médicament princeps algérien par rapport au français in vitro.

La durée de l'étude est de 7 jours pour l'étude et la comparaison de l'activité antibactérienne des génériques par rapport au princeps, et de 10 jours pour le contrôle de la qualité microbiologique des génériques par rapport au princeps. L'étude a été menée dans un laboratoire de recherche, développement et contrôle qualité, validé par l'ANPP (Agence Nationale des Produits Pharmaceutiques).

### **IV.1. Matériel et Méthodes :**

#### **IV.1.1. Matériel :**

##### **IV.1.1.1. Appareillage :**

- Poste de sécurité microbiologique (PSM).
- Balance électronique de précision.
- Pipettes (1 ml, 5 ml, 10 ml...) avec poire.
- Agitateur magnétique.
- Boîtes de pétri.
- Micropipette.
- Etuve.
- Agitateur.

#### **IV.1.1.2. Réactifs :**

- Solution tampon pH=7.
- Milieu d'enrichissement.
- Pénicillinase.
- Gélose Sabouraud.
- Bouillon TSA (Trypticase soja agar).
- Bouillon Macconkey.
- Bouillon tryptone soja TSB.
- Bouillon thioglycolate BTH.
- Souches bactériennes de référence:
  - *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)
  - *Escherichia coli* (ATCC 8739)
  - *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)
  - *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028)
  - *Clostridium sporogenes* (ATCC 11437)

#### **IV.1.2. Méthodes :**

L'objectif de cette étude est de comparer in vitro l'activité antimicrobienne des génériques de l'amoxicilline par rapport au médicament princeps, ainsi que celle du princeps algérien par rapport au princeps français.

##### **IV.1.2.1. Protocole opératoire de l'étude comparative de l'activité antibactérienne in vitro des génériques d'amoxicilline par rapport au princeps :**

La CMI, qui correspond à la plus faible concentration de la substance pour laquelle il n'y a pas de croissance bactérienne visible à l'œil nu après un temps d'incubation de 18 à 24 heures, a été déterminée. Pour cela, les souches bactériennes de références ont été exposées à des concentrations décroissantes d'antibiotiques, et le trouble accompagnant la croissance bactérienne a été observé à l'œil nu. Cette méthode est applicable aux bactéries n'ayant pas d'exigences particulières, telles que les staphylocoques ou les pseudomonas. Dans le cadre de notre étude, la CMI a été définie comme la plus petite concentration pour laquelle aucun trouble n'a été observé à l'œil nu.

- **Préparation de l'inoculum :** L'inoculum bactérien a été fourni par un laboratoire de contrôle qualité d'une unité de production agréée, c'est un inoculum à  $10^6$  bactéries/ml.
- **Les solutions mères des différents produits à tester (les génériques et les princeps de l'amoxicilline) ont été préparées de la manière suivante :** Dans une série de tubes à culture, 9 ml d'une solution tampon ont été ajoutés, suivis de l'ajout de 1 g d'amoxicilline à tester dans chaque tube. Ensuite, le mélange a été homogénéisé de manière adéquate à l'aide d'un agitateur mécanique, permettant ainsi d'obtenir une solution homogène avec une concentration de 100 mg/ml.
- **Préparation des dilutions :** Une pipette graduée a été utilisée pour introduire 1 ml de la solution mère dans un tube contenant 9 ml d'eau peptonée. Ensuite, un agitateur mécanique a été utilisé pour homogénéiser le mélange et obtenir une dilution décimale S1. Par la suite, 1 ml de la solution S1 a été transféré dans le tube 3, et le volume a été complété jusqu'à 10 ml avec de l'eau peptonée. Ce processus a été répété pour obtenir les dilutions suivantes: 10 mg/ml, 1 mg/ml, 100 µg/ml, et 10 µg/ml.  
Ensuite, des dilutions volume/volume ont été réalisées pour réduire les concentrations de moitié. Pour cela, 5 ml de la solution de 10 µg/ml ont été prélevés et mélangés avec 5 ml d'eau peptonée. Ce processus a été répété pour obtenir les concentrations suivantes: 5 µg/ml, 2.5 µg/ml, 1.25 µg/ml, 0.62 µg/ml, 0.31 µg/ml.
- **Préparation du milieu nutritif et inoculation bactérienne :** Des séries de dix (10) tubes ont été numérotées et étiquetées pour chaque antibiotique. Dans chaque tube, 100 µl de la dilution correspondante de l'antibiotique ont été introduits, ainsi que 100 µl de la suspension bactérienne correspondante. Ensuite, 200 µl du milieu nutritif ont été ajoutés dans chaque tube. Pour le clostridium sporogenes, le milieu BTH a été utilisé, tandis que pour les quatre autres souches, le milieu TSB a été utilisé.
- **Incubation:** Les tubes ont été placés dans des étuves et incubés à une température de 37°C pendant 24 heures avant d'effectuer la première lecture. Des lectures ont été effectuées toutes les 24 heures pendant une période de 3 jours. À chaque lecture, l'aspect de la solution a été vérifié. Si la solution était trouble (indiquant une croissance bactérienne) ou claire et limpide (indiquant une absence de croissance bactérienne).

#### **IV.1.2.2. Protocole opératoire du contrôle de la qualité microbiologique des génériques et des princeps :**

Le contrôle de la qualité microbiologique des médicaments vise à détecter toute présence d'agents contaminants et à garantir l'innocuité, la sécurité et la conformité des médicaments aux exigences microbiologiques spécifiques de leurs monographies dans la pharmacopée.

Cette étude permet de contrôler la qualité microbiologique des génériques de l'amoxicilline ainsi que des princeps en veillant à ce que les limites de contamination microbienne par lot contrôlé ne soient pas dépassées.

Pour évaluer la qualité microbiologique d'un lot de comprimés enrobés (ne contenant pas de matières premières d'origine naturelle), les pharmacopées recommandent le dénombrement des germes aérobies viables totaux, comprenant les bactéries, les moisissures et les levures, par la méthode de filtration sur membrane ou par dénombrement sur plaque.

La recherche de ces germes est effectuée sur des échantillons prélevés à partir des lots. Les limites de contamination microbiennes à ne pas dépasser sont de  $10^3$  bactéries et  $10^2$  moisissures et levures par gramme de comprimés d'un lot.

De plus, la recherche d'*Escherichia coli* est réalisée par une méthode appropriée utilisant une série bien ordonnée de milieux de culture sélectifs.

Les pharmacopées stipulent que la recherche d'*Escherichia coli* doit être négative, c'est-à-dire qu'il ne doit y avoir aucune présence d'*Escherichia coli* dans 1 gramme de comprimés prélevés sur un lot.

##### **➤ Préparation des échantillons :**

Pour chaque médicament à tester, une quantité de 10 mg a été pesée et diluée dans des flacons contenant 90 ml de solution tampon. Le mélange a été agité rigoureusement à l'aide d'un agitateur magnétique pour assurer une homogénéisation complète.

Par la suite, un prélèvement de 10 ml a été effectué à partir de chaque solution obtenue pour chaque médicament. À ce prélèvement, 90 ml de milieu d'enrichissement ont été ajoutés, ainsi que 250  $\mu$ l de pénicillinase dans le but de neutraliser l'activité antimicrobienne de l'antibiotique.

➤ **Les tests réalisés :**

- **Dénombrement des germes aérobies viables totaux:** Dans une boîte de Pétri contenant du milieu TSA, 1 ml de la dernière solution préparée a étéensemencé. Après homogénéisation, la boîte de Pétri a été placée en incubation à une température de 20-25 °C pendant 3 jours, puis pendant 48 heures à une température de 30-35 °C.
- **Dénombrement des moisissures et levures :** Dans une boîte de Pétri contenant du milieu Sabouraud, 1 ml de notre solution préparée a étéensemencé. Après homogénéisation, la boîte de Pétri a été placée en incubation à une température de 20-25 °C pendant 5 jours.
- **Recherche des micro-organismes spécifiques (Escherichia coli):** À 1 ml de notre solution d'échantillon, 10 ml de bouillon de MacConkey ont été ajoutés. Par la suite, le mélange a été incubé à une température de 30-35°C pendant 24 heures. En cas de détection d'un trouble, le mélange estensemencé dans une gélose MacConkey et incubé à une température de 35-37 °C pendant 18 à 72 heures.

## IV.2. Résultats :

### IV.2.1. Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne in vitro des génériques d'amoxicilline par rapport au princeps :

Les résultats sont présentés dans les tableaux ci-dessous :

**Tableau 105:** Activité antibactérienne in vitro du Clamoxyl F

	100 mg	10 mg	1 mg	100 µg	10 µg	5 µg	2.5 µg	1.25 µg	0.62 µg	0.31 µg
<i>Staph. aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P.aérogina</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonelle</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C.sporoenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tableau 106:** Activité antibactérienne in vitro du Clamoxyl A

	100 mg	10 mg	1 mg	100 µg	10 µg	5 µg	2.5 µg	1.25 µg	0.62 µg	0.31 µg
<i>Staph. aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>P.aérogina</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonelle</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>C.sporoenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

**Tableau 107:** Activité antibactérienne in vitro du Générique GA1

	100 mg	10 mg	1 mg	100 µg	10 µg	5 µg	2.5 µg	1.25 µg	0.62 µg	0.31 µg
<i>Staph. aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>P.aérogina</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonelle</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>C.sporoenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

**Tableau 108:** Activité antibactérienne in vitro du Générique GA2

	100 mg	10 mg	1 mg	100 µg	10 µg	5 µg	2.5 µg	1.25 µg	0.62 µg	0.31 µg
<i>Staph. aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>P.aérogina</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonelle</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>C.sporoenes</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

**Tableau 109:** Activité antibactérienne in vitro du Générique GA3

	100 mg	10 mg	1 mg	100 µg	10 µg	5 µg	2.5 µg	1.25 µg	0.62 µg	0.31 µg
<i>Staph. aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>P.aérogina</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonelle</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>C.sporoenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

**Tableau 110:** Activité antibactérienne in vitro du Générique GA4

	100 mg	10 mg	1 mg	100 µg	10 µg	5 µg	2.5 µg	1.25 µg	0.62 µg	0.31 µg
<i>Staph. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>P.aérogina</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonelle</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>C.sporoenes</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

Tableau 111: Activité antibactérienne in vitro du Générique GA5

	100 mg	10 mg	1 mg	100 µg	10 µg	5 µg	2.5 µg	1.25 µg	0.62 µg	0.31 µg
<i>Staph. aureus</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>P.aérogina</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonelle</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>C.sporogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

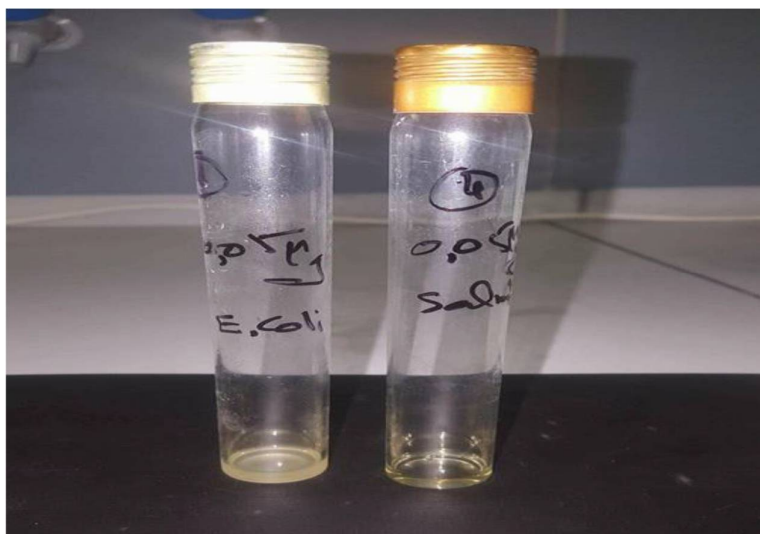


Figure 31: Image présentant la différence entre un tube trouble et un tube limpide

#### IV.2.1.1. Résultats des CMI :

Selon les tableaux ci-dessus, les valeurs des CMI sont comme suit :

##### Clamoxyl F :

- Pour *Staph aureus*, elle est de : 1mg/ml.
- Pour *E.coli*, elle est de : < 0.31µg/ml.
- Pour *P.aérogina*, elle est de : 10mg/ml.
- Pour *Salmonelle*, elle est de : < 0.31µg/ml.
- Pour *C.sporogenes*, elle est de : < 0.31µg/ml.

La CMI pour *E.coli*, *Salmonelle* et *Clostridium Sporogenes* était inférieure à 0.31µg/ml, donc on a effectué deux autres dilutions volume / volume pour obtenir les concentrations suivantes: 0.1µg/ml et 0.05µg/ml. Les résultats étaient comme suit :

- La CMI pour *E.coli* est 0.1µg/ml.
- La CMI pour *Salmonelle* est 0.1µg/ml.
- La CMI pour *Clostridium sporogenes* est 0.1µg/ml.

**Clamoxyl A :**

- Pour *Staph aureus*, elle est de : 1mg/ml.
- Pour *E.coli*, elle est de : 100µg/ml.
- Pour *P.aérogenosa*, elle est de : 1mg/ml.
- Pour *Salmonelle*, elle est de : 5µg/ml.
- Pour *C.sporogenes*, elle est de : 2.5µg/ml.

**Générique GA1 :**

- Pour *Staph aureus*, elle est de : 1mg/ml.
- Pour *E.coli*, elle est de : 100µg/ml.
- Pour *P.aérogenosa*, elle est de : 10mg/ml.
- Pour *Salmonelle*, elle est de : 100µg/ml.
- Pour *C.sporogenes*, elle est de : 1.25µg/ml.

**Générique GA2 :**

- Pour *Staph aureus*, elle est de : 100µg/ml.
- Pour *E.coli*, elle est de: 10µg/ml.
- Pour *P.aérogenosa*, elle est : 10mg/ml.
- Pour *Salmonelle*, elle est : 10µg/ml.
- Pour *C.sporogenes*, elle est : 5µg/ml.

**Générique GA3 :**

- Pour *Staph aureus*, elle est de : 1mg/ml.
- Pour *E.coli*, elle est de : 2.5µg/ml.
- Pour *P.aérogenosa*, elle est de : 1mg/ml.
- Pour *Salmonelle*, elle est de : 2.5µg/ml.
- Pour *C.sporogenes*, elle est de : 2.5µg/ml.

**Générique GA4 :**

- Pour *Staph aureus*, elle est de : 5µg/ml.
- Pour *E.coli*, elle est de : 5µg/ml.
- Pour *P.aérogenosa*, elle est de : 10mg/ml.
- Pour *Salmonelle*, elle est de : 5µg/ml.
- Pour *C.sporogenes*, elle est de : 5µg/ml.

**Générique GA5 :**

- Pour *Staph aureus*, elle est de : 10mg/ml.
- Pour *E.coli*, elle est de : 2.5µg/ml.
- Pour *P.aérogenosa*, elle est de : 1mg/ml.
- Pour *Salmonelle*, elle est de : 2.5µg/ml.
- Pour *C.sporogenes*, elle est de : 2.5µg/ml.

**Tableau 112:** Un tableau récapitulatif des CMI.

	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aerogenoosa</i>	<i>Salmonelle</i>	<i>C.sporogenes</i>
<b>Clamoxyl F</b>	1mg/ml	0.1µg/ml	10mg/ml	0.1µg/ml	0.1µg/ml
<b>Clamoxyl A</b>	1mg/ml	100µg/ml	1mg/ml	5µg/ml	2.5µg/ml
<b>GA1</b>	1mg/ml	100µg/ml	10mg/ml	100µg/ml	1.25µg/ml
<b>GA2</b>	100µg/ml	10µg/ml	10mg/ml	10µg/ml	5µg/ml
<b>GA3</b>	1mg/ml	2.5µg/ml	1mg/ml	2.5µg/ml	2.5µg/ml
<b>GA4</b>	5µg/ml	5µg/ml	10mg/ml	5µg/ml	5µg/ml
<b>GA5</b>	10mg/ml	2.5µg/ml	1mg/ml	2.5µg/ml	2.5µg/ml

**IV.2.2. Résultats du contrôle de la qualité microbiologique des échantillons :**

Le tableau suivant présente les résultats selon la présence ou l'absence de contamination dans les milieux de culture utilisés :

**Tableau 113:** Les résultats de l'incubation des milieux de culture

Echantillons	SAB	TSA	Mackonkey
<b>Clamoxyl A</b>	-	-	-
<b>Clamoxyl F</b>	-	-	-
<b>Générique GA1</b>	+	-	-
<b>Générique GA2</b>	-	-	-
<b>Générique GA3</b>	+	+	-
<b>Générique GA4</b>	-	-	-
<b>Générique GA5</b>	-	-	-

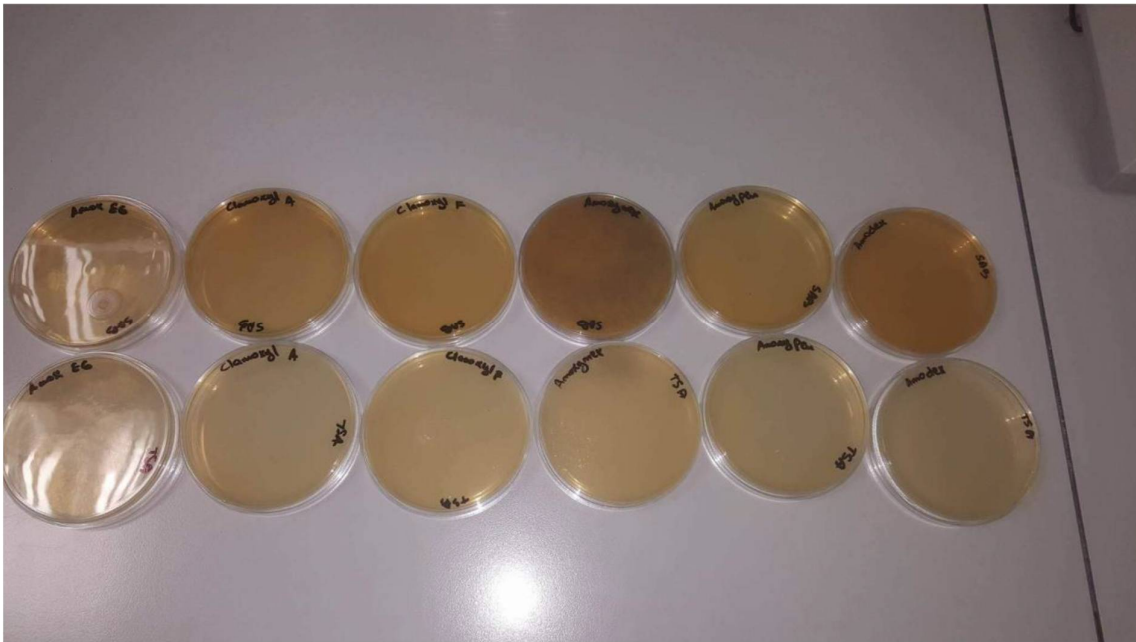


Figure 32: Résultat de la culture des différents échantillons

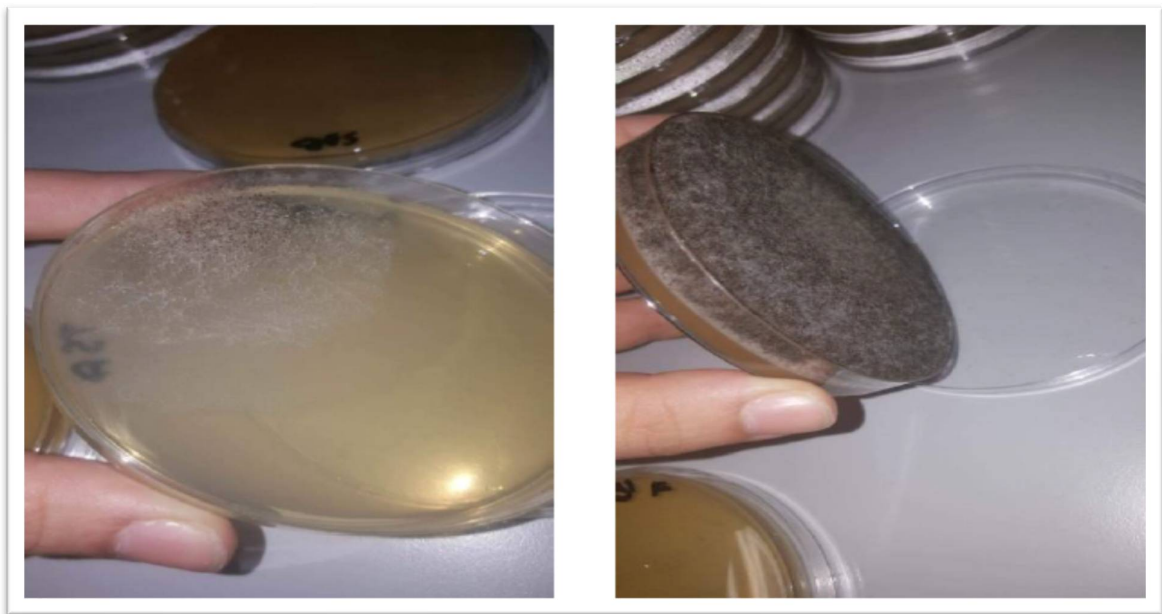


Figure 33: Milieux TSA et SAB contaminés (générique GA3)



Figure 34: Milieu SAB contaminé (générique GA1)



Figure 35: Repiquage sur bouillon mackonkey (aucun trouble)

### IV.3. Discussion :

#### IV.3.1. Interprétation des résultats de l'étude d'activité antibactérienne in vitro des génériques d'amoxicilline par rapport au princeps :

- Pour staphylococcus aureus, l'antibiotique le plus actif sur le plan microbiologique (dont la CMI est la plus faible) est le générique G4, puis viennent par ordre décroissant en matière d'activité antibactérienne :  $GA2 > (\text{Clamoxyl F} = \text{Clamoxyl A} = GA1 = GA3) > GA5$
- En ce qui concerne Escherichia coli, à la lumière de la lecture des CMI, on a conclu que le Clamoxyl F était le plus efficace, puis vient successivement :  $(GA3=GA5) > GA4 > GA2 > \text{Clamoxyl A} = GA1$ .
- Pour Pseudomonas aeruginosa, le Clamoxyl A, GA3, et GA5 étaient les plus efficaces. L'ordre décroissant de l'efficacité in vitro est comme suit :  $\text{Clamoxyl A} = GA3 = GA5 > \text{Clamoxyl F} = GA1 = GA2 = GA4$
- Pour Salmonelle, le Clamoxyl F était le plus efficace, puis viennent successivement :  $GA3 = GA5 > \text{Clamoxyl A} = GA4 > GA2 > GA1$ .
- Pour Clostridium sporogenes, le Clamoxyl français était le plus efficace, puis viennent successivement :  $GA1 > \text{Clamoxyl A} = GA3 = GA5 > GA2 = GA4$ .

On conclue alors que le Clamoxyl F est le plus actif, suivi par le Clamoxyl A, et ce dernier est plus actif par rapport aux cinq génériques étudiés.

En revanche L'efficacité diffère d'une souche bactérienne à l'autre, mais on peut conclure que le GA1 est doté de l'activité antibactérienne la plus faible.

#### **La comparaison de nos résultats avec d'autres études similaires nous a permis de tirer les conclusions suivantes :**

- L'étude de Primadi Avianto et ses Collaborateurs, portée sur des analyses microbiologiques de cinq échantillons de comprimés d'amoxicilline contenant 500 mg d'amoxicilline disponibles en Indonésie selon une méthode de la Pharmacopée Indonésienne. [181]
- L'étude a abouti à des différences mineures et non significatives ( $p > 0,05$ ) dans les diamètres des zones d'inhibition. Le pourcentage d'activité mesuré à la fois chez E. coli et S.aureus était compris entre 95% et 105%. Les plus faibles des échantillons testés provenaient du produit C, ce qui a entraîné des pourcentages de puissance de 96,3% et 95,5% respectivement chez E. coli et S. aureus, donc Les cinq échantillons se trouvaient dans la plage des critères

d'acceptation. Par conséquent, du point de vue de l'analyse microbiologique, ces produits ont une qualité équivalente et sont interchangeables. [181]

– L'étude de Priyanka Pathak et ses collaborateurs qui a comme objectif d'évaluer et comparer l'efficacité in vitro d'un générique par rapport à cinq princeps d'amoxicilline en association avec clavulanate de potassium. [182]

Durant cette étude comparative, le test de diffusion des disques a montré que le médicament princeps F a une zone d'inhibition inférieure et statistiquement significative ( $p < 0,001$ ) pour *S. Aureus* et ( $p < 0,05$ ) pour *E. coli* par rapport au médicament générique C.

La zone d'inhibition des médicaments princeps A, B & E était comparable au médicament générique C. Par conséquent, les résultats de cette étude soulignent que le médicament générique testé était aussi efficace que les médicaments princeps testés, à l'exception des médicaments princeps D et F.

Cela suggère que l'efficacité du médicament générique est équivalente aux médicaments princeps et peut être utilisée de manière interchangeable avec les médicaments princeps.[182]

– L'étude de Carlos A Rodriguez et ses collaborateurs basée sur la comparaison in vitro et in vivo de l'efficacité anti-staphylococcique des produits génériques et du princeps de l'oxacilline.[10]

L'étude a montré que 11 génériques d'oxacilline, tous commercialisés en Colombie, ne semblaient pas présenter la même efficacité anti-staphylococcique in vivo sur modèle animal que le princeps. Cependant et de façon singulière, les auteurs démontrent que les génériques testés ne présentent aucune différence par rapport aux princeps en termes de teneur en principe actif, ceci par la méthode microbiologique qu'ils avaient publiée précédemment [183].

Pour mesurer l'activité in vivo, des souris ICR neutropéniques ont été inoculées avec une souche clinique de *S. aureus*. Les animaux ont reçu  $4,14 \pm 0,18 \text{ lg}10 \text{ UFC/cuisse}$  lorsque le traitement a débuté. Des groupes de 10 souris par produit ont reçu une dose totale allant de 2,93 à 750 mg / kg par jour et une estimation de l'effet maximal ( $E_{\text{max}}$ ) et de la pente a été réalisée pour déterminer la dose bactériostatique (BD) et la dose requise pour diminuer d'un log le compte bactérien (1LKD). Les résultats semblent montrer que l'ensemble des génériques testés était indiscernable du princeps en termes de CMI et CMB déterminé in vitro. Cependant, sur la base d'un  $E_{\text{max}}$  significativement plus faible et nécessitant une plus grande

DB et ILKD les auteurs considèrent que les génériques ne présentent pas d'équivalence d'efficacité antimicrobienne sur ce modèle expérimentale in vivo.

Donc L'équivalence pharmaceutique ou in vitro n'entraînait pas d'équivalence thérapeutique pour les produits génériques d'oxacilline, ce qui indique que les critères d'approbation nécessitent un examen pour inclure une évaluation de l'efficacité in vivo. [183]

– L'étude de Pierre Tattevin et ses collaborateurs est une revue systématique portée sur L'efficacité et la qualité des produits génériques antibactériens dont l'utilisation est approuvée chez l'homme.[1]

Dans cette revue systématique, les auteurs ont recherché dans Medline et Embase les articles de recherche originaux sur les produits génériques antibactériens publiés en anglais ou en français avant juillet 2013.

Ils ont sélectionné 37 articles de recherche originaux : 15 sur les  $\beta$ -lactames, 10 sur les glycopeptides et 12 sur d'autres agents antibactériens. La majorité des articles (73,0 %) ont été publiés entre 2008 et 2012. Les études portaient sur la chimie analytique (n = 9), les études de l'activité antibactérienne in vitro (n = 14), les expérimentations animales (n = 6, dont 5 utilisant le modèle d'infection de la cuisse de la souris neutropénique) et les études cliniques chez l'homme (n = 15). Sur les 37 études, 14 (37,8 %) soulignent que certains produits génériques peuvent être inférieurs au princeps en termes de pureté (n = 2), d'activité in vitro (n = 3), d'efficacité in vivo dans des modèles expérimentaux (n = 4), d'efficacité clinique (n = 2), de goût (n = 2), ou d'observance et d'acceptabilité chez les enfants (n = 1). La majorité des études in vitro (78,6 %) n'ont révélé aucune différence significative entre les produits génériques et l'innovateur. La plupart (5/6) des études in vivo suggérant une différence entre les produits génériques et le princeps ont été réalisées dans un modèle animal qui n'est pas validé pour l'évaluation de l'efficacité des agents antibactériens. Le niveau de preuve était toujours faible dans les études cliniques. Cette revue a conclu que les données publiées sur les produits génériques antibactériens sont limitées et hétérogènes, ce qui empêche toute tentative de généralisation des résultats des études. Cette revue systématique suggère que des preuves supplémentaires seraient nécessaires avant d'envisager une révision du processus d'autorisation de mise sur le marché des produits génériques antibactériens.[1]

– Une étude publiée en 2016 menée par Mattos et al au Brésil a comparé les résultats de bioéquivalence in vivo de trois génériques d'amoxicilline (A, B et C) avec ceux du titre microbiologique.

L'étude a révélé que deux des génériques avaient des résultats indiscernables par rapport à l'innovateur en termes de puissance microbiologique. Cependant, le Générique B n'a pas satisfait aux spécifications de la pharmacopée brésilienne en matière de limites de puissance. Alors que ce dernier s'est avéré être bioéquivalent à son princeps dans l'évaluation pharmacocinétique. Quant au générique A, il manquait étonnamment d'équivalence pharmacocinétique bien qu'il ait réussi l'essai de puissance microbiologique. Ces résultats impliquent que se fier uniquement à un type de test peut ne pas être suffisant pour détecter les écarts de qualité des médicaments antimicrobiens. L'étude a conclu que pour assurer la surveillance post-commercialisation des antibiotiques génériques, il est recommandé d'utiliser une combinaison de tests pharmacocinétiques in vivo et des tests d'activité microbiologique comme outil efficace. [184]

– L'étude de Shenoy Panchmal et al, publiée en 2013 a voulu trouver la différence dans l'analyse chimique et microbienne entre le médicament générique et d'autres marques commercialisées en Karnataka (en Inde). Un médicament générique et 11 marques commercialisées ont été sélectionnés pour l'étude. La stabilité chimique, les méthodes analytiques de détermination de l'activité, la détermination de la teneur en humidité, la détermination du pH, la détermination du volume de sédimentation et les tests de stabilité ont été effectués. Des tests microbiens ont été effectués pour vérifier la sensibilité antimicrobienne et la zone d'inhibition. Le test "t" à un échantillon a été utilisé pour mesurer la signification statistique. Les échantillons testés ont été divisés en 4 catégories à des fins statistiques, à savoir l'amoxicilline générique, prescrit par des spécialistes, prescrit par des dentistes et prescrit par des médecins généralistes. Les résultats de l'activité ont révélé que tous les échantillons testés répondaient aux normes de la pharmacopée des États-Unis et de la pharmacopée indienne concernant les tests d'activité initiale, à l'exception des échantillons A10, A11 et A12. De nombreux échantillons n'ont pas atteint le dosage requis aux trois températures différentes. Les résultats de l'analyse microbiologique confirment également les résultats de l'analyse chimique.[185] Diverses autres études ont observé une diminution de la puissance in vitro d'autres médicaments génériques à base de bêta-lactame par rapport au princeps

### **IV.3.2. Interprétation des résultats du contrôle microbiologique des échantillons :**

- Présence de contamination au niveau du milieu Sabouraud contenant le générique GA1, ce qui confirme la présence de levures et moisissures dans notre échantillon et donc la non propreté du produit.
- Présence de contamination au niveau des milieux Sabouraud et TSA contenant le générique 3, ce qui confirme la présence de levures, moisissures et des germes aérobies et donc la non propreté du produit.
- Le bouillon de mackonckey n'a présenté aucun trouble, donc absence d'entérobactéries (E.coli) dans nos échantillons. En se référant aux normes de la pharmacopée européenne les résultats de contrôle microbiologique ont montré :
  - Les deux princeps Algérien et Français ainsi que les génériques testés GA2, GA4 et GA5 sont conformes aux normes indiquées plus haut, donc présentent une bonne qualité microbiologique.
  - En ce qui concerne les génériques GA1 et GA3, Les résultats obtenus du dénombrement et de la recherche de levures et moisissures montrent la présence des contaminations, ce qui permet de classer ces derniers comme étant non conformes aux exigences de propreté microbiologiques figurant dans la pharmacopée européenne.

**Chapitre V :**  
**Mise au point d'une méthode d'évaluation in vivo de l'efficacité thérapeutique des génériques d'amoxicilline par rapport aux princeps dans le modèle de l'ulcère liée à l'infection par Helicobacter Pylori chez des souris neutropéniques**

## **Chapitre V : Mise au point d'une méthode d'évaluation in vivo de l'efficacité thérapeutique des génériques d'amoxicilline par rapport aux princeps dans le modèle de l'ulcère liée à l'infection par Helicobacter Pylori chez des souris neutropéniques**

Cette mise au point vise à proposer une méthode d'évaluation in vivo de l'activité antimicrobienne des génériques d'amoxicilline par rapport au médicament princeps. Pour ce faire, une méthode d'évaluation in vivo de l'efficacité thérapeutique des génériques d'amoxicilline a été développée dans un modèle d'ulcère associé à l'infection par Helicobacter pylori chez des souris neutropéniques. L'équivalence thérapeutique des génériques d'amoxicilline par rapport aux princeps a ainsi été évaluée in vivo dans ce modèle.

### **V.1. Matériel et méthodes :**

#### **V.1.1. Matériel :**

##### **V.1.1.1. Appareils et verreries :**

- Sondes de gavage.
- Seringues de 5 ml.
- Seringues de 1 ml.
- Béchers.
- Fioles jaugées.
- Balance électronique de précision.
- Agitateur magnétique.
- PSM.

##### **V.1.1.2. Réactif et produits pharmaceutiques utilisés :**

- Cyclophosphamide.
- Omeprazole.
- clarithromycine
- Streptomycine.
- L'eau physiologique.
- L'eau distillée.
- La souche bactérienne « Helicobacter pylori ».
- Carboxyméthylcellulose CMC

### V.1.1.3. Matériel animal :

Les souris albinos de la race SWISS utilisées dans cette étude étaient des mâles et des femelles, ayant un poids moyen homogène compris entre 24 et 27 g. Ces souris ont été obtenues à partir de l'élevage de l'animalerie du département de pharmacie de la Faculté de médecine de Constantine. Elles étaient âgées de 12 semaines.

### V.1.2. Méthodes

#### ➤ Protocole opératoire :

Neuf lots homogènes de dix souris chacun ont été formés.

**Tableau 114:** le nombre et le poids moyen de chaque lot de souris

Lot	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5	Lot 6	Lot 7	Lot 8	Lot 9
PM (g)	26.6	28.2	26.8	25.5	25.8	26.1	26.2	24.7	25.6
Nbr	10	10	10	10	10	10	10	10	10

**PM(g)** : Poids moyen en gramme

**Nbr** : Nombre de souris par lot

- Les animaux étaient placés dans des cages en polypropylène de 90cm x 35cm équipées de mangeoires et d'abreuvoirs, exposés à la lumière 12h/24h à une température de 20 - 25°C et une humidité de 70% à 80%.
- les cages ont été nettoyées régulièrement.
- L'alimentation standard était fournie à volonté. Toutes les souris ont été nourries avec une alimentation commerciale standard pour rongeurs et ont eu un accès direct à l'eau.
- Tous les animaux ont subi une période de stabulation de deux semaines avant toute expérience.
- La neutropénie ( $\leq 10$  neutrophiles/ $\mu\text{L}$ ) a été induite en administrant des injections intrapéritonéales de cyclophosphamide (Famisas®) pendant quatre jours (150 mg/kg), avec une dose de 100 mg/kg administrée un jour avant l'infection.
- 16 heures après la deuxième dose de cyclophosphamide, les animaux ont reçu par gavage 1ml d'une suspension de streptomycine dans l'eau (5 mg/mL) pendant 3jours.

- Ensuite, les souris ont été exposées à des administrations de suspension de *H. pylori* contenant une concentration allant de  $5 \times 10^8$  à  $5 \times 10^{10}$  UFC (unités formant des colonies)/ml par gavage de 1 ml, administrées deux fois par jour avec un intervalle de 4 heures, pendant une durée de trois jours consécutifs.



**Figure 36:** Administration des produits par gavage.

- Deux semaines après inoculation, quelques souris témoins sont sacrifiées pour réaliser des biopsies stomacales pour les tests d'identification de l'*Helicobacter pylori* (test uréase et histopathologie).
- Après avoir mis au point le modèle animal de l'infection par *H. pylori*, nous avons procédé à une thérapie à base d'une solution aqueuse d'un schéma thérapeutique standard d'éradication de première ligne (amoxicilline 50 mg/kg PC + clarithromycine (princeps) 25 mg/kg PC + oméprazole 20 mg/kg PC), en testant tous les génériques de l'amoxicilline étudiés précédemment en comparaison avec l'utilisation des princeps (Algérien et français).
- La répartition des souris sera comme suit:

**Tableau 115:** Répartition des souris sur les différents lots de l'étude d'efficacité in vivo

N° de Lot des souris	Désignation	Nombre de souris par lot	Produits administrés
Lot 01	Témoin négatif	10	Sans Inoculation de H. pylori
Lot 02	Témoin positif	10	inoculation de H. pylori
Lot 03	GA1 test	10	inoculation de H. pylori Amoxicilline (GA1) 50 mg/kg PC + clarithromycine (princeps) 25 mg/kg PC + oméprazole 20 mg/kg PC)
Lot 04	GA2 test	10	inoculation de H. pylori Amoxicilline (GA2) 50 mg/kg PC + clarithromycine (princeps) 25 mg/kg PC + oméprazole 20 mg/kg PC)
Lot 05	GA3 test	10	inoculation de H. pylori Amoxicilline (GA3) 50 mg/kg PC + clarithromycine (princeps) 25 mg/kg PC + oméprazole 20 mg/kg PC)
Lot 06	GA4 test	10	inoculation de H. pylori Amoxicilline (GA4) 50 mg/kg PC + clarithromycine (princeps) 25 mg/kg PC + oméprazole 20 mg/kg PC)
Lot 07	GA5 test	10	inoculation de H. pylori Amoxicilline (GA5) 50 mg/kg PC + clarithromycine (princeps) 25 mg/kg PC + oméprazole 20 mg/kg PC)
Lot 08	Clamoxyl A	10	inoculation de H. pylori Amoxicilline (A) 50 mg/kg PC + clarithromycine (princeps) 25 mg/kg PC + oméprazole 20 mg/kg PC)
Lot 09	Clamoxyl F	10	inoculation de H. pylori Amoxicilline (F) 50 mg/kg PC + clarithromycine (princeps) 25 mg/kg PC + oméprazole 20 mg/kg PC)

- PC: Poids corporel
- Les souris des lots (de 02 à 09) ont été inoculées avec une suspension comprenant H. pylori de  $5 \times 10^8$  à  $5 \times 10^{10}$  UFC (unités formant des colonies)/ml équivalentes à 2,0 sur l'échelle de McFarland dans du chlorure de sodium à 0,9% (p/v) (0,9% NaCl) à raison de 1ml/souris. par gavage, en 2 fois par jour à intervalle de 4heures, et ceci pendant 3 jours successifs.

- Les lots (de 02 à 09) ont été inoculés avec la suspension d'*H. pylori* à raison de 1 ml/souris par voie orale par une sonde de gavage en deux fois par jour à un intervalle de 4h pendant trois jours consécutifs.
- Les animaux des lots (02 à 09) ont reçu de l'oméprazole oral à 400 µmol/kg de poids corporel dilué dans 0,5% de CMC, à raison de 1 ml/souris peros une fois par jour par une sonde de gavage 3h avant la première inoculation d'*H. pylori* et pendant les 6 jours suivants. En même temps, les souris du lot 1 ont reçu une suspension de CMC à 0,5% selon le même protocole.
- Pour évaluer l'infection à *H. pylori*, des souris de chaque lot ont été choisies au hasard et euthanasiées sous sédation à l'éther diéthylique dans une boîte. Une procédure de laparotomie a été effectuée sur une souris choisie à partir de tous les lots.
- Pour identifier *H. pylori* dans le tissu gastrique, l'estomac a été isolé et la zone antrale gastrique (4 mm<sup>2</sup>) a été sélectionnée et a subi un test d'uréase.
- Un test d'uréase positif dans tous les lots (du 02 jusqu'au 09) a été trouvé lors de ce test.
- Le lendemain, les animaux restants des groupes ont été traités selon le protocole. Tous les animaux des lots (02 à 09) ont été traités avec une suspension de CMC à 0,5% une fois par jour en peros par une sonde de gavage pendant 7 jours.
- En revanche, les souris des lots (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, et 10) ont été traitées avec un traitement d'éradication standard à un intervalle de 6 h par voie orale à raison de 1 ml/souris une fois par jour par une sonde de gavage pendant 7 jours. Le jour 28 après le traitement complet, tous les animaux ont été euthanasiés sous sédation à l'éther. [186]

➤ **L'examen histopathologique :**

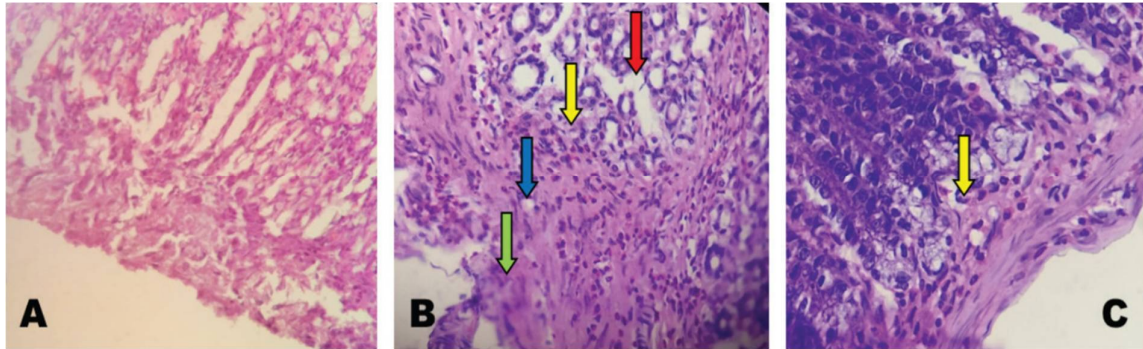
- A la fin de la période de traitement, nous avons procédé à des prélèvements gastriques (biopsies antrales) et afin de réaliser des examens histopathologiques ainsi que des tests d'identification du germe, et ceci pour chacun des génériques et des princeps utilisés dans le traitement des animaux.
- Une petite partie de la section antrale gastrique a été sélectionnée et fixée avec une solution tamponnée de formol neutre à 10% (pH 7,4, 24 h).
- Ensuite, la préparation et l'instillation du tissu antral gastrique ont été effectuées sur le bloc de paraffine.

- Une épaisseur de 5  $\mu\text{m}$  du bloc de paraffine a été réalisée et présentée sur les lames avant le mode de coloration.
- Le processus de coloration sera réalisé en utilisant le mode de coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E).
- La sévérité de la gastrite et la densité de *H. pylori* seront examinées microscopiquement, évaluées et classées comme normales, légères, modérées, ou une gastrite sévère en utilisant l'USS pour évaluer l'activité des neutrophiles, l'infiltration des lymphocytes, l'atrophie des glandes, la métaplasie intestinale et la présence de *H. pylori*. [187]
- Les résultats de l'examen vont être rapportés et analysés en aveugle par un pathologiste à l'aide du microscope binoculaire à LED Olympus® CX22 et de la caméra Vivo® 9 (ou système équivalent)
- **Analyse statistique :**
  - Pour évaluer la normalité de la variable quantitative, nous allons effectuer un test de Shapiro-Wilk.
  - Pour les données à distribution normale et à distribution non normale, les résultats doivent être présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type (SD) et de médiane (minimum-maximum), respectivement.
  - Pour comparer et analyser la moyenne des variables quantitatives avec une distribution normale et non normale, une analyse de variance à un facteur (ANOVA) avec un test de Tamhane et Kruskal-Wallis post hoc doivent être effectués séparément.
  - La signification sera considérée à  $p <$

## V.2. Résultats :

### V.2.1. Résultats prévus pour l'examen histopathologique des prélèvements:

Ces résultats sont tirés à partir d'une étude récente publiée en 2021 [186]



**Figure 37:** Photomicrographie des caractéristiques histopathologiques, représentation du tissu gastrique des souris (coloration à l'hématoxyline et à l'éosine): Microscope Olympus CX22 LED avec un G 400x et une caméra Vivo 9.) [186]

- (A) Témoins Négatif ;
- (B) Témoins positif ;
- (C) Amoxicilline (Princeps).
- Les flèches rouges: les bactéries *H. pylori*,
- Les flèches Jaunes: les cellules PMN (Polymorphonucléaires)
- Les flèches bleues: l'œdème
- Les flèches vertes: vasodilatation

### V.2.2. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du Princeps (F)

**Tableau 116:** Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour Princeps F)

Variable							
Groupes	Lymphocytes	Neutrophiles	Atrophie des glandes	Métaplasie intestinale	Densité H. pylori	USS Score Total	p-Value
Lot 01 (Témoin -)	L1	N1	A1	M1	D1	L1+N1+A1+M1+D1	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)
Lot 02 (Témoin +)	L2	N2	A2	M2	D2	L2+N2+A2+M2+D2	
Lot 09 (Princeps F)	L9	N9	A9	M9	D9	L9+N9+A9+M9+D9	

Données exprimées en moyenne ± écart-type.

Test statistique utilisé : l'ANOVA à un facteur.

USS = Système de Sydney mis à jour.

(S) = Significatif(NS)= Non Significatif

Le nombre de souris dans chaque groupe était de 9.

**Tableau 117:** Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du Princeps F.

Intervalle de confiance à 95%				
comparaison des groupes	Différence Moyenne	Minimum	Maximum	p-Value
(Témoins -) & (Témoin +)	DM1	Min1	Max1	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)
(Témoin -) & (Princeps F)	DM2	Min2	Max2	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)
(Princeps F) & (Témoin +)	DM3	Min3	Max3	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)

Test statistique : Post-hoc Tamhane.

p < 0,05 (Significatif)

p > 0,05 (Non significatif)

### V.2.3. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du Princeps (A) :

**Tableau 118:** Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour Princeps A)

Variable							
Groupes	Lymphocytes	Neutrophiles	Atrophie des glandes	Métaplasie intestinale	Densité H. pylori	USS Score Total	p-Value
Lot 01 (Témoin -)	L1	N1	A1	M1	D1	L1+N1+A1+M1+D1	Soit p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)
Lot 02 (Témoin +)	L2	N2	A2	M2	D2	L2+N2+A2+M2+D2	
Lot 08 (Princeps A)	L8	N8	A8	M8	D8	L8+N8+A8+M8+D8	

Données exprimées en moyenne ± écart-type.

Test statistique utilisant l'ANOVA à un facteur.

USS = Système de Sydney mis à jour.

Le nombre de souris dans chaque groupe était de 9

**Tableau 119:** Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du Princeps A.

Intervalle de confiance à 95%				
comparaison des groupes	Différence Moyenne	Minimum	Maximum	p-Value
(Témoins -) & (Témoin +)	DM1	Min1	Max1	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)
(Témoin -) & (Princeps A)	DM2	Min2	Max2	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)
(Princeps A) & (Témoin +)	DM3	Min3	Max3	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)

Test statistique : Post-hoc Tamhane.

p < 0,05 (Significatif)

p > 0,05 (Non significatif)

### V.2.4. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du générique (GA01) :

**Tableau 120:** Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour GA01)

Groupes	Variable						p-Value
	Lymphocytes	Neutrophiles	Atrophie des glandes	Métaplasie intestinale	Densité H. pylori	USS Score Total	
<b>Lot 01 (Témoin -)</b>	L1	N1	A1	M1	D1	L1+N1+A1+M1+D1	<b>Soit</b> p < 0,05 (S) <b>Ou</b> p > 0,05 (NS)
<b>Lot 02 (Témoin +)</b>	L2	N2	A2	M2	D2	L2+N2+A2+M2+D2	
<b>Lot 03 (GA01)</b>	L3	N3	A3	M3	D3	L3+N3+A3+M3+D3	

Données exprimées en moyenne ± écart-type.

Test statistique utilisant l'ANOVA à un facteur.

USS = Système de Sydney mis à jour.

Le nombre de souris dans chaque groupe était de 9

**Tableau 121:** Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du générique (GA01).

Intervalle de confiance à 95%				
comparaison des groupes	Différence Moyenne	Minimum	Maximum	p-Value
<b>(Témoins -) &amp; (Témoin +)</b>	DM1	Min1	Max1	p < 0,05 (S) <b>Ou</b> p > 0,05 (NS)
<b>(Témoin -) &amp; (GA01)</b>	DM2	Min2	Max2	p < 0,05 (S) <b>Ou</b> p > 0,05 (NS)
<b>(GA01) &amp; (Témoin +)</b>	DM3	Min3	Max3	p < 0,05 (S) <b>Ou</b> p > 0,05 (NS)

Test statistique : Post-hoc Tamhane.

p < 0,05 (Significatif)

p > 0,05 (Non significatif)

**V.2.5. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du générique (GA02) :**

**Tableau 122:** Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour GA02)

Variable							
Groupes	Lymphocytes	Neutrophiles	Atrophie des glandes	Métaglasie intestinale	Densité H. pylori	USS Score Total	p-Value
Lot 01 (Témoin -)	L1	N1	A1	M1	D1	L1+N1+A1+M1+D1	Soit p < 0,05 (S)
Lot 02 (Témoin +)	L2	N2	A2	M2	D2	L2+N2+A2+M2+D2	
Lot 04 (GA02)	L4	N4	A4	M4	D4	L4+N4+A4+M4+D4	Ou p > 0,05 (NS)

Données exprimées en moyenne ± écart-type.  
 Test statistique utilisant l'ANOVA à un facteur.  
 USS = Système de Sydney mis à jour.  
 Le nombre de souris dans chaque groupe était de 9

**Tableau 123:** Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du générique (GA02).

Intervalle de confiance à 95%				
comparaison des groupes	Différence Moyenne	Minimum	Maximum	p-Value
(Témoins -) & (Témoin +)	DM1	Min1	Max1	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)
(Témoin -) & (GA02)	DM2	Min2	Max2	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)
(GA02) & (Témoin +)	DM3	Min3	Max3	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)

Test statistique : Post-hoc Tamhane.  
 p < 0,05 (Significatif)  
 p > 0,05 (Non significatif)

**V.2.6. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du générique (GA03) :**

**Tableau 124:** Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour GA03)

Variable							
Groupes	Lymphocytes	Neutrophiles	Atrophie des glandes	Métablasie intestinale	Densité H. pylori	USS Score Total	p-Value
Lot 01 (Témoïn -)	L1	N1	A1	M1	D1	L1+N1+A1+M1+D1	Soit p < 0,05 (S)
Lot 02 (Témoïn +)	L2	N2	A2	M2	D2	L2+N2+A2+M2+D2	
Lot 05 (GA03)	L5	N5	A5	M5	D5	L5+N5+A5+M5+D5	Ou p > 0,05 (NS)

Données exprimées en moyenne ± écart-type.  
 Test statistique utilisant l'ANOVA à un facteur.  
 USS = Système de Sydney mis à jour.  
 Le nombre de souris dans chaque groupe était de 9

**Tableau 125:** Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du générique (GA03).

Intervalle de confiance à 95%				
comparaison des groupes	Différence Moyenne	Minimum	Maximum	p-Value
(Témoins -) & (Témoïn +)	DM1	Min1	Max1	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)
(Témoïn -) & (GA03)	DM2	Min2	Max2	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)
(GA03) & (Témoïn +)	DM3	Min3	Max3	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)

Test statistique : Post-hoc Tamhane.  
 p < 0,05 (Significatif)  
 p > 0,05 (Non significatif)

**V.2.7. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du générique (GA04) :**

**Tableau 126:** Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour GA04)

Variable							
Groupes	Lymphocytes	Neutrophiles	Atrophie des glandes	Métaplasie intestinale	Densité H. pylori	USS Score Total	p-Value
<b>Lot 01 (Témoïn -)</b>	L1	N1	A1	M1	D1	L1+N1+A1+M1+D1	<b>Soit</b> p < 0,05 (S) <b>Ou</b> p > 0,05 (NS)
<b>Lot 02 (Témoïn +)</b>	L2	N2	A2	M2	D2	L2+N2+A2+M2+D2	
<b>Lot 06 (GA04)</b>	L6	N6	A6	M6	D6	L6+N6+A6+M6+D6	

Données exprimées en moyenne ± écart-type.  
 Test statistique utilisant l'ANOVA à un facteur.  
 USS = Système de Sydney mis à jour.  
 Le nombre de souris dans chaque groupe était de 9

**Tableau 127:** Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du générique (GA04).

Intervalle de confiance à 95%				
comparaison des groupes	Différence Moyenne	Minimum	Maximum	p-Value
<b>(Témoins -) &amp; (Témoïn +)</b>	DM1	Min1	Max1	p < 0,05 (S) <b>Ou</b> p > 0,05 (NS)
<b>(Témoïn -) &amp; (GA04)</b>	DM2	Min2	Max2	p < 0,05 (S) <b>Ou</b> p > 0,05 (NS)
<b>(GA04) &amp; (Témoïn +)</b>	DM3	Min3	Max3	p < 0,05 (S) <b>Ou</b> p > 0,05 (NS)

Test statistique : Post-hoc Tamhane.  
 p < 0,05 (Significatif)  
 p > 0,05 (Non significatif)

### V.2.8. Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur le système d'évaluation de l'USS après administration du générique (GA05) :

**Tableau 128:** Expression des Résultats de l'examen histopathologique gastrique basé sur l'USS (pour GA05)

Groupes	Variable						p-Value
	Lymphocytes	Neutrophiles	Atrophie des glandes	Métaplasie intestinale	Densité H. pylori	USS Score Total	
Lot 01 (Témoin -)	L1	N1	A1	M1	D1	L1+N1+A1+M1+D1	Soit p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)
Lot 02 (Témoin +)	L2	N2	A2	M2	D2	L2+N2+A2+M2+D2	
Lot 07 (GA05)	L7	N7	A7	M7	D7	L7+N7+A7+M7+D7	

Données exprimées en moyenne ± écart-type.

Test statistique utilisant l'ANOVA à un facteur.

USS = Système de Sydney mis à jour.

Le nombre de souris dans chaque groupe était de 9

**Tableau 129:** Expression des résultats de comparaison selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité du générique (GA05).

Intervalle de confiance à 95%				
comparaison des groupes	Différence Moyenne	Minimum	Maximum	p-Value
(Témoins -) & (Témoin +)	DM1	Min1	Max1	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)
(Témoin -) & (GA05)	DM2	Min2	Max2	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)
(GA05) & (Témoin +)	DM3	Min3	Max3	p < 0,05 (S) Ou p > 0,05 (NS)

Test statistique : Post-hoc Tamhane.

p < 0,05 (Significatif)

p > 0,05 (Non significatif)

### V.3. Discussion :

Dans cette mise au point, nous avons utilisé des souris comme modèle animal en raison de leurs similitudes physiologiques avec les humains [188]. Les singes, les cobayes, les porcs, les chats, les furets, les rats, les gerbilles et les souris ont été utilisés depuis longtemps comme modèles animaux d'infection induite par *H. pylori* [189]. La technique d'induction de l'infection par *H. pylori* dans l'estomac des rats utilisée dans cette mise au point est conforme à plusieurs travaux précédents, et nous avons constaté que le taux de réussite atteint 100% dans ces travaux, confirmé par le test rapide de l'uréase [190]. La règle fondamentale de cette technique est de créer un environnement qui favorise l'accumulation de *H. pylori* dans l'estomac. Cette procédure commence par l'administration initiale de streptomycine et d'oméprazole pour prévenir l'accumulation d'autres bactéries et réduire l'acidité gastrique séparément [188,191].

Plusieurs facteurs sont associés à l'infection par *H. pylori*, notamment la motilité gastrique altérée, l'acidité gastrique et la formation de biofilm [192,193]. L'état de motilité gastrique altérée et d'acidité gastrique se développe en raison d'activités disproportionnées et d'une augmentation de la somatostatine et de la gastrine [192,194]. La formation de biofilm bactérien est l'un des principaux facteurs de résistance aux agents antibactériens [195]. Par conséquent, les facteurs mentionnés ci-dessus soutiennent l'effet de l'agent ou du médicament dans l'éradication de *H. pylori*. Cette mise au point n'a pas évalué la motilité gastrique altérée, l'acidité gastrique et la formation de biofilm, car nous nous sommes davantage concentrés sur les changements histopathologiques associés à l'infection par *H. pylori*.

Les lésions ou infections gastriques induisent une inflammation de la muqueuse gastrique. La transmission de *Helicobacter pylori* dans l'estomac favorise une inflammation prolongée en activant des médiateurs qui régulent le mouvement des neutrophiles, des macrophages et d'autres leucocytes, ce qui à son tour provoque des lésions pathologiques de la muqueuse gastrique [196,197]. Le diagnostic histopathologique est une référence qui permet de spécifier le degré de sévérité de la gastrite selon l'USS (Updated Sydney System). La gastrite due à *H. pylori* se caractérise par une activation polymorphonucléaire accrue et une densité de cellules mononucléaires, généralement associées à une atrophie des glandes, à une métaplasie intestinale et à une densité de *H. pylori* dans la muqueuse gastrique [198]. La densité élevée de *H. pylori* est directement liée au degré de sévérité de la gastrite [187]. Plusieurs études ont noté

que l'éradication de *H. pylori* avec le schéma d'éradication de première intention diminue l'inflammation et améliore la sévérité de la gastrite [187].

L'oméprazole, l'amoxicilline et la clarithromycine sont le schéma d'éradication de première intention. La présence d'oméprazole réduit l'acidité lumineuse gastrique en abaissant le pH et crée une inclinaison chimiotactique vers *H. pylori*. L'efficacité de l'action antibactérienne est ainsi optimisée [199]. L'amoxicilline bloque la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne et de sa membrane. La concentration d'amoxicilline dans l'estomac dépasse la concentration minimale inhibitrice en raison de la réduction de l'acidité gastrique après l'administration d'oméprazole. Par conséquent, l'association d'oméprazole et d'amoxicilline favorise l'éradication de *H. pylori* [196,200]. La clarithromycine, un macrolide antibactérien, inhibe le processus de transcription et la traduction dans la formation des protéines de *H. pylori*. Elle agit en se liant à la sous-unité ribosomique bactérienne 50S. Une étude scientifique a montré que l'association de clarithromycine et d'amoxicilline augmente le taux d'éradication de plus de 70% [201,202].

Nous avons pu exécuter toutes les étapes de cette mise au point jusqu'à la phase finale des prélèvements gastriques et nous avons présenté (dans la partie résultats) à partir des études récentes de la littérature les formes histopathologiques à rechercher lors des études d'évaluation de l'efficacité thérapeutique des génériques de l'amoxicilline en comparaison avec le princeps, sous forme de Photomicrographie des caractéristiques histopathologiques avec représentation du tissu gastrique des souris (coloration à l'hématoxyline et à l'éosine) à partir d'un Microscope Olympus CX22 LED avec un G 400x et une caméra Vivo 9. [186]

Cet examn histopathologique va identifier les bactéries *H. pylori*, les cellules PMN (Polymorphonucléaires), l'œdème et la vasodilatation dans les différents prélèvements appartenant aux différents lots testés (Témoins négatifs, témoins positifs, groupe traité par l'amoxicilline princeps ou générique selon les lots des animaux). Cette évaluation histopathologique est fortement indiquée par le système Sydney mis à jour (USS).

Le Système de Sydney Mis à Jour (Updated Sydney System) est un système de classification histopathologique largement accepté et couramment utilisé pour évaluer les lésions gastriques, notamment celles associées à l'infection par *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Il a été développé comme une mise à jour du système Sydney d'origine, dans le but de fournir des critères plus détaillés et standardisés pour l'évaluation de la gastrite. L'USS classe la gastrite en se basant sur

deux paramètres principaux: l'activité et la chronicité. L'activité fait référence à la présence et à l'étendue des modifications inflammatoires, tandis que la chronicité fait référence à la présence et à l'étendue des modifications de longue durée dans la muqueuse gastrique. L'USS évalue plusieurs caractéristiques histopathologiques pour déterminer la gravité et l'activité de la gastrite. Ces caractéristiques comprennent :

- **Activité des neutrophiles** : Elle évalue la densité des neutrophiles infiltrant la muqueuse gastrique, ce qui indique une inflammation aiguë.
- **Activité des cellules mononucléaires** : Elle évalue la densité des cellules mononucléaires, telles que les lymphocytes et les plasmocytes, ce qui indique une inflammation chronique.
- **Atrophie** : Elle examine la perte de structures glandulaires dans la muqueuse gastrique, qui peut être une conséquence d'une inflammation de longue durée.
- **Métaplasie intestinale** : Elle évalue la présence d'un épithélium de type intestinal spécialisé dans la muqueuse gastrique, qui peut survenir en cas d'inflammation chronique.
- **Densité de H. pylori** : Elle détermine la densité et la répartition des bactéries H. pylori dans la muqueuse gastrique, ce qui indique l'étendue de la colonisation.

En évaluant ces caractéristiques, l'USS fournit une appréciation complète de la gravité et de l'activité de la gastrite. Il permet aux pathologistes d'attribuer un score ou une classification standardisée à chaque paramètre, facilitant ainsi la communication et la comparaison des résultats histopathologiques. L'USS s'est avéré précieux dans la pratique clinique et la recherche, car il aide à orienter les décisions thérapeutiques, à prédire la progression de la maladie et à évaluer la réponse au traitement. Il fournit des informations importantes aux cliniciens dans la prise en charge des patients atteints de maladies gastriques, notamment celles liées à l'infection par H. pylori.

L'attribution des scores dans l'étude USS se fait en évaluant les différentes caractéristiques histopathologiques de la gastrite selon des critères prédéfinis. Chaque caractéristique est généralement évaluée individuellement et attribue un score en fonction de son intensité ou de son étendue. Les scores peuvent varier en fonction du système spécifique utilisé dans l'étude, mais voici un exemple général de l'attribution des scores dans l'USS :

Activité des neutrophiles :

- Score 0 : Aucun infiltrat neutrophilique.
- Score 1 : Infiltrat neutrophilique minime.
- Score 2 : Infiltrat neutrophilique modéré.
- Score 3 : Infiltrat neutrophilique sévère.

Activité des cellules mononucléaires :

- Score 0 : Aucun infiltrat mononucléaire.
- Score 1 : Infiltrat mononucléaire minime.
- Score 2 : Infiltrat mononucléaire modéré.
- Score 3 : Infiltrat mononucléaire sévère.

Atrophie :

- Score 0 : Aucune atrophie.
- Score 1 : Atrophie légère.
- Score 2 : Atrophie modérée.
- Score 3 : Atrophie sévère.

Métaplasie intestinale :

- Score 0 : Aucune métaplasie intestinale.
- Score 1 : Métaplasie intestinale focale.
- Score 2 : Métaplasie intestinale étendue.

Densité de *H. pylori* :

- Score 0 : Aucune présence de *H. pylori*.
- Score 1 : Faible densité de *H. pylori*.
- Score 2 : Densité modérée de *H. pylori*.
- Score 3 : Haute densité de *H. pylori*.

Ces scores individuels peuvent ensuite être combinés pour donner une évaluation globale de la sévérité et de l'activité de la gastrite. Par exemple, la sévérité de la gastrite peut être évaluée en ajoutant les scores d'activité des neutrophiles et des cellules mononucléaires, tandis que l'activité de la gastrite peut être évaluée en prenant en compte les scores d'activité des neutrophiles, des cellules mononucléaires et de la densité de *H. pylori*.

Il est important de noter que les scores et les critères d'évaluation peuvent varier d'une étude à l'autre, en fonction du protocole spécifique utilisé et des recommandations des chercheurs.

Dans la partie résultats de cette mise au point, nous avons proposé une méthode expérimentale d'évaluation de l'efficacité de tous les génériques de l'amoxicilline (GA01, GA02, GA03, GA04, et GA05) ainsi que les deux princeps (Clamoxyl F et Clamoxyl A). Cette méthode d'évaluation est basée dans une première étape sur l'expression en scores des différentes variables issues de l'examen histopathologique (Lymphocytes, Neutrophiles, Atrophie des glandes, métaplasie intestinale et la densité de H.Pylori), et calcul du score total de l'USS avec application du test statistique ANOVA à un facteur. Dans une deuxième étape nous avons proposé une méthode de comparaison des scores USS totaux [(Témoins -) & (Témoin +) / (Témoin -) & (Amoxicilline) / (Amoxicilline) & (Témoin +)] selon l'analyse post hoc du score total de l'USS dans chaque groupe pour évaluer l'efficacité de l'amoxicilline (Méthode valable pour les génériques comme pour les princeps).

# Discussion générale

## Discussion générale

### 1. Comparaison des résultats de l'étude de stabilité avec les résultats de la bioéquivalence in vitro (cinétique de dissolution) :

Après analyse des résultats de la cinétique de dissolution (Chapitre IV) et de la stabilité (Chapitre III) des cinq génériques d'amoxicilline, les conclusions suivantes ont été tirées :

- GA1 et GA4 sont stables dans les deux types de conditions de stabilité et sont bioéquivalents au Clamoxyl in vitro.
- Les génériques GA2 et GA5 sont stables en conditions réelles mais pas en conditions accélérées. Cependant, GA5 s'est avéré bioéquivalent à Clamoxyl in vitro, alors que GA2 ne l'était pas.
- Le GA3 générique n'était stable dans aucune des conditions de stabilité, mais était bioéquivalent à Clamoxyl in vitro.

Cela indique que nous ne pouvons pas nous fier aux résultats d'un seul test pour évaluer la qualité des médicaments en général, et l'interchangeabilité des génériques d'antibiotiques en particulier.

Les résultats issus de nos travaux ouvrent des perspectives intéressantes pour discuter la qualité des produits pharmaceutiques en post-commercialisation. Surtout en ce qui concerne l'interchangeabilité générique-princeps.

La stabilité et la bioéquivalence sont deux facteurs importants dans l'évaluation de la qualité des médicaments génériques, y compris les formulations génériques d'amoxicilline.

La stabilité désigne la capacité d'un médicament à conserver ses propriétés chimiques et physiques au fil du temps, dans diverses conditions telles que la température, l'humidité et la lumière. Les tests de stabilité sont effectués pour s'assurer que le médicament reste sûr et efficace tout au long de sa durée de conservation.

La bioéquivalence désigne la mesure dans laquelle un médicament générique est absorbé dans la circulation sanguine et produit le même effet thérapeutique que le médicament d'origine qu'il est censé remplacer.

Les études de bioéquivalence sont menées pour démontrer que le médicament générique est équivalent au médicament d'origine en termes de propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.

La stabilité d'un médicament générique peut avoir un impact sur sa bioéquivalence. Si un médicament générique se dégrade ou se décompose avec le temps, il peut ne pas être bioéquivalent au médicament d'origine, car le produit dégradé peut ne pas être absorbé dans la circulation sanguine de la même manière. Il est donc important de s'assurer que le médicament générique reste stable pendant toute sa durée de conservation, afin de garantir qu'il reste bioéquivalent au médicament d'origine.

Dans le cas de l'amoxicilline générique, il est important d'effectuer des tests de stabilité pour s'assurer que le médicament reste stable pendant sa durée de conservation, d'autant plus que l'amoxicilline a tendance à se dégrader dans certaines conditions, telles que des températures élevées et l'humidité. Des études de bioéquivalence doivent également être menées pour s'assurer que l'amoxicilline générique est équivalente au médicament d'origine en termes d'absorption et d'effet thérapeutique.

Si un produit générique d'amoxicilline s'avère bioéquivalent in vitro mais instable dans des conditions accélérées, cela peut s'expliquer par le fait que ces deux caractéristiques mesurent des aspects différents du produit pharmaceutique.

Les tests de bioéquivalence in vitro évaluent la similitude du taux et de l'étendue de l'absorption du médicament entre le produit générique et le produit de référence. Ce test consiste généralement à comparer les profils de dissolution du produit générique et du produit de référence dans des conditions normalisées. Si les profils de dissolution du produit générique et du produit de référence sont similaires, cela suggère que le produit générique est probablement bioéquivalent au produit de référence in vivo.

Les tests de stabilité, quant à eux, évaluent les propriétés chimiques et physiques du produit pharmaceutique dans le temps et dans différentes conditions de stockage. L'objectif des tests de stabilité est de s'assurer que le produit pharmaceutique conserve sa qualité, son activité et son efficacité pendant la durée de conservation prévue. Si le produit pharmaceutique se dégrade ou perd de son activité au fil du temps ou dans des conditions de stress, cela peut entraîner des modifications de ses propriétés pharmacocinétiques et affecter sa biodisponibilité et sa bioéquivalence.

Par conséquent, si un produit générique d'amoxicilline s'avère bioéquivalent in vitro mais instable dans des conditions accélérées, cela peut suggérer que le produit pharmaceutique a une faible marge de stabilité et qu'il est sensible aux conditions de stress. Cela pourrait

potentiellement affecter la stabilité à long terme du produit pharmaceutique et sa capacité à maintenir la bioéquivalence pendant la durée de conservation prévue.

Il est important de noter que les tests de stabilité et les tests de bioéquivalence sont menés séparément et évaluent des aspects différents du produit pharmaceutique. Il est donc possible qu'un produit pharmaceutique réussisse un test mais pas l'autre. Dans le cas d'un produit générique d'amoxicilline, il est important de s'assurer qu'il est à la fois bioéquivalent et stable pendant sa durée de conservation prévue afin de garantir sa sécurité et son efficacité.

Dans une étude récente de Maria Agudelo et al publiée en 2019, intitulée : « La non équivalence d'un générique d'imipénème-cilastatine est due à l'instabilité chimique du principe actif (imipénème) et non pas à un sous dosage de cilastatine » [203] Dans cette étude, un produit générique d'imipénème-cilastatine a été comparé à l'innovateur en termes de tests d'activité in vitro, d'équivalence pharmaceutique, d'équivalence pharmacocinétique (PK) et pharmacodynamique (PD) dans trois modèles expérimentaux, le modèle d'infection de la cuisse, du poumon et du cerveau chez la souris neutropénique. Les deux formes pharmaceutiques ont ensuite été soumises à des analyses de chimie analytique (LC/MS).

Les résultats de cette étude ont montré que le produit générique avait une concentration de cilastatine inférieure de 30 % à celle de l'innovateur d'imipénème-cilastatine. En ce qui concerne le principe actif (imipénème), les chercheurs n'ont trouvé aucune différence en termes de CMI, de CMB, de concentration ou de puissance ou d'AUC, confirmant l'équivalence en termes d'activité in vitro. Cependant, le générique a échoué à l'équivalence thérapeutique dans les trois modèles animaux. Son Emax contre *S. aureus* dans le modèle de la cuisse était constamment plus faible, tuant de 0,1 à 7,3 millions de micro-organismes de moins par gramme en 24 heures que l'innovateur ( $P = 0,003$ ). Contre *K. pneumoniae* dans le modèle de poumon, le générique a présenté un effet Eagle remarquable qui correspondait à une équation gaussienne plutôt que la courbe sigmoïde attendue du modèle de Hill. Dans le modèle d'infection cérébrale avec *P. aeruginosa*, le générique a échoué lorsque la croissance bactérienne était  $> 4 \log_{10}$  UFC/g en 24 heures, mais pas si elle était inférieure à  $2,5 \log_{10}$  UFC/g. Ces grandes différences dans le profil PD ne peuvent pas être expliquées par la concentration inférieure de cilastatine et suggèrent plutôt une défaillance attribuable au constituant d'imipénème du produit générique. Les tests de chimie analytique ont confirmé qu'en plus d'avoir 30 % de cilastatine en moins, l'imipénème générique était plus acide, moins stable, et présentait quatre produits de dégradation différents qui étaient absents dans le princeps. [203]

## 2. Corrélation entre la cinétique de dissolution et l'activité antibactérienne :

### Clamoxyl F :

Nos travaux portant sur l'activité antibactérienne in vitro ont conclu que Clamoxyl F était le plus efficace.

La cinétique de dissolution du clamoxyl F (Tableaux 81, 82 et 83) retrouve une dissolution très rapide (symptote). Cela peut justifier son efficacité prouvée.

### Clamoxyl A :

Les résultats de notre étude de l'activité antibactérienne in vitro on a conclu que le clamoxyl A ait une efficacité démontrée.

D'après la cinétique de dissolution du clamoxyl A (tableaux 84, 85 et 86), une dissolution très rapide (asymptote) a été constatée, ce qui justifie son efficacité.

### Générique GA1 :

Les résultats de notre travail sur l'activité antibactérienne in vitro nous ont amenés à conclure que le clamoxyl A avait fait preuve d'efficacité.

Selon la cinétique de dissolution du GA1 (tableaux 87, 88 et 89), une dissolution très rapide (asymptote) a été constatée. Bien que le GA1 soit stable dans les conditions réelles et accélérées et qu'il ait un taux de désintégration rapide, cela n'a pas augmenté l'efficacité in vitro de manière significative.

### Générique GA2 :

Nos recherches sur l'activité antibactérienne du GA2 in vitro nous ont amenés à conclure que son efficacité varie en fonction du type de souche bactérienne.

D'après la cinétique de dissolution du GA2 (tableaux 90, 91 et 92), on observe une dissolution très rapide à pH=1,2, et rapide à pH=4,5 et pH=6,8.

Le fait que le générique GA2 soit stable dans les conditions réelles mais pas dans les conditions accélérées peut expliquer le ralentissement de la cinétique de dissolution (d'extrêmement rapide à pH=1,2 à rapide à pH=4,5 et pH=6,8). Mais ces résultats n'ont pas eu d'impact sur l'activité antibactérienne.

### Générique GA3 :

Nos recherches sur l'activité antibactérienne du GA3 in vitro nous ont montré que son efficacité varie en fonction du type de souche bactérienne.

D'après la cinétique de dissolution du GA3 (tableaux 93, 94 et 95), une dissolution très rapide (asymptote) a été constatée. Ceci peut justifier l'efficacité démontrée.

En revanche, le générique GA3 était instable dans les deux types d'études de stabilité.

Cette instabilité n'a pas d'impact sur l'activité antibactérienne in vitro ni sur la cinétique de dissolution.

#### **Générique GA4 :**

Notre étude sur l'activité antibactérienne du GA4 in vitro a montré que son potentiel antimicrobien variait selon le type de souche bactérienne.

D'après la cinétique de dissolution du GA4 (tableaux 96, 97 et 98), une dissolution très rapide (asymptote) a été constatée. Ceci peut justifier l'efficacité démontrée.

Dans les deux différents types d'études de stabilité, le GA4 générique est plus stable que le "Clamoxyl". Nous pouvons conclure que ce générique est fort probablement interchangeable avec le Princeps.

#### **Générique GA5 :**

Notre évaluation de l'activité antibactérienne du GA5 in vitro nous a permis de conclure que son efficacité varie en fonction du type de souche bactérienne.

La comparaison des cinétiques de dissolution a montré que le générique GA5 et le Clamoxyl sont bioéquivalents in vitro.

Le générique GA5 est stable dans les conditions réelles, mais pas dans les conditions accélérées. L'instabilité de GA5 dans des conditions accélérées peut être due à un problème de formulation galénique.

- Une étude comparative de dissolution a été réalisée par Mubarak Nasser Al Ameri et al. De nombreux médicaments génériques de cette étude ont montré des différences significatives par rapport à leurs homologues innovateurs lors des tests de dissolution. Certains génériques ont montré une dissolution incomplète et d'autres ont montré qu'ils se dissolvent plus lentement ou plus rapidement que leurs homologues princeps. Néanmoins, des différences significatives dans le taux de dissolution ont également été mises en évidence dans les comparaisons d'un lot à l'autre. Certains génériques d'un même fabricant avec des lots différents du même médicament présentaient des différences significatives. Cela montre que la substitution entre les génériques eux-mêmes peut être risquée. Malheureusement, certains autres médicaments génériques de ce test de dissolution n'ont pas réussi à atteindre la dissolution de 85 % à 60 minutes. Ces différences de taux de dissolution entre les

médicaments princeps et leurs équivalents génériques pourraient avoir une incidence sur l'efficacité et les profils d'effets secondaires des médicaments. Dans cette étude, ils ont observé que la forme générique de l'amoxicilline et du clavulanate potassique à 1000 mg a montré un taux de dissolution plus lent que son homologue princeps. Alors que, toutes les formes génériques testées (Génériques A, A1 et B) d'amoxicilline 500 mg se sont dissoutes plus rapidement que leur équivalent princeps, donc ils ont montré qu'ils peuvent se dissoudre plus rapidement que le princeps. [136]

- Lobenberg et al ont trouvé que 3 des 11 produits génériques d'amoxicilline testés contre 1 CPP (comparateur produit pharmaceutique) se sont révélés équivalents in vitro. Les produits d'amoxicilline d'Afrique du Sud et d'Inde utilisés comme CPP ne répondaient aux exigences de dissolution qu'à pH 1.2 (dissolution rapide) mais ne répondaient pas aux exigences de dissolution à pH 4.5 ou 6.8. [158]
- Saptarini et al ont comparé le contenu et la dissolution de trois marques d'amoxicilline à 500mg fabriquées par le gouvernement indonésien avec trois marques produites par des entreprises privées et n'ont trouvé aucune différence significative entre les six préparations. Cette dernière étude a identifié qu'une dissolution rapide produirait une bonne absorption de l'ingrédient actif et que le processus de dissolution est un meilleur substitut à l'absorption que la désintégration. [165]
- Une étude menée en Inde a étudié la qualité de 46 produits génériques à base d'amoxicilline. Cette étude qui a été réalisé par Ahmed nawaz khan et al, a trouvé que 28,26 % se sont révélés non conformes aux spécifications de la PI (la Pharmacopée indienne), dont 13,04 % étaient de qualité inférieure aux normes. [204]
- Quant à l'étude comparative des profils de dissolution des différentes marques d'amoxicilline (capsule) réalisée par Kassaye L, Genete G, toutes les méthodes de comparaison ont prouvé la similitude du profil de dissolution de la seule Marque G avec l'innovateur. [164] La marque A est légèrement exclue en raison de l'augmentation de la différence des intervalles de confiance. Même bien que tous les produits testés aient passé l'USP (2009), la plupart des produits génériques ne sont pas interchangeables avec le produit innovateur. [164]

Les trois marques : Marque A, Marque F et Marque G peuvent probablement être interchangeables entre eux et avec la marque innovatrice. Toutefois, les cinq autres marques ne sont probablement pas interchangeables avec la marque innovatrice. [164]

### 3. Perception des génériques d'antibiotiques :

Le développement du médicament générique est régulièrement affiché par les pouvoirs publics comme axe stratégique de la politique Algérienne du médicament. Comme le confirme l'instruction n°005 du 07 Septembre 2003 du Ministère de la santé relative "à la généralisation du médicament générique". Elle stipule notamment : « l'enregistrement d'un médicament de marque ou princeps n'est autorisée qu'en l'absence d'un médicament générique et dans les limites d'un surcoût éventuel par rapport au tarif préférentiel pour la DCI se situant au maximum à 25% ».

La production et la commercialisation de médicaments génériques en Algérie répondent à une nécessité économique afin d'alléger la facture d'importation des médicaments vue que la consommation annuelle avoisine les 3.3 milliards d'euros à la fin 2016 (2 milliards à l'importation contre 1,3 milliards à la production), et également pour avoir les moyens d'offrir à tous les patients la possibilité d'accéder aux nouveaux traitements et à l'innovation thérapeutique à moindre coût.

Tous les pays, pour les mêmes raisons, développent une politique d'encouragement et de promotion des génériques. En Allemagne, au Royaume-Uni ou aux Pays-Bas, par exemple, la part des génériques représente plus de 60% des quantités de médicaments vendus, aux Etats-Unis c'est 89 % et au Canada 81 %. En France 24 % du marché en quantité et un peu plus de 10 % en valeur.

Cette volonté affichée des pouvoirs publics algériens de promouvoir le médicament générique et la fabrication locale a été confirmée, par la décision du gouvernement prise le 30 novembre 2008 interdisant l'importation de médicaments produits localement en quantité suffisante.

C'est ainsi, que depuis 2008, la production nationale des génériques est passée de 255 millions d'Euros en 2004 à 363 millions d'euros en 2008, soit une augmentation de 42% en 5 ans et à 553 millions d'euros en 2009, et à 1,3 Milliards d'euros en 2016, soit près de 45% de la consommation totale du pays, pour atteindre environ 2 Milliards d'euros en 2022, soit près de 70% des besoins de la population algérienne en médicaments.

Cependant la qualité, la sécurité et l'efficacité des médicaments génériques en général et des génériques d'antibiotiques en particulier, restent toujours controversés par une bonne partie de patients et par la grande majorité des médecins prescripteurs et des pharmaciens dispensateurs,

et ce malgré des contrôles stricts mis en place par le Ministère de l'Industrie et de la Production Pharmaceutique et les services de l'Agence Nationale des produits pharmaceutiques ANPP.

En Europe et aux USA, un générique obtient son autorisation de mise sur le marché en prouvant sa "bioéquivalence" avec la molécule originale. Or plusieurs études suggèrent que la pharmacocinétique des antibiotiques est plus complexe que cette simple comparaison.

Plusieurs études scientifiques récentes soulèvent de sérieux doutes sur la réelle équivalence thérapeutique entre les génériques d'antibiotiques et leurs princeps, notamment les antibiotiques injectables, mais aussi des antibiotiques sous forme sèche (comprimés et gélules en particulier).

Dans le même contexte, un certain nombre d'enquêtes ont également montré que des proportions importantes de patients exprimaient des opinions négatives sur les médicaments génériques, estimant qu'ils sont moins efficaces, de moins bonne qualité et inadaptés au traitement de maladies graves, par comparaison à leurs équivalents de marque. [2,3] Cette perception négative par les patients, les médecins et les pharmaciens, peut nuire à l'adoption générale des médicaments génériques.

Une revue systématique des études observationnelles (publiées entre 1980 et 2015) visant à explorer les attitudes des patients, des médecins et des pharmaciens envers les médicaments génériques. La revue a été publiée en 2016 par Sarah Colgan et col. Après la sélection de 2737 articles, 52 articles ont été inclus dans l'analyse finale. Une forte proportion de médecins, de pharmaciens et de patients avaient une perception négative des génériques. Les patients étaient significativement plus susceptibles de considérer les génériques comme moins efficaces que les médicaments de marque (35,6 %) par rapport aux médecins (28,7%) et aux pharmaciens (23,6 %). L'étude a conclu que les perceptions négatives des médecins et des pharmaciens peuvent être des obstacles à une acceptation plus large des génériques, car les professionnels de la santé ont une forte influence sur la décision des patients de prendre des médicaments génériques. [4]

Il est nécessaire de poursuivre les travaux sur la manière dont les interventions destinées aux professionnels de la santé et au public peuvent réduire les attitudes négatives sur l'efficacité, l'innocuité et les effets secondaires, afin d'améliorer l'acceptabilité de la prescription et de la substitution des médicaments génériques.

L'encouragement de la consommation de médicaments génériques pour réduire les dépenses pharmaceutiques est un défi pour de nombreux pays, particulièrement en période de crise économique.

Une autre étude scientifique a été réalisée en Grèce et publiée par Xanthopoulou et col en 2019, portant sur l'analyse du marché des médicaments génériques en Grèce et de déterminer les facteurs qui influencent l'attitude des patients et des médecins grecs à l'égard de la substitution. Un manque de confiance des patients et des médecins a été observé à l'égard de l'efficacité des génériques et de la pertinence des contrôles de qualité effectués par les autorités réglementaires. L'étude présente un ensemble structuré de mesures appliquées dans de nombreux pays, pour promouvoir la consommation de médicaments génériques qui peuvent conduire à l'efficacité économique sans dégrader la qualité des soins médicaux. [205]

Par ailleurs un article scientifique plus récent publié en 2021 par Jinghan et ses collaborateurs a porté sur les connaissances, perceptions et pratiques des pharmaciens concernant la substitution du générique en Chine. 2291 pharmaciens hospitaliers et officinaux ont participé à l'enquête. L'étude a identifié des lacunes dans les connaissances et les perceptions des répondants en matière de substitution des génériques. Les pharmaciens qui connaissent mieux les médicaments génériques ont tendance à adopter une attitude plus favorable. Bien qu'il semble que les pharmaciens en Chine ont largement accepté la substitution générique, ils ont encore des préoccupations quant à l'efficacité et à la qualité de ces derniers. Les auteurs ont conclu que des mesures supplémentaires sont à prendre afin de valoriser la contribution des médicaments génériques dans la stratégie de maîtrise des coûts des soins médicaux du pays, ainsi que pour la mise en œuvre de la politique de substitution des médicaments génériques en Chine. [206]

Une autre étude chinoise publiée en 2021, a porté sur la perception des médicaments génériques chez les pharmaciens des hôpitaux publics dans la province de Hubei en Chine. [207] La majorité des personnes interrogées (87,2 %) pouvaient clairement faire la distinction entre les médicaments originaux et les médicaments génériques. Les pharmaciens ont convenu que les médicaments génériques étaient moins efficaces (52,8 %) et produisaient plus d'effets secondaires (52 %). Quarante-neuf répondants pensaient que les médicaments génériques n'étaient pas testés de manière adéquate. Environ 78 % et 60 % des pharmaciens ont indiqué que la substitution générique n'était pas possible pour les médicaments à fenêtre thérapeutique

étroite et les médicaments pour les maladies graves. La plupart d'entre eux étaient favorables à la recommandation de médicaments génériques sur la base d'un jugement professionnel. Cette étude a conclu montré qu'une grande partie des pharmaciens hospitaliers chinois ont une perception négative des médicaments génériques d'où la nécessité d'améliorer les connaissances des pharmaciens sur les médicaments génériques.[207]

Une étude Néo-Zélandaise publiée en 2011 par Babar et col, a mis l'accent sur l'évaluation des connaissances et de la perception des pharmaciens concernant les médicaments génériques en Nouvelle-Zélande. Environ un tiers des pharmaciens interrogés ont correctement défini le terme "médicaments génériques", ce qui suggère des divergences dans les connaissances et les perceptions des pharmaciens à l'égard des médicaments génériques. Des inquiétudes ont été exprimées à propos de la qualité, la sécurité et l'efficacité des médicaments génériques, mais la plupart des pharmaciens ont reconnu les avantages économiques qu'ils procurent au système de soins médical.[208]

Dans l'étude de Josef Maly et col publiée en 2013, ayant comme objet l'Analyse des opinions, attitudes et expériences des pharmaciens en matière de médicaments génériques et de substitution en République tchèque. L'étude a souligné que le recours à la substitution semble être étroitement lié à la confiance du pharmacien dans les médicaments génériques. Cette confiance dépend, entre autres, de la compréhension de la législation relative aux médicaments génériques et que le bénéfice financier des génériques, s'il existe, ne doit pas être obtenu au détriment de la sécurité, dont le garant est le pharmacien qui examine chaque cas individuellement.[209]

#### **4. Variabilité inter lots pour le même générique :**

L'évaluation par Moets et col de 46 lots de génériques de la pipéracilline/tazobactam testés sur quatre souches bactériennes (Deux souches d'E. coli, P.aeruginosa, et S.aureus) révèle des variations importantes allant de 10 à 42% (16% en moyenne) [210] ainsi qu'une variabilité inter-lots pour les différents lots du même générique. Les auteurs ont constaté que uniquement 3 sur 46 lots de génériques ont atteint une activité supérieure ou égale à celle de l'innovateur. Un générique a présenté une diminution d'efficacité de 60% sur P. aeruginosa.

Les principaux facteurs qui contribuent à la variabilité pharmaceutique et thérapeutique entre différents lots d'une même marque générique d'antibiotique peuvent être les suivants :

L'un des principaux facteurs est la différence entre les matières premières utilisées pour fabriquer le produit. La qualité et la composition du principe actif, des excipients et des autres matériaux utilisés dans le processus de production peuvent varier d'un lot à l'autre, ce qui entraîne des différences dans le produit final. Cela peut être dû à la variabilité de la source des matières premières ou à des problèmes liés à la chaîne d'approvisionnement ou aux processus de fabrication.

Un autre facteur qui peut contribuer à la variabilité est la variation du processus de fabrication lui-même. Même si le même processus est utilisé pour fabriquer chaque lot d'antibiotique, il peut y avoir des différences au niveau de l'équipement, de la température, de l'humidité, de la pression ou du pH, ce qui peut avoir un impact sur le produit final. En outre, des différences dans les niveaux de formation et d'habilitation aux postes occupés par les opérateurs ou les techniciens qui travaillent sur le processus de fabrication peuvent également contribuer à la variabilité.

Les conditions de stockage peuvent également contribuer à la variabilité entre les lots. La manière dont l'antibiotique est stocké entre les lots peut avoir un impact sur la stabilité et la qualité du produit au fil du temps. Des facteurs tels que la température, l'humidité et l'exposition à la lumière peuvent tous affecter la stabilité de l'antibiotique, entraînant des changements dans la puissance et l'efficacité du produit.

Les procédures opératoires standardisées de contrôle de la qualité peuvent également être un facteur de variabilité entre les lots. Les méthodes utilisées pour tester la qualité et l'activité de l'antibiotique peuvent varier d'un lot à l'autre, entraînant des différences significatives dans les propriétés mesurées du produit. Les différences de sensibilité et de précision de ces tests peuvent également contribuer à la variabilité.

Exigences réglementaires : Les modifications et les mises à jour des exigences réglementaires, telles que des normes nouvelles ou actualisées en matière de fabrication, de test ou d'étiquetage, peuvent entraîner des différences entre les lots d'un même antibiotique.

Erreur humaine : Les erreurs commises au cours du processus de fabrication ou de test peuvent entraîner une variabilité entre les lots. Il peut s'agir de problèmes de mélange ou de mesure, d'erreurs d'étiquetage ou d'emballage, ou d'erreurs de test ou d'analyse.

Facteurs environnementaux : Des facteurs externes tels que des pannes d'électricité, des catastrophes naturelles ou d'autres perturbations du processus de fabrication peuvent également contribuer à la variabilité entre les lots.

Enfin, la taille du lot de production peut également avoir un impact sur la qualité inter-lots des génériques d'antibiotique. L'optimisation du scale up (augmentation de la taille des lots) d'antibiotiques génériques est un processus complexe qui nécessite une planification, des tests de qualité pharmaceutique et une évaluation minutieuse. Voici quelques mesures générales qui peuvent être prises pour optimiser le processus d'augmentation de la taille des lots :

- Réaliser une étude de faisabilité : Avant d'augmenter la taille des lots, il est important de réaliser une étude de faisabilité afin d'évaluer les risques et les avantages potentiels de l'augmentation de la taille des lots. Cette étude doit tenir compte des ressources disponibles, des capacités de fabrication et des exigences réglementaires en vigueur.
- Évaluer le processus de fabrication : Une fois l'étude de faisabilité achevée, le processus de fabrication doit être évalué afin d'identifier les domaines susceptibles d'être améliorés ou optimisés. Il peut s'agir d'examiner les matières premières utilisées, l'équipement et les processus de fabrication, ainsi que les procédures de contrôle de la qualité et d'essai.
- Effectuer des essais à petite échelle : Avant d'augmenter la taille des lots, il est important de procéder à des essais à petite échelle afin d'évaluer le processus de fabrication et d'identifier tout problème potentiel. Il peut s'agir de tester différentes formulations, matières premières et paramètres de fabrication.
- Valider le process: Une fois les essais à petite échelle terminés, le processus de fabrication doit être validé pour s'assurer qu'il peut produire de manière constante un produit de haute qualité à la taille de lot souhaitée. Pour ce faire, il peut être nécessaire de procéder à plusieurs essais du processus de fabrication et de tester le produit final afin d'en garantir la cohérence et la qualité.
- Contrôler le process de fabrication : Une fois le processus validé et la taille des lots augmentée, il est important de contrôler le processus de fabrication pour s'assurer qu'il continue à produire un produit de haute qualité. Cela peut impliquer des tests réguliers et des contrôles de qualité, ainsi que des ajustements du processus de fabrication si nécessaire.
- Amélioration continue : Enfin, il est important d'améliorer en permanence le processus de fabrication afin d'optimiser l'efficacité, de réduire les coûts et d'améliorer la qualité. Il peut

s'agir de mettre en œuvre de nouvelles technologies ou de nouveaux équipements, d'améliorer les procédures de contrôle de la qualité ou d'optimiser la chaîne d'approvisionnement pour garantir la stabilité et la qualité des matières premières.

### **5. Est-ce que l'équivalence pharmaceutique prédit toujours l'équivalence thérapeutique pour les génériques d'antibiotiques par rapport au princeps :**

Dans une méta-analyse de Veronin (2011) [211], la recherche bibliographique exhaustive sur Medline et Embase, selon la méthode de Chow et Liu (1997) [212], a identifié Soixante-six études incluant des antibiotiques, des antifongiques, des antiviraux et des antipaludéens. Les essais sont divisés en tests microbiologiques, tests pharmaceutiques, tests de bioéquivalence et tests pour évaluer les paramètres cliniques. Trente-quatre des 66 études (52 %) étaient principalement des études de bioéquivalence, et 30 des 34 études (88 %) ont démontré la bioéquivalence. Deux des 22 études (9 %) ont utilisé des méthodes microbiologiques et/ou physicochimiques pour évaluer la qualité des médicaments et ont montré de plus grandes différences d'équivalence. Dix études comparaient l'équivalence clinique et concluaient que les résultats n'étaient pas significativement différents entre les médicaments génériques et les médicaments de marque. Dix des 66 études (15 %) ont été publiées avant 2000 et 11 (17 %) ont été menées aux États-Unis. L'auteur estime que si la qualité du médicament est respectée et que la bioéquivalence atteint la norme établie, le médicament générique aura la même efficacité clinique que le médicament original.

Plusieurs antibiotiques sont utilisés par voie injectable, ce qui ne pose aucun problème de bioéquivalence. Rappelons que les recommandations internationales n'exigent pas d'études de bioéquivalence pour les médicaments administrés par voie injectable (IM, IV) et que seuls des dossiers de qualité sont considérés comme nécessaires à l'enregistrement. Cependant, un groupe de chercheurs Colombiens a mis en doute la validité de ce principe à travers ses travaux publiés entre 2009 et 2020 :

- Dans l'étude de Zuluaga et col [11], Il a été évalué l'efficacité in vivo et in vitro du princeps de la Gentamycine et de 20 génériques équivalents pharmaceutiques du princeps, L'étude a révélé qu'un seul générique est inefficace in vitro (CMI = 45.3 vs. 0.7 mg/L,  $p < 0.05$ ), alors que 10 autres génériques ont montré une inefficacité in vivo contre E.coli par rapport au princeps (Emax = 4.81 à 5.32 vs. 5.99 log<sub>10</sub> CFU/g,  $p \leq 0.043$ ).

Cette étude a conclu notamment que "l'équivalence pharmaceutique ne prédit pas l'équivalence thérapeutique des génériques de la gentamycine" et propose de durcir les conditions d'enregistrement des génériques d'antibiotiques en exigeant des critères plus stricts basés sur des preuves expérimentales solides avant l'approbation de ces génériques pour l'usage humain.

- Dans une deuxième étude, publiée en 2009 [12], les auteurs colombiens ont décrit une méthode microbiologique visant à déterminer la quantité de principe actif et l'équivalence d'activité antibiotique entre les princeps et les génériques. Cette méthode de dosage microbiologique était basée sur la variation de concentration-dépendante de l'effet inhibiteur de l'antibiotique sur les bactéries de référence (*B. subtilis*, *S. aureus* et *S. epidermidis*) dans une géloseensemencée. Elle a conduit à une relation linéaire concentration-réponse avec deux paramètres : l'ordonnée à l'origine (concentration) et la pente (puissance). Les auteurs ont comparé les paramètres de 22 produits génériques : amikacine [4], gentamicine [15], et vancomycine [3] contre leur produit princeps. Les médicaments n'ont été analysés qu'à l'aide de cette mesure de l'activité in vitro, aucun essai chez l'animal ou chez l'Homme n'a été réalisé. Cette méthode permet de déterminer la quantité de principe actif entre princeps et générique basée sur une mesure de l'activité pharmacologique (antibactérienne). En outre, aucune méthode analytique type HPLC n'a été utilisée pour la recherche d'impuretés ou de produits de dégradation. L'équivalence pharmaceutique a été démontrée pour 21 des 22 génériques (Sauf pour un générique de vancomycine, qui avait une teneur supérieure de 25 % par rapport au princeps). Les génériques d'amikacine présentaient une estimation d'activité de 99,8 à 100,5 %, les génériques de gentamycine de 99,7 à 100,2 % et ceux de vancomycine de 98,5 à 99,9 %. Il est important de noter que, selon cette méthode, les trois génériques de vancomycine testés avaient une activité non inférieure à celle du princeps. Les auteurs ont affirmé que leur méthode permettait de tester l'équivalence pharmaceutique entre les génériques et le princeps. Toutefois, il convient de noter que la variabilité intrinsèque de cette méthode est largement supérieure (environ + 10 %) à celle obtenue par des techniques de séparation chromatographique.[5]
- Dans une troisième étude menée par Rodriguez et al [10], sous l'intitulé : « In vitro and in vivo comparison of the anti-staphylococcal efficacy of generic products and the innovator of oxacillin » publiée en 2010 dans le BMC Infectious Diseases, les chercheurs ont comparé

11 génériques de l'oxacilline avec le princeps, en étudiant les dosages des principes actifs, les concentrations minimales inhibitrices CMI, les concentrations minimales bactéricides CMB, et l'activité antibactérienne sur le modèle de la cuisse infectée chez les souris neutropéniques. L'étude de l'activité in vitro n'a révélé aucune différence significative entre le princeps et les 11 génériques en terme de CMI et CMB, par contre l'étude in vivo de l'activité antibactérienne a conclu que tous les génériques étudiés ont montré une inefficacité in vivo avec un effet maximal Emax inférieur à celui du princeps et une dose bactériostatique BD et 1LKD (dose needed to kill the first log of bacteria) plus élevées ou correspondent à un modèle non-sigmoïdal. L'étude de « Rodriguez et al » a également conclu que "l'équivalence pharmaceutique ou la similarité des CMI et des CMB des génériques d'oxacilline avec celles du princeps ne sont pas des critères utiles pour accorder l'équivalence thérapeutique. Afin de confirmer l'équivalence thérapeutique, tous les génériques d'oxacilline devrait être examinés in vivo. [10]

Il est important de souligner que selon un rapport publié en 2012 par l'académie nationale française de Pharmacie, l'approche expérimentale des chercheurs colombiens comporte de nombreux biais, notamment l'utilisation de lots de médicaments génériques non identiques pour les essais in vitro et in vivo (certains génériques n'étant pas disponibles pour les tests de teneur et d'efficacité in vitro mais étant testés in vivo), cinq lots différents du princeps utilisés comme référence, certains génériques exclus pour des "raisons techniques" non spécifiées, un lot d'animaux exclu en raison de la contamination, etc. Il est également intéressant de noter que le princeps utilisé comme référence n'est plus commercialisé depuis plusieurs années par le laboratoire, ce qui pose des questions sur son origine et sa qualité. Enfin, tous les génériques testés ont été fabriqués en Colombie, mais ils ne sont pas disponibles ni autorisés aux États-Unis ou en Europe selon les critères de qualité et de bioéquivalence exigés pour tous les génériques.[5]

- Une quatrième étude comparative de Vesga et al, publiée en 2010 dans le journal de la société américaine de microbiologie, a également conclu l'inefficacité thérapeutique in vivo de trois génériques de la vancomycine par rapport au princeps. [8] Les génériques comparés incluent trois produits, dont deux lots produits aux États-Unis et un produit en France, ainsi qu'un produit fabriqué en Argentine. Les méthodologies utilisées ont été les mêmes pour tous les produits : mesure de la teneur par méthode microbiologique, effet antibactérien in

vitro (potency), activité in vivo sur un modèle de souris neutropéniques. En outre, une étude pharmacocinétique à dose unique a été menée sur les souris.

À l'exception d'un produit présentant une teneur légèrement supérieure, les trois génériques de la vancomycine étaient pratiquement identiques au produit original en termes de résultats de teneur, d'efficacité in vitro (CMI et CMB) et de pharmacocinétique sérique. Malgré ces similitudes importantes qui les font considérer comme équivalents, tous les produits génériques ont été considérés comme cliniquement inférieurs au produit original en se basant sur les Emax (IC 95 %) : 2,04 (1,89 à 2,19), 2,59 (2,21 à 2,98) et 3,48 (2,92 à 4,04) respectivement, par rapport à 5,65 (de 5,52 à 5,78) lg10 UFC / g pour le produit original ( $p < 0,0001$ ).

Les auteurs expliquent ce résultat étonnant en utilisant une analyse de régression non linéaire qui suggère que les versions génériques de la vancomycine contiennent des "principes inhibiteurs et stimulateurs" qui produisent des actions antagonistes-agonistes, ce qui expliquerait les différences d'activité observées in vivo. Cependant, aucune étude de ces substances inhibitrices n'a été fournie car les génériques n'ont pas été analysés par les méthodes chromatographiques recommandées par les pharmacopées. En se basant sur ces données pharmacologiques animales, les auteurs affirment que la position de l'OMS et des agences nationales d'autorisations (FDA, EMA, etc.) selon laquelle l'équivalence pharmaceutique implique l'équivalence thérapeutique pour les médicaments administrés par voie intraveineuse est erronée, du moins dans le cas de la vancomycine.

Selon le même rapport cité ci-dessus de l'académie nationale française de pharmacie, les mêmes critiques méthodologiques peuvent être relevées, notamment l'utilisation de plusieurs lots différents pour le princeps et les génériques, sans indication de leur date de fabrication, ce qui ne permet pas de connaître leur éventuelle dégradation par rapport à leur date de péremption. L'étude s'est déroulée sur une période de sept ans, avec différents lots utilisés à des moments différents pour mesurer la teneur et l'activité antibactérienne in vitro ainsi que pour les essais in vivo. De plus, la date de péremption du princeps Lilly était fin 2005 et les solutions ont été congelées pour une utilisation ultérieure, selon les auteurs, c'est-à-dire une période de conservation d'au moins quatre ans. Par conséquent, en l'absence d'investigations sur une éventuelle dégradation du produit testé par les méthodes d'isolement, des découvertes majeures pourraient expliquer ces allégations surprenantes et

invalider les conclusions cliniques et pharmacologiques tirées par les auteurs. Un biais expérimental ne peut être exclu. [5]

- Par ailleurs, une équipe de la FDA a publié des études menées par deux laboratoires indépendants sur la qualité et l'activité in vivo de toutes les vancomycines génériques approuvées aux États-Unis dans des modèles animaux [213]. Ces deux équipes ont utilisé des méthodes de séparation différentes mais validées (UPLC et HPLC, respectivement) pour analyser les substances apparentées dans la vancomycine.

(Selon la pharmacopée britannique - BP). Des résultats similaires ont été obtenus de deux laboratoires. Le produit testé contenait 90-95% de vancomycine B (principe actif) par BP-HPLC et 89-94% par UPLC. Les impuretés totales étaient de 5 à 10 % par la méthode BP-HPLC et de 6 à 11 % par la méthode UPLC. Il n'y avait aucune impureté avec une concentration supérieure à 2,0 % et tous les produits contenaient des impuretés inférieures à 2,0 %. Bien qu'une certaine variabilité ait été observée dans les profils d'impuretés des différents produits, aucun produit nocif n'était présent dans les six produits testés par les auteurs américains. Les paramètres de qualité étaient supérieurs aux critères d'acceptation de l'USP. Une étude de confirmation a été réalisée et formellement validée pour le même médicament générique américain en utilisant une autre méthode par HPLC avec barrette de diodes et détection par spectrométrie de masse. Comme pour les études précédentes, tous les génériques répondent aux critères de l'USP en matière de puissance, de profil d'impuretés et d'activité antimicrobienne.

Une étude de confirmation du même médicament générique américain a été réalisée et validée de manière appropriée à l'aide d'une méthode originale alternative de chromatographie liquide haute performance combinée à une barrette de diodes et à la détection par spectrométrie de masse. Comme dans les études précédentes, tous les génériques répondaient aux critères USP de puissance, de profil d'impuretés et d'activité antimicrobienne. [67, 70]

- Une cinquième étude comparative de « Zuluaga et al », Publiée dans le BMC Res Notes (2015) portant sur la pharmacodynamie de neuf génériques de l'amikacine avec le princeps sur le modèle de la cuisse infectée chez les souris Neutropéniques, a abouti aux mêmes résultats précédents des équipes colombiennes, montrant que huit génériques sur neuf ont été inefficaces in vivo malgré la comparabilité de leurs activités in vitro avec celle du princeps [13]

- Les résultats des études colombiennes ont été largement discutés par une équipe de chercheurs français (Gauzit et Lakhdari, 2012) [69] qui soulignent que le problème est particulièrement crucial pour les médicaments génériques administrés par voie intraveineuse, qui ne nécessitent pas d'étude de bioéquivalence avant d'être commercialisés. Selon Gauzit et Lakhdari, l'évaluation de l'efficacité des médicaments antibiotiques génériques donne lieu à une dispersion importante des résultats en fonction des agents antibiotiques et, pour un même agent antibiotique, tous les médicaments génériques ne sont pas équivalents. Il existe des différences à tous les niveaux : composants du médicament, taux d'impureté, pharmacocinétique, relation pharmacocinétique/pharmacodynamique, efficacité in vitro, efficacité thérapeutique dans des modèles expérimentaux, etc. Si bien qu'en définitive, les spécifications approuvées dans le dossier de soumission initial d'un médicament de marque ne sont pas toujours respectées par un médicament générique. Il existe également un problème spécifique de goût et d'acceptabilité du traitement pour les médicaments antibiotiques pédiatriques administrés par voie orale.

Gauzit et Lakhdari soulignent également que les données disponibles sur l'efficacité clinique sont excessivement rares et que la mise sur le marché d'un grand nombre de médicaments génériques d'une même spécialité est suivie d'une augmentation parfois très importante de leur utilisation, même dans les pays où la consommation est faible. La conséquence de cette augmentation de la consommation est une augmentation de la résistance, et ceci est particulièrement vrai pour les fluoroquinolones orales. Les auteurs français ont également conclu que même si la plupart de ces informations doivent être vérifiées, il semble nécessaire de revoir les règles d'autorisation de mise sur le marché des médicaments antibiotiques génériques.

- Dans une revue systématique publiée en 2014 par Pierre Tattevin et al [1], portant sur l'efficacité et la qualité des produits génériques antibactériens approuvés pour l'usage humain. Les auteurs ont recherché dans Medline et Embase les articles de recherche originaux sur les produits génériques antibactériens publiés en anglais ou en français avant juillet 2013. Ils ont sélectionné 37 articles originaux: 15 sur les  $\beta$ -lactames, 10 sur les glycopeptides et 12 sur d'autres agents antibactériens. La majorité des articles (73,0 %) ont été publiés entre 2008 et 2012. Les études portaient sur la chimie analytique (n = 9), des études de sensibilité in vitro (n = 14), des expérimentations animales (n = 6, dont 5 utilisant

l'infection de la cuisse de la souris neutropénique) et des études cliniques chez l'homme (n = 15).

Sur les 37 études, 14 (37,8 %) suggèrent que certains produits génériques peuvent être inférieurs à l'innovateur en termes de pureté (n = 2), d'activité in vitro (n = 3), d'activité in vivo (n = 4) et de qualité (n = 5). (n = 3), d'efficacité in vivo dans des modèles expérimentaux (n = 4), d'efficacité clinique (n = 2), de goût (n = 2) ou d'observance et d'acceptabilité chez les enfants (n = 1). La majorité des études in vitro (78,6 %) n'ont révélé aucune différence significative entre les produits génériques et l'innovateur. Selon les auteurs, la plupart (5/6) des études in vivo réalisées par les colombiens et suggérant une différence entre les produits génériques et l'innovateur ont été réalisées sur un modèle animal qui « n'est pas validé » pour l'évaluation de l'efficacité des agents antibactériens. Le niveau de preuve était toujours faible dans les études cliniques. Les mêmes auteurs ont conclu que les données publiées sur les produits génériques antibactériens sont limitées et hétérogènes, ce qui exclut toute tentative de généralisation des résultats des études. Cette revue systématique suggère que des preuves supplémentaires seraient indispensables avant d'envisager une révision de la procédure d'autorisation de mise sur le marché des produits génériques antibactériens.

- En réponse aux critiques émises par Pierre Tattevin et al dans leur étude citée ci-dessus, les chercheurs colombiens Zuluaga et al, ont rebondi à propos de la remise en question de leur modèle animal de la cuisse infectée chez la souris neutropénique NMTIM [14]

Selon les chercheurs colombiens, ils pensent que étonnamment, Tattevin et al ne tiennent pas compte des résultats du modèle NMTIM, prétendant qu'il "n'est pas validé pour l'évaluation de l'efficacité des agents antimicrobiens" et affirmant que le modèle d'endocardite de lapin est le golden-standard à cette fin.

Le règlement sur les animaux de la Food and Drug Administration s'appuie sur une ligne directrice réglementaire solide [119], bien qu'elle ne mentionne pas le terme "validation". La validation des modèles animaux repose sur la démonstration de leur validité apparente, c'est-à-dire de leur similitude avec les symptômes, la pathophysiologie et la réponse thérapeutique d'une maladie humaine [215]. La transposition des résultats à l'homme, ou validité prédictive [120], est d'une importance capitale : il s'agit de la comparaison statistique des paramètres pharmacodynamiques pour démontrer leur fiabilité et leur pertinence. La fiabilité exige la répétabilité (intralaboratoire) et la reproductibilité

(interlaboratoire), et la pertinence se rapporte à la précision (sensibilité et spécificité) du modèle pour prédire la réponse biologique. À cet égard, la validité prédictive peut être testée par l'examen systématique des résultats obtenus chez l'animal et en les comparant aux données de référence humaines. [120]

Selon la même publication (Zuluaga et al), les concepts modernes de pharmacodynamie antimicrobienne ont été transposés à l'homme à partir des expériences séminales de William Craig avec le NMTIM [121]. Récemment, Ambrose et al ont résumé la grande quantité de données obtenues chez les rongeurs et les ont comparées aux résultats obtenus chez l'homme, démontrant que les indices pharmacocinétiques/pharmacodynamiques (PK/PD) et leurs amplitudes pour l'efficacité microbiologique et clinique sont essentiellement les mêmes [122]. Contrairement à la rigueur de cette validation prédictive du NMTIM, le modèle d'endocardite du lapin est limité à l'infection de la valve cardiaque et les experts recommandent une plus grande prudence dans l'extrapolation de ses résultats car il manque à la fois de fiabilité et de pertinence [123,124]. Les principaux inconvénients du modèle d'endocardite du lapin sont les suivants (selon Zuluaga et al):

1. l'inoculum de départ au site d'infection n'est jamais mesuré, alors qu'il est crucial de quantifier les informations critiques de la PD, telles que la croissance bactérienne, l'effet de l'inoculum et les effets postantimicrobiens [121,125];
2. l'absence de courbe dose-réponse empêche la détermination des indices PK/PD nécessaires à la transposition à l'homme [124] ;
3. la faible activité métabolique et la multiplication limitée des micro-organismes modifient la PD de certains antibiotiques [124] ;
4. la variance intrinsèquement importante réduit la puissance statistique pour comparer la réponse à différents composés [126].

Selon les mêmes auteurs colombiens, en ce qui concerne les tests in vivo des génériques, la fiabilité et la pertinence n'ont été démontrées qu'avec le NMTIM, validant son utilisation pour déterminer avec précision l'équivalence thérapeutique ou la non-équivalence. En revanche, le modèle de Tattevin et al ne comporte pas de validation prédictive [14]

Les données obtenues par les chercheurs colombiens sur des modèles animaux pour les produits génériques de vancomycine [8], d'oxacilline [10] et de gentamicine [11] suggèrent que l'équivalence thérapeutique n'est pas toujours prévisible par des critères de substitution tels

que l'équivalence pharmaceutique, l'équivalence pharmacocinétique (c'est-à-dire la bioéquivalence) ou les tests de sensibilité in vitro. De plus, des échecs thérapeutiques ont été largement démontrés pour la vancomycine générique dans une étude de cas [216] et pour la cefuroxime générique dans un essai clinique portant sur l'Incidence des infections postopératoires chez les patients subissant un pontage aorto-coronarien et recevant une prophylaxie antimicrobienne par le céfuroxime princeps et générique [217]. Le fait que tous ces génériques soient autorisés pour une utilisation humaine indique que les tests traditionnels requis par les agences réglementaires pour l'approbation des médicaments génériques n'auraient pas pu détecter ces échecs thérapeutiques.

Les preuves recueillies dans ces études nous montrent que le terme « bioéquivalence » est mal défini par la pharmacocinétique (PK) seule et indiquent que les modèles animaux sont les meilleurs outils pour étudier l'équivalence thérapeutique. Cependant, il est nécessaire de déterminer la reproductibilité des résultats obtenus à partir des modèles animaux à cette fin.

Malgré le fait que l'équivalence thérapeutique n'a jamais été exigée pour les antimicrobiens, cela devient une question cruciale dans les cas où la gravité de l'infection exige une efficacité antimicrobienne optimale plutôt qu'une efficacité minimale. Par conséquent, l'approche expérimentale présentée par les colombiens pourrait être utile pour obtenir des données pertinentes sur les avantages et les problèmes potentiels liés à l'utilisation massive d'antibiotiques génériques.

#### **6. Impact de la non équivalence thérapeutique des génériques d'antibiotique sur la résistance bactérienne :**

La montée de la résistance aux antimicrobiens est une urgence de santé publique qui menace les avancées de la médecine moderne, avec des conséquences potentiellement désastreuses pour l'humanité si elle n'est pas traitée rapidement. L'utilisation généralisée et abusive d'antibiotiques a exercé une pression de sélection énorme sur les micro-organismes, conduisant à l'émergence de la résistance à tous les médicaments antibactériens connus, en particulier chez les bacilles Gram négatif, pour lesquels très peu d'antibiotiques ont été approuvés au cours des dernières décennies [218].

Outre des facteurs tels que la prescription sans indication, les traitements prolongés injustifiés, le dosage inapproprié, le non-respect de la pharmacodynamique, la mauvaise observance et l'abus d'antibiotiques par l'agriculture et l'industrie animale, il y a un facteur clé qui n'a pas été pris en compte : l'utilisation de produits génériques qui ne répondent pas à l'équivalence

**296** Les aspects de la qualité pharmaceutique et pharmacodynamique des génériques d'amoxicilline commercialisés en Algérie par rapport au princeps.

thérapeutique. Néanmoins, ce point est le plus important car la grande majorité des médicaments consommés dans le monde entier est produite par des fabricants de génériques, par exemple près de 100 % en Chine, en Inde et au Brésil ; 70 % à 90 % aux États-Unis, en Allemagne, au Canada et au Royaume-Uni, et 30 % au Japon [219–221].

Selon la même étude les antimicrobiens génériques sont des déterminants clés de la résistance d'autant plus que plusieurs études ont déjà démontré que l'équivalence pharmaceutique, la seule exigence des agences réglementaires pour approuver les antibiotiques intraveineux génériques, est une condition nécessaire mais pas suffisante pour l'équivalence thérapeutique, et que la plupart des produits génériques d'antimicrobiens aussi importants que la vancomycine, l'oxacilline, la gentamicine et le méropénème n'ont pas été thérapeutiquement équivalents dans des modèles animaux validés d'infection humaine. Les études précédentes ont démontré que l'équivalence pharmaceutique et l'équivalence pharmacocinétique des antibiotiques génériques sont des conditions nécessaires mais pas suffisantes pour garantir l'équivalence thérapeutique (mieux appelée équivalence pharmacodynamique). De plus, des preuves scientifiques indiquent un lien direct entre la non-équivalence pharmacodynamique de la vancomycine générique et le développement de la résistance chez *Staphylococcus aureus*. [222]

Dans un article publié en 2016 par cette même équipe colombienne portant sur l'impact de la non équivalence thérapeutique des génériques d'antibiotique sur la résistance bactérienne [222]. Les chercheurs ont étudié un produit générique de pipéracilline-tazobactam caractérisé par une équivalence pharmaceutique et pharmacocinétique mais une mauvaise adaptation du modèle sigmoïde d'Hill Emax qui pourrait être interprété comme une non-équivalence pharmacodynamique. Ils ont évalué l'impact de ce produit générique sur une population mixte d'*Escherichia coli* in vivo composée de 99 % de cellules sensibles (souche ATCC 35218) et d'une sous-population isogénique résistante 1 % qui produit une  $\beta$ -lactamase TEM-1 en excès. Suivant une relation dose-réponse en forme de U inversée, le produit générique a augmenté la sous-population résistante jusqu'à 20 fois par rapport à l'innovateur après seulement 24 heures de traitement dans le modèle d'infection de la cuisse murine neutropénique. Ces résultats soulignent le rôle critique de la non-équivalence thérapeutique des antibiotiques génériques en tant que facteur clé contribuant au problème mondial de la résistance bactérienne.

## **7. Variabilité de la biodisponibilité entre princeps et générique et problématiques liées à l'évaluation des études de bioéquivalence :**

**297** Les aspects de la qualité pharmaceutique et pharmacodynamique des génériques d'amoxicilline commercialisés en Algérie par rapport au princeps.  
Thèse de Doctorat En Sciences Médicales DESM

L'évaluation de la qualité de l'étude de bioéquivalence des génériques d'antibiotiques fait partie intégrante de l'évaluation d'une demande d'AMM.

Lors de cette évaluation les experts doivent notamment prendre en compte :

- le nombre de volontaires
- la qualité de la méthode de dosage du principe actif dans le sang
- les méthodes statistiques utilisées pour les calculs
- le nombre de volontaires
- la qualité de la méthode de dosage du principe actif dans le sang
- les méthodes statistiques utilisées pour les calculs

Cependant les études de bioéquivalence sont rarement publiées sur les revues scientifiques internationales et sont directement déposées aux instances nationales et internationales de régulation et de contrôle de la qualité des produits pharmaceutiques ce qui rend très difficile l'évaluation de toutes ces études par les experts de ces instances.

Ainsi les quelques études publiées sont pour la grande partie de faible qualité et ne répondent pas aux critères scientifiques, cliniques et méthodologiques de conformité.

Dans une revue systématique de la bibliographie menée par des scientifiques de l'INSERM [223], il a été observé que seules 134 études de bioéquivalence ont été publiées entre le début de l'année 2005 et la fin de l'année 2008. Au cours d'une première étape de sélection, ils ont été contraints de rejeter 55 publications (soit 41 %) car il n'était pas possible de déterminer si la molécule de référence utilisée pour la comparaison avec le médicament générique était un princeps ou un autre médicament générique.

L'examen des 79 études a mis en doute la qualité des publications. Sur les 79 études :

- Une seule était enregistrée dans une base de données internationale sur les essais cliniques.
- La bioéquivalence était faite en moyenne sur 24 patients seulement.
- Les méthodes statistiques n'étaient expliquées que dans 34% des publications.
- Dans l'une des études, les auteurs n'ont pas pu prouver la bioéquivalence du médicament générique et ont admis avoir augmenté le nombre de patients en cours d'étude, une méthode scientifiquement interdite.

- Seules 56% des études citent le pays où elles ont été réalisées et la moitié des études ont été réalisées en Asie.
- Des participants déjà malades sont recrutés dans certaines études.
- La randomisation des malades n'est correcte que dans 15% des études et le double aveugle n'est respecté que dans moins de 16% des cas.
- La population analysée n'est pas claire dans un tiers des publications.
- Un tiers des études concluantes ne répondent pas aux critères exigés par la FDA et 17% ne répondent pas aux critères de l'EMA.

Cette analyse met en évidence la très faible qualité des articles rapportant des comparaisons entre des médicaments génériques et des médicaments princeps, qui ne respectent pas les critères scientifiques requis pour valider l'efficacité des médicaments. Les auteurs demandent alors un enregistrement international des études de bioéquivalence, ainsi qu'une amélioration de la qualité des études menées, qui devraient spécifier le produit utilisé comme référence pour l'évaluation du médicament générique, et dont la publication devrait respecter les critères scientifiques actuels. [223]

Les études menées par les différents centres de bioéquivalence à travers le monde et évaluées par les experts des agences nationales et régionales du médicament ont révélé plusieurs écarts importants à tous les niveaux de ces études, ce qui remet en question la qualité et l'efficacité des médicaments génériques testés par ces centres de bioéquivalence :

- Après une inspection menée par l'ANSM en 2014 sur le site clinique indien de GVK Biosciences basé à Hyderabad, qui a révélé des infractions aux Bonnes Pratiques Cliniques (BPC), le CHMP a demandé la suspension de 700 AMM de médicaments génériques à travers l'Europe. Dans ce contexte, un groupe de travail spécifique dédié aux études de bioéquivalence a été créé à l'ANSM en 2014, avec la participation des laboratoires, dans le but de définir un plan d'action national français visant à améliorer la qualité des études de bioéquivalence, en complément du plan d'action européen de l'EMA. [224]
- En février 2016, lors d'une inspection menée par les autorités autrichiennes et néerlandaises dans deux centres indiens (Chennai et Coimbatore) du groupe de recherche Micro Therapeutic Research (MTR) Labs, des manquements aux Bonnes Pratiques Cliniques ont été mis en évidence dans des études de bioéquivalence menées

- entre juin 2012 et juin 2016. Conséquemment, le Comité des médicaments à usage humain (CHMP) et l'Agence européenne des médicaments (EMA) ont recommandé le retrait du marché d'environ une centaine de génériques commercialisés en Europe, dont les études de bioéquivalence ont été réalisées par ces deux centres.
- Par ailleurs, l'Institut fédéral des médicaments et des dispositifs médicaux (BfArM) en Allemagne et le Health Care Inspectorate (IGZ) du Ministère de la santé des Pays-Bas ont effectué une inspection des Bonnes Pratiques Cliniques en mars 2015 sur le site indien d'Alkem Laboratories Limited. Cette inspection a mis en doute la fiabilité des données des études de bioéquivalence menées entre 2013 et 2014 sur le site inspecté, portant sur trois essais de bioéquivalence.

Après avoir examiné plusieurs études de bioéquivalence sur les génériques d'antibiotiques, qui répondent aux critères méthodologiques de la FDA et de l'EMA, nous avons constaté que plusieurs de ces génériques ne sont pas bioéquivalents au princeps et ne respectent donc pas les normes internationales en matière de médicaments génériques. Par exemple, une étude publiée en mars 2017 dans le Journal indien de pharmacologie a conclu que le générique d'amoxicilline en gélules n'était pas bioéquivalent au princeps [225]. De même, une publication du British Journal of Clinical Pharmacology en 2009 a démontré clairement l'absence de bioéquivalence entre le princeps de l'amoxicilline en comprimés de 1g et l'un des quatre génériques commercialisés en Italie. [226]

Une étude brésilienne publiée en 2016 dans le Journal international des agents antimicrobiens a également comparé in vivo et in vitro trois génériques d'amoxicilline avec le princeps, et a révélé que seulement l'un des génériques était bioéquivalent in vivo au princeps, malgré son inactivité in vitro. Les auteurs ont souligné l'importance de combiner les études in vivo et in vitro pour évaluer l'efficacité des génériques d'amoxicilline [184]. En conclusion, les auteurs ont soulevé l'importance de la complémentarité entre les études in vivo et les études in vitro dans le but d'évaluer l'efficacité des génériques de l'amoxicilline.

# Conclusion

## Conclusion

L'utilisation massive de génériques d'antibiotiques à travers le monde soulève de nombreuses questions quant à leur qualité pharmaceutique et leur efficacité thérapeutique. En Algérie, cette problématique est d'autant plus préoccupante étant donné l'absence de données fiables sur la qualité pharmaceutique et pharmacodynamique des génériques d'amoxicilline, l'un des antibiotiques les plus prescrits. C'est pour répondre à cette problématique que cette thèse a été entreprise, dans le but d'évaluer la qualité pharmaceutique et pharmacodynamique de cinq génériques d'amoxicilline fabriqués et commercialisés en Algérie (GA1, GA2, GA3, GA4, et GA5) et de les comparer au princeps fabriqué localement (A) ainsi qu'à sa version française (F).

Les résultats de notre étude comparative des génériques d'amoxicilline sur les propriétés organoleptiques telles que la couleur, la forme et la texture, ainsi que les propriétés pharmacotechniques telles que l'uniformité de masse, la désagrégation et la dissolution, les propriétés chimiques telles que l'identification et le dosage du principe actif, et enfin les profils d'impuretés de ces génériques ont tous été conformes aux normes des pharmacopées en vigueur. De plus, toutes les propriétés citées ci-dessus ont également été comparables à ceux du princeps. Ces résultats indiquent que ces génériques ont des caractéristiques physicochimiques similaires à celles du princeps, ce qui suggère une équivalence pharmaceutique potentiellement satisfaisante.

Notre étude comparative des bioéquivalences *in vitro*, qui se base sur les cinétiques de dissolution des différents génériques par rapport au princeps, a permis de constater que quatre des cinq génériques algériens testés (GA1, GA3, GA4 et GA5) sont bio-équivalents *in vitro*, tandis qu'un seul générique, GA2, ne l'est pas.

Les résultats de notre étude de stabilité ont montré que les génériques GA2 et GA5 présentent une stabilité satisfaisante dans des conditions normales de stockage, mais une instabilité sous des conditions accélérées à température et humidité élevées, soulignant ainsi la nécessité d'une vérification des conditions de stockage, de la formulation et de la qualité de la matière première. En revanche, les génériques GA1 et GA4, ainsi que le médicament de référence Clamoxyl, ont présenté une stabilité satisfaisante dans les deux types d'études. Toutefois, le générique GA3 a montré une instabilité dans les deux types d'études de stabilité, nécessitant donc une évaluation plus approfondie de ses propriétés de stabilité. En effectuant une comparaison de la stabilité des

cinq génériques par rapport au princeps, il a été observé que les génériques GA4 et GA2 étaient plus stables que le princeps dans des conditions de stabilité réelles, tandis que GA1, GA3 et GA5 étaient moins stables que le princeps dans les mêmes conditions. En revanche, en conditions accélérées, GA1 et GA4 se sont révélés plus stables que le princeps, tandis que GA2, GA3 et GA5 étaient moins stables que lui. En outre, le générique GA4 a démontré une plus grande stabilité que le « Clamoxyl » dans les deux types d'études de stabilité, ce qui suggère que ce générique peut être interchangeable avec le princeps.

Les résultats ont montré que GA1 et GA4 étaient stables et bioéquivalents à Clamoxyl in vitro, tandis que GA2 et GA5 étaient stables en conditions réelles mais pas en conditions accélérées. GA5 était bioéquivalent à Clamoxyl in vitro, alors que GA2 ne l'était pas. Le GA3 générique n'était stable dans aucune des conditions de stabilité, mais était bioéquivalent à Clamoxyl in vitro. Ces résultats soulignent l'importance d'évaluer la qualité des médicaments en utilisant une approche complète qui prend en compte plusieurs facteurs, et mettent en évidence la nécessité d'une évaluation minutieuse de l'interchangeabilité des génériques d'antibiotiques.

Les tests de contrôle microbiologique menés conformément à la pharmacopée européenne ont permis de conclure que les princeps français et algérien, ainsi que les génériques GA2, GA4 et GA5, sont conformes aux normes de qualité microbiologique. En revanche, les génériques GA1 et GA3 ont été considérés non conformes en raison de la présence de contaminations détectées lors du dénombrement et de la recherche de levures et moisissures.

Notre étude a comparé l'activité antibactérienne in vitro des cinq génériques d'amoxicilline par rapport aux deux princeps. Pour *Staphylococcus aureus*, le générique GA4 était le plus actif, suivi de GA2, Clamoxyl F, Clamoxyl A, GA1, GA3 et GA5. Pour *Escherichia coli*, Clamoxyl F était le plus efficace, suivi de GA3, GA5, GA4, GA2, Clamoxyl A et GA1. Pour *Pseudomonas aeruginosa*, Clamoxyl A, GA3 et GA5 étaient les plus efficaces. Pour *Salmonella*, Clamoxyl F était le plus efficace, suivi de GA3, GA5, Clamoxyl A, GA4, GA2 et GA1. Pour *Clostridium sporogenes*, Clamoxyl français était le plus efficace, suivi de GA1, Clamoxyl A, GA3, GA5, GA2 et GA4. En général, le Clamoxyl F était le plus actif, suivi de Clamoxyl A, et le GA1 avait l'activité antibactérienne la plus faible. Les résultats montrent que l'efficacité varie selon les souches bactériennes.

Notre étude a conclu que Clamoxyl F était le plus efficace en termes d'activité antibactérienne in vitro, et que sa dissolution était très rapide, ce qui peut expliquer son efficacité prouvée. Le Clamoxyl A a également montré une efficacité démontrée et une dissolution très rapide. Le générique GA1 était stable dans des conditions réelles et accélérées, mais n'a pas augmenté l'efficacité in vitro de manière significative. Le GA2 était efficace mais sa dissolution était ralentie en raison de son instabilité dans les conditions accélérées. Le GA3 était efficace malgré son instabilité dans les études de stabilité. Le GA4 était stable et fort probablement interchangeable avec le Princeps. Enfin, le GA5 était bioéquivalent au Clamoxyl in vitro, mais était instable dans les conditions accélérées en raison d'un possible problème de formulation galénique.

Notre étude montre que l'efficacité des antibiotiques génériques peut varier en fonction du type de souche bactérienne et de leur cinétique de dissolution. Si un antibiotique générique ne répond pas à l'équivalence thérapeutique avec le médicament de référence, cela signifie qu'il peut être moins efficace ou même inefficace dans le traitement de certaines infections bactériennes. Par conséquent, l'utilisation d'antibiotiques génériques qui ne répondent pas à l'équivalence thérapeutique peut entraîner des risques pour la santé des patients, tels que des échecs thérapeutiques, une augmentation de la durée de la maladie, une aggravation des symptômes et une résistance accrue des bactéries aux antibiotiques. Il est donc important que les génériques soient rigoureusement testés pour garantir leur efficacité et leur équivalence thérapeutique avec le médicament de référence. Les professionnels de santé doivent également être conscients des risques potentiels liés à l'utilisation d'antibiotiques génériques non équivalents et prendre des mesures pour minimiser ces risques, telles que la surveillance de la réponse du patient au traitement et la prise en compte des résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques.

D'après notre étude, il est apparu que l'équivalence pharmaceutique de quelques génériques de l'amoxicilline ne garantit pas leur équivalence pharmacodynamique in vitro. Ainsi, nous préconisons de renforcer les critères d'enregistrement des génériques d'antibiotiques en exigeant des preuves expérimentales solides ainsi qu'un test d'activité antibactérienne in vitro avant leur approbation pour l'usage humain.

**Recommandations et perspectives**

**Recommandations et perspectives :**

À la lumière des résultats de cette étude, nous avons formulé un ensemble de recommandations et de perspectives spécifiquement adaptées au contexte pharmaceutique algérien. Ces recommandations visent à garantir la qualité des génériques d'antibiotiques et à renforcer la confiance des professionnels de la santé et des patients dans leur utilisation.

A travers ces recommandations, nous avons mis l'accent sur les aspects réglementaires, le contrôle de la qualité et la fabrication, la stabilité et les conditions de stockage, la qualité microbiologique, l'équivalence thérapeutique et l'efficacité, ainsi que la surveillance, la recherche continue et les publications des résultats des recherches dans des revues crédibles et indexées :

**1. Considérations réglementaires :**

- ✓ Renforcer les critères d'évaluation et d'enregistrement des génériques d'antibiotiques en exigeant des preuves analytiques solides, ainsi qu'un test d'activité antibactérienne in vitro, avant leur approbation pour l'usage humain.
- ✓ Mettre en place des directives claires pour les fabricants de génériques d'antibiotiques afin de garantir la conformité aux normes de qualité pharmaceutique et de sécurité en tenant compte des facteurs tels que la bioéquivalence, la stabilité et les propriétés pharmacodynamiques.
- ✓ Mettre en place un programme de surveillance post-commercialisation systématique pour surveiller la qualité et l'efficacité des génériques d'antibiotiques approuvés et commercialisés, comprenant des inspections inopinées des sites de production et des laboratoires de contrôle qualité, ainsi que des prélèvements réguliers et des tests des produits commercialisés.

**2. Contrôle qualité et fabrication :**

- ✓ Encourager les fabricants pharmaceutiques à adopter des mesures robustes de contrôle qualité, notamment une sélection rigoureuse des matières premières, une validation des procédés et le respect des bonnes pratiques de fabrication (BPF).

- ✓ Encourager les fabricants à investir dans des techniques analytiques avancées, telles que la spectrométrie de masse (SM), pour évaluer avec précision la composition, la pureté et la stabilité des génériques d'amoxicilline.
- ✓ Renforcer les inspections des installations de fabrication pour s'assurer de l'application stricte des bonnes pratiques de fabrication et de la conformité aux normes de qualité.

### 3. Stabilité et conditions de stockage :

- ✓ Réaliser des études approfondies sur la stabilité des génériques d'antibiotiques après commercialisation, dans différentes conditions de stockage, y compris des tests de stabilité à long terme et accélérée, afin d'identifier d'éventuels problèmes de dégradation ou d'instabilité.
- ✓ Renforcement des inspections des chambres climatiques de stabilité des différents fabricants et vérification du bon déroulement des études de stabilité.
- ✓ Évaluer l'impact des matériaux d'emballage, de la température de stockage et de l'humidité sur la stabilité des génériques d'antibiotiques et fournir des recommandations spécifiques pour un stockage et une manipulation adéquats.
- ✓ Inciter les fabricants pour optimiser la formulation des génériques d'antibiotiques afin d'améliorer leur stabilité et leur durée de conservation.

### 4. Qualité microbiologique :

- ✓ Renforcer les tests de contrôle microbiologique conformément aux normes de la pharmacopée, en mettant l'accent sur la détection des contaminations microbiennes, telles que les levures et les moisissures, dans les génériques d'antibiotiques.
- ✓ Établir des protocoles stricts de tests microbiologiques pour les génériques d'antibiotiques, y compris des tests sur les limites microbiennes, la stérilité et la teneur en endotoxines (pour les produits injectables), afin de garantir leur conformité aux normes de qualité microbiologique.

**5. Équivalence thérapeutique et efficacité :**

- ✓ Réaliser en cas de besoin des études pharmacocinétiques comparatives entre les génériques d'antibiotiques et le produit de référence afin d'évaluer leur bioéquivalence en termes d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion du médicament.
- ✓ Effectuer des essais in vivo pour évaluer l'équivalence thérapeutique et l'efficacité des génériques d'antibiotiques dans le traitement des infections bactériennes courantes, en tenant compte des facteurs tels que les taux de réponse clinique, les événements indésirables et les résultats du traitement.
- ✓ Collaborer avec les professionnels de la santé et les pharmaciens pour élaborer des lignes directrices ou des recommandations sur l'interchangeabilité appropriée des génériques d'antibiotiques, en mettant l'accent sur la nécessité d'une surveillance attentive de la réponse du patient et des résultats thérapeutiques.

**6. Surveillance et recherche continues :**

- ✓ Mettre en place un système de surveillance à long terme pour suivre la qualité, la sécurité et l'efficacité des génériques d'antibiotiques dans des environnements cliniques réels, en collectant des données sur les résultats du traitement, les événements indésirables et les schémas de résistance.
- ✓ Favoriser les collaborations entre la sphère universitaire, l'industrie pharmaceutique et les organismes de réglementation pour encourager la recherche et le développement continus de génériques d'antibiotiques de haute qualité, notamment des études sur de nouvelles formulations, des thérapies combinées et des formes posologiques.
- ✓ Encourager la publication des résultats de recherche et le partage des données pour contribuer à la base de connaissances mondiale sur les différents génériques d'antibiotiques et faciliter les collaborations internationales pour des études comparatives.

La mise en œuvre de ces recommandations et perspectives contribuera à garantir la qualité, la sécurité et l'efficacité des génériques d'antibiotiques fabriqués en Algérie et renforcera la confiance des professionnels de la santé et des patients dans leur utilisation.



**Références  
bibliographiques**

### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

1. Tattevin P, Crémieux A-C, Rabaud C, Gauzit R. Efficacy and quality of antibacterial generic products approved for human use: a systematic review. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2014;58:458-69.
2. Babar Z-U-D, Stewart J, Reddy S, Alzaher W, Vareed P, Yacoub N, et al. An evaluation of consumers' knowledge, perceptions and attitudes regarding generic medicines in Auckland. *Pharm World Sci PWS*. 2010;32:440-8.
3. Faasse K, Cundy T, Gamble G, Petrie KJ. The effect of an apparent change to a branded or generic medication on drug effectiveness and side effects. *Psychosom Med*. 2013;75:90-6.
4. Colgan S, Faasse K, Martin LR, Stephens MH, Grey A, Petrie KJ. Perceptions of generic medication in the general population, doctors and pharmacists: a systematic review. *BMJ Open*. 2015;5:e008915.
5. Rapport adopté par le Conseil de l'Académie nationale de Pharmacie (24 octobre 2012). Rapport de l'Académie nationale de Pharmacie « Médicaments génériques ». 2012.
6. Berg MJ, Gross RA, Tomaszewski KJ, Zingaro WM, Haskins LS. Generic substitution in the treatment of epilepsy: case evidence of breakthrough seizures. *Neurology*. 2008;71:525-30.
7. Clinical equivalence of generic and brand-name drugs used in cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis - PubMed [Internet]. [cité 8 mai 2023]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19050195/>
8. Vesga O, Agudelo M, Salazar BE, Rodriguez CA, Zuluaga AF. Generic vancomycin products fail in vivo despite being pharmaceutical equivalents of the innovator. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:3271-9.
9. Rodriguez CA, Agudelo M, Zuluaga AF, Vesga O. Generic Vancomycin Enriches Resistant Subpopulations of *Staphylococcus aureus* after Exposure in a Neutropenic Mouse Thigh Infection Model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:243-7.
10. Rodriguez CA, Agudelo M, Zuluaga AF, Vesga O. In vitro and in vivo comparison of the anti-staphylococcal efficacy of generic products and the innovator of oxacillin. *BMC Infect Dis*. 2010;10:153.

## Références bibliographiques

---

11. Zuluaga AF, Agudelo M, Cardeño JJ, Rodriguez CA, Vesga O. Determination of therapeutic equivalence of generic products of gentamicin in the neutropenic mouse thigh infection model. *PLoS One*. 2010;5:e10744.
12. Zuluaga AF, Agudelo M, Rodriguez CA, Vesga O. Application of microbiological assay to determine pharmaceutical equivalence of generic intravenous antibiotics. *BMC Clin Pharmacol*. 2009;9:1.
13. Zuluaga AF, Rodriguez CA, Agudelo M, Vesga O. Pharmacodynamics of nine generic products of amikacin compared with the innovator in the neutropenic mouse thigh infection model. *BMC Res Notes*. 2015;8:546.
14. Zuluaga AF, Rodriguez CA, Agudelo M, Vesga O. About the Validation of Animal Models to Study the Pharmacodynamics of Generic Antimicrobials. *Clin Infect Dis*. 2014;59:459-61.
15. ANSM. Etat des lieux sur la substance active amoxicilline. 2016;18.
16. Joël Ankri. adsp n° 27 - Médicament et santé publique [Internet]. 1999 [cité 8 août 2021]. Disponible sur: <https://www.hcsp.fr/Explore.cgi/adsp?ae=adsp&clef=49&menu=111282>
17. Sharland M, Pulcini C, Harbarth S, Zeng M, Gandra S, Mathur S, et al. Classifying antibiotics in the WHO Essential Medicines List for optimal use—be AWaRe. *Lancet Infect Dis*. 2018;18:18-20.
18. Wu Q, Chen C-X, Du L-L, Lin X-F. Enzymatic synthesis of amoxicillin via a one-pot enzymatic hydrolysis and condensation cascade process in the presence of organic co-solvents. *Appl Biochem Biotechnol*. 2010;160:2026-35.
19. ANSM. Résumé des Caractéristiques du Produit [Internet]. 2016 mai. Disponible sur: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0279419.htm>
20. ANSM. Résumé des caractéristiques du produit - AMOXICILLINE MYLAN PHARMA 500 mg/5 ml, poudre pour suspension buvable - Base de données publique des médicaments [Internet]. 2020 [cité 10 août 2021]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=67131754&typedoc=R>
21. Esahti.dz. PharmNet, Encyclopédie des médicaments en Algérie | Propriété Sarl ESAHTI [Internet]. [cité 3 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.pharmnet-dz.com/>
22. M. Lindsay Grayson, Sara Cosgrove, Suzanne Crowe, William Hope,, et al. *Kucers' The Use of Antibiotics | A Clinical Review of Antibacterial, A*. 7e édition. eBook; 2017.

## Références bibliographiques

---

23. ANSM. Résumé des Caractéristiques du Produit [Internet]. 2016 mai. Disponible sur: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0279419.htm>
24. Hilal-Dandan, Randa, et al. Goodman and Gilman's manual of pharmacology and therapeutics. 2nd ed, McGraw-Hill. Randa Hilal-Dandan, Laurence L. Brunton; 2014.
25. ANSM. Etat des lieux sur la substance active amoxicilline. 2016;18.
26. Fantin B. Diffusion sérique et respiratoire des antibiotiques. Analyse critique des paramètres prédictifs d'efficacité clinique. Médecine Mal Infect. 2006;36:599-613.
27. Thorburn CE, Knott SJ, Edwards DI. In Vitro Activities of Oral  $\beta$ -Lactams at Concentrations Achieved in Humans against Penicillin-Susceptible and -Resistant Pneumococci and Potential to Select Resistance. Antimicrob Agents Chemother. 1998;42:1973-9.
28. CRAT. Amoxicilline - Grossesse et allaitement. Centre de Référence sur les Agents Tératogènes; 2020.
29. Jacinthe Leclerc, Claudia Blais, , Line Guénette. Médicaments génériques et médicaments originaux. PHARMACOVIGILANCE. 2016;13 / n° 5.
30. Médicaments princeps - ANSM [Internet]. [cité 3 avr 2023]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/qui-sommes-nous/notre-perimetre/les-medicaments/p/medicaments-princeps>
31. PROUCHANDY C. Les médicaments génériques et biosimilaires. UNIVERSITÉ DE PICARDIE JULES VERNE; 2018.
32. Yves JUILLET, Alain ASTIER, Jérôme BARRÉ, et al. Médicaments génériques. Académie nationale de Pharmacie; 2012.
33. JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE. 2018.
34. WHO EMRO. Qualité et innocuité | Politiques en matière de médicaments essentiels et de produits pharmaceutiques [Internet]. World Health Organ. - Reg. Off. East. Mediterr. 2023. Disponible sur: <http://www.emro.who.int/fr/essential-medicines/strategy-quality-safety/>
35. ISO 8402:1994. Management de la qualité et assurance de la qualité — Vocabulaire [Internet]. ISO. Disponible sur: <https://www.iso.org/fr/standard/20115.html>
36. ISO 9000:2015. Systèmes de management de la qualité — Principes essentiels et vocabulaire [Internet]. NORME INTERNATIONALE. ISO 9000; 2015. Disponible sur: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9000:ed-4:v2:fr>

## Références bibliographiques

---

37. ANSM. L'évaluation des médicaments génériques -. ANSM Agence Natl Sécurité Médicam Prod Santé. 2017;

38. Comité de rédaction. Contrôle de la qualité des médicaments génériques essentiels : une contribution technique des Entreprises du Médicament aux besoins des Pays Francophones d'Afrique. Les entreprises du médicaments. Genève; 2006.

39. Gombert C. La maîtrise de la qualité au sein d'un laboratoire pharmaceutique exploitant : Application de ce système qualité au sein d'un laboratoire de médicaments génériques [other]. Université de Lorraine; 2012.

40. Issiaka C. Étude de la qualité des médicaments génériques DCI achetés par la Pharmacie Populaire du Mali dans le cadre des appels d'offres de 2002 à 2005. FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE. UNIVERSITÉ DE BAMAKO; 2007.

41. Yvon Pesqueux. Définition de la notion de qualité, chronologie et fondements de la gestion de la qualité. Master. France. HAL; 2020.

42. ANSM. Des médicaments contrôlés [Internet]. Ministère Santé Prév. 2016 [cité 1 mai 2023]. Disponible sur: <https://sante.gouv.fr/soins-et-maladies/medicaments/professionnels-de-sante/medicaments-generiques-a-l-usage-des-professionnels/article/des-medicaments-controles>

43. Marie-Lauren Antoine. Développement, enregistrement, suivi et maintien des autorisations de mise sur le marché (AMM) des médicaments à usage humain au sein de l'Union Européenne. Sci Pharm. 2019;

44. Ministère de l'Industrie Pharmaceutique [Internet]. Ministère Ind. Pharm. 2023. Disponible sur: <https://www.miph.gov.dz/fr/>

45. OMS. AUTORISATION DE MISE SUR LE MARCHE DES MEDICAMENTS A USAGE HUMAIN NOTAMMENT D'ORIGINE MULTISOURCE (GENERIQUES).: MANUEL A L'USAGE DES AUTORITES DE REGLEMENTATION PHARMACEUTIQUE. Organ Mond Santé Genève. 2008;Série Réglementation Pharmaceutique, No. 13.

46. Laure Lechertier, Dorothée Camus, Laurent Piccinini. Rapport 2012 sur les médicaments génériques: 10 propositions pour restaurer la confiance. Les études de la Mutualité Française; 2012.

47. ANSM. L'inspection du médicament gnérique [Internet]. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé; 2017. Disponible sur: [https://archiveansm.integra.fr/Dossiers/Medicaments-generiques/L-inspection/\(offset\)/3](https://archiveansm.integra.fr/Dossiers/Medicaments-generiques/L-inspection/(offset)/3)

## Références bibliographiques

---

48. F. Koissi. Contrôle de qualité des comprimés non enrobés cas d'un générique et d'un princeps de doxycycline. Thèse doctorat, Université MOHAMMED V, Rabat; 2008.
49. Rayene ZIDI. Contrôle de qualité des comprimés de COPARALGAN® et de CODOLIPRANE® (400mg/ 20 mg). Faculté des Sciences de l'Ingénierat. Génie des Procédés Pharmaceutique. ANNABA; 2018.
50. Direction européenne de la qualité du médicament et soins de santé - EDQM [Internet]. Disponible sur: <https://www.edqm.eu/en/>
51. Sandrine Olsson. Séabilité des comprimés et impact sur l'uniformité de masse. Faculté des sciences de L'Université de Genève; 2013.
52. European Pharmacopoeia 10th Edition. Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé (DEQM); 2020.
53. US Pharmacopeia (USP) [Internet]. [cité 5 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.usp.org/>
54. OMS. Bonnes pratiques de fabrication de l'OMS des produits pharmaceutiques: Grands principes [Internet]. Organisation mondiale de la santé; 2014. Disponible sur: <https://www.who.int/publications/m/item/bonnes-pratiques-de-fabrication-pour-les-substances-actives-pharmaceutiques>
55. Moustapha Amine Adam, Thècle AHOUANDJINOUE. Contrôle analytique de deux médicaments amoxicilline et ibuprofène du marché tchadien: identification et quantification des impuretés. Faculté des Sciences et de la Technologie Département de Technologie. Université de DJILALI BOUNAAMA DE KHEMIS MILIANA; 2015.
56. KORSO Asma. Contrôle qualité physico-chimique et microbiologique du médicament Clamoxyl 1g. Département de Technologie chimie industrielle. UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ-BOUIRA; 2018.
57. l'Europe C de. Pharmacopée européenne 6ème Édition. Conseil de l'Europe; 2007.
58. Alain Le Hir. Pharmacie galénique. 10E ÉDITION. Elsevier-masson Abreges De Pharmacie; 2016.
59. MESRANE Hafida, TERRAI Oumnia. Production et Contrôle qualité d'une forme sèche. UNIVERSITÉ DES FRÈRES MENTOURI CONSTANTINE 1 FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE; 2019.

## Références bibliographiques

---

60. Chellakh Ahlem. Formulation et détermination de qualité d'un produit pharmaceutique par une méthode d'analyse. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF- M'SILA.; 2018.
61. ANDRIAMIHAJANIAINA Anna Michel. ETUDE COMPARATIVE DES GENERIQUES D'AMOXICILLINE 500MG; FORME GELULE VENDUS A ANTANANARIVO. UNIVERSITE D'ANTANANARIVO. FACULTE DE MEDECINE; 2015.
62. Medicines and Healthcare products Regulatory Agency. British Pharmacopoeia [Internet]. 2018 [cité 10 mars 2023]. Disponible sur: <https://www.pharmacopoeia.com/>
63. Edouard PONT. CONTROLE DES IMPURETES DANS LES SUBSTANCES POUR USAGE PHARMACEUTIQUE SELON LA PHARMACOPEE EUROPEENNE : EVOLUTION DES CONNAISSANCES ET DES METHODES ANALYTIQUES DE CONTROLE. UNIVERSITE DE LIMOGES. FACULTE DE PHARMACIE; 2011.
64. ICH. ICH Q6A Guideline . Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products. European Medicines Agency.CPMP/ICH/367/96; 2000.
65. Bellur Atici E, Yazar Y, Ağtaş Ç, Ridvanoğlu N, Karlığa B. Development and validation of stability indicating HPLC methods for related substances and assay analyses of amoxicillin and potassium clavulanate mixtures. J Pharm Biomed Anal. 2017;136:1-9.
66. Canada S. Ligne directrice à l'intention de l'industrie : Essais de stabilité de nouveaux produits et substances médicamenteux : ICH thème Q1A(R2) [Internet]. 2002 [cité 6 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/medicaments-produits-sante/medicaments/demandes-presentations/lignes-directrices/international-conference-harmonisation/qualite/intention-industrie-essais-stabilite-nouveaux-produits-substances-medicamenteux-theme.html>
67. ICH. EVALUATION FOR STABILITY DATA : Q1E. ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE. Current Step 4 version; 2003.
68. Antoine SCODELLARO. REVUE DU PROCESSUS DES ETUDES DE STABILITE DANS L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE : DE LA REGLEMENTATION A LA REALISATION ET JUSQU'A L'EXPLOITATION DES TENDANCES OBSERVEES. UNIVERSITE DE ROUEN . U.F.R. DE MEDECINE ET DE PHARMACIE; 2013.
69. ABOU Soumia. Etude de Stabilité et Contrôle Qualité sur « Augmentin PPSB 60 ml ». Université Abderrahmane Mira de Béjaia. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département de Biologie Physico-chimique; 2016.

## Références bibliographiques

---

70. LEKNOUCHE Nabila, KAAD Hadjer. Etude de stabilité d'un produit fini dans les conditions accélérées et réelles. Université Frères Mentouri Constantine 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département de Biologie Appliquée; 2017.
71. Camille Merienne. Mesure, caractérisation et prédiction de la stabilité des médicaments. Sciences pharmaceutiques. Université de Lyon. HAL; 2020.
72. Atoui Sonia, Midouna Ibtissem. Contrôle microbiologique et physico-chimique d'une formule sèche d'un antibiotique. Université A.Mira-Bejaia. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie .Département de Microbiologie; 2017.
73. EDQM. 11e Édition de la Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.) [Internet]. Dir. Eur. Qual. Médicam. Soins Santé. [cité 11 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.edqm.eu/en/>
74. Audrey GIERDEN. ADMINISTRATION PAR VOIE ORALE DES COMPOSES BCS CLASSE II : REPONSES GALENIQUES AU PROBLEME DE LA FAIBLE SOLUBILITE AQUEUSE. UNIVERSITE DE LORRAINE. FACULTE DE PHARMACIE; 2016.
75. ICH Expert Working Group. ICH HARMONISED GUIDELINE. BIOPHARMACEUTICS CLASSIFICATION SYSTEM-BASED BIOWAIVERS: M9. INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE; 2019.
76. M'RABET Imane. ETUDE COMPARATIVE DU PROFIL DE DISSOLUTION DU MEDICAMENT PRINCEPS ET GENERIQUE SELON LES DIFFERENTES CLASSES (BCS). Master Sciences et Techniques : CMBA. Chimie des Molécules Bio Actives; 2010.
77. Sasmit Nagappa Mali, Dr. Kailas Madhukar Karand. A REVIEW ON: BIOPHARMACEUTICS CLASSIFICATION SYSTEM. Int J Creat Res Thoughts IJCRT. 2021;Volume 9.
78. BERRAH Kahina, CHABANE Lydia, BOUGRINE Yamina, BENMOUHOUB Chahinez. COMPARAISON DES PROFILS DE DISSOLUTION ENTRE LE PARACÉTAMOL « PRINCEPS » ET SES GÉNÉRIQUES EN ALGÉRIE. Université de Mouloud Mammeri. Faculté de Médecine de Tizi ouzou.; 2019.
79. Gigante V, Pauletti GM, Kopp S, Xu M, Gonzalez-Alvarez I, Merino V, et al. Global testing of a consensus solubility assessment to enhance robustness of the WHO biopharmaceutical classification system. Admet Dmpk. 2021;9:23-39.
80. ICH. M9: Biopharmaceutics Classification System-based Biowaivers. INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE; 2016.

## Références bibliographiques

---

81. Kumar S, Kaur R, Rajput R, Singh M. Bio Pharmaceutics Classification System (BCS) Class IV Drug Nanoparticles: Quantum Leap to Improve Their Therapeutic Index. *Adv Pharm Bull.* 2018;8:617-25.
82. Peeush Singhal, Ritu Vishnoi Singhal, Vijay Jyoti Kumar, Anurag Verma, et al. THE BIOPHARMACEUTICS CLASSIFICATION SYSTEM (BCS):: REVIEW. *WORLD J Pharm Pharm Sci.* 2018;Vol 7.
83. Thambavita D, Galappatthy P, Mannapperuma U, Jayakody L, Cristofolletti R, Abrahamsson B, et al. Biowaiver Monograph for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms: Amoxicillin Trihydrate. *J Pharm Sci [Internet].* 2017 [cité 8 avr 2023];106:2930-45. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022354917303398>
84. WHO. WHO "Biowaiver List": proposal to waive in vivo bioequivalence requirements for WHO Model List of Essential Medicines immediate-release, solid oral dosage forms. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations; 2019.
85. C. ABELLI, O. ANDRIOLLO, L. MACHURON, J.Y. VIDEAU, B. VENNAT, M.P. POUGET. EQUIVALENCE PHARMACEUTIQUE DES MÉDICAMENTS ESSENTIELS GÉNÉRIQUES. *STP PHARMA Prat.* 2001;
86. HANEN GOZZI, ZOUHEIR SAHNOUN, SERRIA HAMMAMI, et al. LES ESSAIS DE BIOEQUIVALENCE : CONCEPTS ET PARAMETRES D'ÉVALUATION. J.I. M. Sfax; 2019.
87. Chen M-L, Shah V, Patnaik R, Adams W, Hussain A, Conner D, et al. Bioavailability and Bioequivalence: An FDA Regulatory Overview. *Pharm Res.* 2001;18:1645-50.
88. Lu Y, Chow S-C, Zhu S. In vivo and in vitro bioequivalence testing. Unpaywall 20201031 [Internet]. 2014 [cité 9 mai 2023]; Disponible sur: <https://scholarbank.nus.edu.sg/handle/10635/180762>
89. COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR HUMAN USE, (CHMP). GUIDELINE ON THE INVESTIGATION OF BIOEQUIVALENCE. European Medicines Agency. EMEA; 2010.
90. KASDI Sarah, METREF Yasmina. Application de la monographie USP pour l'étude de cinétique de dissolution comparative entre le princeps et plusieurs générique à base d'Aspirine en comprimé à libération immédiate. UNIVERSITE MOULOUE MAMMERI TIZI-OUZOU. FACUKTE DES SCIENCES . DEPARTEMENT DE CHIMIE; 2014.
91. Barbara M Davit, Patrick E Nwakama, Gary J Buehler, Dale P Conner, Sam H Haidar, et al. Comparing Generic and Innovator Drugs: A Review of 12 Years of Bioequivalence Data from the United States Food and Drug Administration. *Ann Pharmacother* ■ [Internet]. 2009 [cité 5

## Références bibliographiques

---

mai 2023];43. Disponible sur: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1345/aph.1M141?journalCode=aopd>

92. ANSM. Qu'est-ce que la biodisponibilité et la bioéquivalence ? ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé; 2016.

93. Sameh BEN TKHAYAT, Jihène KHLI, Hanene MARSIT, et al. GUIDE RELATIF A LA BIOEQUIVALENCE DES MEDICAMENTS A USAGE HUMAIN. République Tunisienne .Ministère de la Santé. Direction de la Pharmacie et du Médicament; 2018.

94. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Multisource (generic) pharmaceutical products: guidelines on registration requirements to establish interchangeability. WHO Technical Report Serie; 2017.

95. John Gordon. Bioequivalence - General Considerations. 8th Annual Prequalification Team - Medicines Quality Assessment Training. OMS; 2016.

96. Liu S-CC Jen-peï. Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies. 3<sup>e</sup> éd. New York: Chapman and Hall/CRC; 2008.

97. r Antoine Sawaya. Les médicaments génériques : des médicaments à part entière. ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé; 2012.

98. GHRITLI Ferial, HERAOUI Lila, TAMBA Imene. Etat des lieux sur les études de bioéquivalence en Algérie. Université Saad Dahleb Blida. Faculté de Médecine - Département de Pharmacie; 2018.

99. Mansouri Dahbia. ETUDE COMPARATIVE DU TEST DE DISSOLUTION ENTRE DEUX PRODUITS GENERIQUE ET PRINCEPS A BASE DE PREDNISOLONE PRESENTES SOUS DES COMPRIMES ORODISPERSIBLES. FACULTÉ DES SCIENCES. DÉPARTEMENT DE CHIMIE; 2012.

100. ZOUNGRANA Wendpouire. Évaluation in vitro de la bioéquivalence des différentes marques d'amoxicilline gélules commercialisées au Burkina Faso [Thèse]. [BURKINA FASO]: UNIVERSITE JOSEPH KI-ZERBO; 2021.

101. Research C for DE and. Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms [Internet]. US Food Drug Adm. FDA; 2019 [cité 10 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/dissolution-testing-immediate-release-solid-oral-dosage-forms>

102. Jennifer J, Dressman, Johannes Kramer. Pharmaceutical Dissolution Testing | Jennifer J. Dressman, Johannes Kr [Internet]. 1st Edition. Boca Raton; 2005 [cité 10 mai 2023]. Disponible

## Références bibliographiques

---

sur: <https://www.taylorfrancis.com/books/edit/10.1201/9780849359170/pharmaceutical-dissolution-testing-jennifer-dressman-johannes-kramer>

103. RIDOUAN KHADIJA. APPLICATION DE CERTAINES APPROCHES STATISTIQUES AU TRANSFERT DE LA CINETIQUE DE DISSOLUTION cas du diclofénac sodique - PDF Téléchargement Gratuit [Internet]. UNIVERSITE MOHAMMED V FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE. RABAT; 2010 [cité 10 mai 2023]. Disponible sur: <https://docplayer.fr/13284359-Application-de-certaines-approches-statistiques-au-transfert-de-la-cinetique-de-dissolution-cas-du-diclofenac-sodique.html>

104. Reddy NHS, Patnala S, Löbenberg R, Kanfer I. In vitro dissolution of generic immediate-release solid oral dosage forms containing BCS class I drugs: comparative assessment of metronidazole, zidovudine, and amoxicillin versus relevant comparator pharmaceutical products in South Africa and India. *AAPS PharmSciTech*. 2014;15:1076-86.

105. Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for Industry: Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms; [Internet]. US Food and Drug Administration: Silver Spring, MD, USA; 1997. Disponible sur: <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm070237.pdf>

106. Shah VP, Tsong Y, Sathe P, Liu JP. In vitro dissolution profile comparison--statistics and analysis of the similarity factor,  $f_2$ . *Pharm Res*. 1998;15:889-96.

107. Stuart AV, Zuo J, Löbenberg R. Investigating the Dissolution Profiles of Amoxicillin, Metronidazole, and Zidovudine Formulations used in Trinidad and Tobago, West Indies. *AAPS PharmSciTech*. 2014;15:1060-9.

108. Tsume Y, Amidon GL. The biowaiver extension for BCS class III drugs: the effect of dissolution rate on the bioequivalence of BCS class III immediate-release drugs predicted by computer simulation. *Mol Pharm*. 2010;7:1235-43.

109. Branch SK. Guidelines from the International Conference on Harmonisation (ICH). *J Pharm Biomed Anal*. 2005;38:798-805.

110. Baber N. International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use (ICH). *Br J Clin Pharmacol*. 1994;37:401-4.

111. Bosch J-C, Lee I. Wealth effects of food and drug administration (FDA) decisions. *Manag Decis Econ*. 1994;15:589-99.

## Références bibliographiques

---

112. EMA. Le système européen de réglementation des médicaments: Une approche cohérente de la réglementation des médicaments dans l'Union européenne. european-medicines-agency. EMA; 2016.
113. Kahlmeter G, Brown DFJ, Goldstein FW, MacGowan AP, Mouton JW, Odenholt I, et al. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Technical Notes on antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect*. 2006;12:501-3.
114. Jehl F, Kamili N, Elkhaili H, Monteil H. Pharmacodynamie in vitro de l'amoxicilline et bactéricidie ex vivo après 1 g per os sur *S. pneumoniae* résistants à la pénicilline. *Médecine Mal Infect*. 1997;27:45-57.
115. M. ARCHAMBAUD. METHODES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE DES ANTIBIOTIQUES. *Brûlures*. 2000;1.
116. Tattevin P, Crémieux A-C, Rabaud C, Gauzit R. Efficacy and Quality of Antibacterial Generic Products Approved for Human Use: A Systematic Review. *Clin Infect Dis*. 2014;58:458-69.
117. Agudelo M, Vesga O. Therapeutic Equivalence Requires Pharmaceutical, Pharmacokinetic, and Pharmacodynamic Identities: True Bioequivalence of a Generic Product of Intravenous Metronidazole. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:2659-65.
118. WHO. Marketing Authorization of Pharmaceutical Products with Special Reference to Multisource (Generic) Products- 2nd EDITION [Internet]. A manual for National Medicines Regulatory Authorities (NMRAs).WHO; 2011 [cité 11 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789241501453>
119. Gronvall GK, Trent D, Borio L, Brey R, Nagao L, Alliance for Biosecurity. The FDA animal efficacy rule and biodefense. *Nat Biotechnol*. 2007;25:1084-7.
120. Varga OE, Hansen AK, Sandøe P, Olsson IAS. Validating animal models for preclinical research: a scientific and ethical discussion. *Altern Lab Anim ATLA*. 2010;38:245-8.
121. Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1998;26:1-10; quiz 11-2.
122. Ambrose PG, Bhavnani SM, Rubino CM, Louie A, Gumbo T, Forrest A, et al. Pharmacokinetics-pharmacodynamics of antimicrobial therapy: it's not just for mice anymore. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2007;44:79-86.
123. Wright AJ, Wilson WR. Experimental animal endocarditis. *Mayo Clin Proc*. 1982;57:10-4.

## Références bibliographiques

---

124. Sande MA. Evaluation of antimicrobial agents in the rabbit model of endocarditis. *Rev Infect Dis.* 1981;3 suppl:S240-249.
125. Lee D-G, Murakami Y, Andes DR, Craig WA. Inoculum effects of ceftobiprole, daptomycin, linezolid, and vancomycin with *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* at inocula of 10<sup>5</sup> and 10<sup>7</sup> CFU injected into opposite thighs of neutropenic mice. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:1434-41.
126. van der Worp HB, Howells DW, Sena ES, Porritt MJ, Rewell S, O'Collins V, et al. Can Animal Models of Disease Reliably Inform Human Studies? *PLoS Med.* 2010;7:e1000245.
127. Rodriguez CA, Agudelo M, Zuluaga AF, Vesga O. In vitro and in vivo comparison of the anti-staphylococcal efficacy of generic products and the innovator of oxacillin. *BMC Infect Dis.* 2010;10:153.
128. Agudelo M, Rodriguez C, Pelaez C, Vesga O. Even Apparently Insignificant Chemical Deviations among Bioequivalent Generic Antibiotics Can Lead to Therapeutic Nonequivalence: the Case of Meropenem. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58.
129. ANSM. Le contrôle des médicaments génériques -. ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé; 2017.
130. Lespagnol A, Coeur A, Alary J, Lespagnol C, Malangeau PP. *Chimie des médicaments.* Paris, France: Entreprise moderne d'édition : Technique et documentation; 1974.
131. Paradkar DAR. *Biopharmaceutics & Pharmacokinetics.* Pragati Books Pvt. Ltd.; 2008.
132. Commission des Pratiques et des Parcours. *Recommandations pour la stabilité et la conservation des multi-doses.* GT PC AFPHB Administration des médicaments; 2018.
133. WHO Expert Committee. *Assurance de la qualité des produits pharmaceutiques : recueil de directives et autres documents.* World Health Organization; 1998.
134. BRISSET Jean-Louis, ADDOU Ahmed, DRAOUI Mustapha, MOUSSA David, ABDELMALEK Fatiha. *Chimie analytique en solution: Principes et applications.* 2<sup>e</sup> Éd. Lavoisier; 2011.
135. BURGOT Jean-Louis. *Chimie analytique et équilibres ioniques.* 2<sup>e</sup> Éd. Lavoisier; 2011.
136. Al Ameri MN, Nayuni N, Anil Kumar KG, Perrett D, Tucker A, Johnston A. The differences between the branded and generic medicines using solid dosage forms: In-vitro dissolution testing. *Results Pharma Sci.* 2012;2:1-8.

## Références bibliographiques

---

137. BURGOT Gwenola, BURGOT Jean-Louis. Méthodes de séparation, méthodes spectrales, méthodes thermiques. Lavoisier; 2017.
138. Troy DB, Beringer P. Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 21st ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
139. 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. la Faculté de Médecine et de Pharmacie Mohammed V de Rabat; 2006.
140. The International Pharmacopoeia, 10th edition [Internet]. 2020 [cité 1 mars 2023]. Disponible sur: <https://digicollections.net/phint/2020/index.html#d/b.1>
141. Rahman MdM, Asraful M, Haque, Nahian F, Fahim. COMPARATIVE QUALITY EVALUATION OF DIFFERENT BRANDS OF CIPROFLOXACIN TABLETS AVAILABLE IN PHARMACEUTICAL MARKET OF BANGLADESH. 2019;Vol I:43-9.
142. Shah MR, Nasiri MI, Anwer S, Ali T, Zaheer K, Ahmed K, et al. Pharmaceutical Quality Assessment of Different Brands of Moxifloxacin 400 mg Tablets Available in Pakistan. RADS J Pharm Pharm Sci. 2019;7:2-8.
143. J. Ermer and J. H. McB. Miller, . Method Validation in Pharmaceutical Analysis: A Guide to Best Practice, Wiley-VCH, enero, 2005. 2005;
144. Al-Tabakha MM, Fehelbom KMS, Obaid DEE, Sayed S. Quality Attributes and In Vitro Bioequivalence of Different Brands of Amoxicillin Trihydrate Tablets. Pharmaceutics. 2017;9:18.
145. Kassahun H, Teka T. In vitro quality evaluation of generic ciprofloxacin tablets available in community pharmacies of Dessie town, Northeast Ethiopia. J Generic Med Bus J Generic Med Sect. 2020;174113432092192.
146. Anah VU, Ebong AS, Charles GE, Esenam FD, Ukpanah II, Essien AA, et al. Quantitative and qualitative analysis of some brands of ciprofloxacin tablets sold in Uyo metropolis, Akwa Ibom State, Nigeria. Niger J Pharm Appl Sci Res. 2019;8:15-22.
147. Hambisa S, Belew S, Suleman S. In vitro comparative quality assessment of different brands of norfloxacin tablets available in Jimma, Southwest Ethiopia. Drug Des Devel Ther. 2019;13:1241-9.

## Références bibliographiques

---

148. Pont Edouard,. Contrôle des impuretés dans les substances pour usage pharmaceutique selon la Pharmacopée Européenne : évolution des connaissances et des méthodes analytiques de contrôle, thèse d'exercice, Limoges, Université de Limoges, [Internet] [Thès d'exercice]. Limoges; 2011. Disponible sur: <http://aurore.unilim.fr/ori-oai-search/notice/view/unilim-ori-40927>
149. Detection of Impurities in Anti-infective Generic Drugs in Brazil by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry | JOURNAL OF BIOENGINEERING, TECHNOLOGIES AND HEALTH. 2019 [cité 28 avr 2023]; Disponible sur: <http://www.jbth.com.br/index.php/JBTH/article/view/55>
150. Sivakumar B, Parthasarathy K, Murugan R, Jeyasudha R, Murugan S, Saranghdar RJ. Isolation and Characterisation of Degradation Impurities in the Cefazolin Sodium Drug Substance. *Sci Pharm*. 2013;81:933-50.
151. Basak AK, Raw AS, Al Hakim AH, Furness S, Samaan NI, Gill DS, et al. Pharmaceutical impurities: regulatory perspective for Abbreviated New Drug Applications. *Adv Drug Deliv Rev*. 2007;59:64-72.
152. Jiang Y, Xia J-P, Yang J-H, Zhang Z-F, Hu C-Q, Zhang Z-R. Guidelines and strategy of the International Conference of Harmonization (ICH) and its member states to overcome existing impurity control problems for antibiotics in China. *Chin J Nat Med*. 2015;13:498-506.
153. Office of Generic Drugs. Orange Book. Approved Drug Products with Therapeutic Equivalence Evaluations [Internet]. US Food and Drug Administration: Silver Spring, MD, USA; 2023. Disponible sur: <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/UCM071436.pdf>
154. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Meeting (2005 : Geneva S, Organization WH. Fortieth report of the WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations : Geneva, 24-28 October 2005 [Internet]. World Health Organization; 2006. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43443>
155. Chen M-L, Shah VP, Crommelin DJ, Shargel L, Bashaw D, Bhatti M, et al. Harmonization of regulatory approaches for evaluating therapeutic equivalence and interchangeability of multisource drug products: workshop summary report. *AAPS J*. 2011;13:556-64.
156. College of Pharmacists of British Columbia. Drug interchangeability update—amended from the August 2004 Vol. 3 No.1 FYI Newsletter. College of Pharmacists of British Columbia. 3 oct 2011;

## Références bibliographiques

---

157. Nova Scotia criteria for interchangeability. Nova Scotia Department of Health.; 2011.
158. Löbenberg R, Chacra NB, Stippler ES, Shah VP, DeStefano AJ, Hauck WW, et al. Toward Global Standards for Comparator Pharmaceutical Products: Case Studies of Amoxicillin, Metronidazole, and Zidovudine in the Americas. *AAPS J.* 2012;14:462-72.
159. Stuart AV, Zuo J, Löbenberg R. Investigating the Dissolution Profiles of Amoxicillin, Metronidazole, and Zidovudine Formulations used in Trinidad and Tobago, West Indies. *AAPS PharmSciTech.* 2014;15:1060-9.
160. Costa P, Sousa Lobo JM. Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur J Pharm Sci.* 2001;13:123-33.
161. Thambavita D, Jayathilake C, Sandamali K, Galappaththy P, Jayakody R. In Vitro Dissolution Testing to Assess Pharmaceutical Equivalence of Selected Amoxicillin Products Available in Sri Lanka: A Post-Marketing Study. *Dissolution Technol.* 2019;26:56-61.
162. Bronnikova O, Matto V, Meos A. Estonian and Russian Federation amoxicillin formulations: a comparative study of in vitro dissolution. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2008;30:341-5.
163. Comparative Dissolution Study of Different Brands of Amoxicillin Trihydrate Capsules Available in Bangladesh | Stamford Journal of Pharmaceutical Sciences [Internet]. [cité 7 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.banglajol.info/index.php/SJPS/article/view/5827>
164. Kassaye L, Genete G. Evaluation and comparison of in-vitro dissolution profiles for different brands of amoxicillin capsules. *Afr Health Sci.* 2013;13:369-75.
165. Saptarini NM. EVALUATION OF CONTENT AND DISSOLUTION PROFILE OF GENERIC AMOXICILLIN TABLETS MARKETED IN INDONESIA. 2013 [cité 7 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.semanticscholar.org/paper/EVALUATION-OF-CONTENT-AND-DISSOLUTION-PROFILE-OF-IN-Saptarini/43fe7de2c1709633fe127bd3285f7bdb1f439dec>
166. Olanrewaju OJ, Paul AC, Olusola AM. Quality assessment of amoxicillin-clavulanate potassium tablets in Lagos, Nigeria. *J Chem Pharm Res [Internet].* 2012 [cité 5 avr 2023];4. Disponible sur: <https://www.jocpr.com/abstract/quality-assessment-of-amoxicillinclavulanate-potassium-tablets-in-lagos-nigeria-1779.html>
167. Hofsäss MA, Dressman J. Evaluation of Differences in Dosage Form Performance of Generics Using BCS-Based Biowaiver Specifications and Biopharmaceutical Modeling-Case Examples Amoxicillin and Doxycycline. *J Pharm Sci.* 2020;109:2437-53.

## Références bibliographiques

---

168. Sunday, June 17, 2012. The Biopharmaceutics Classification System: Canary in the Coal Mine for Regulatory Science! [Internet]. [cité 9 avr 2023]. Disponible sur: <http://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/115933-The-Biopharmaceutics-Classification-System-Canary-in-the-Coal-Mine-for-Regulatory-Science/>
169. Spyker DA, Rugloski RJ, Vann RL, O'Brien WM. Pharmacokinetics of amoxicillin: dose dependence after intravenous, oral, and intramuscular administration. *Antimicrob Agents Chemother.* 1977;11:132-41.
170. Englund G, Rorsman F, Rönnblom A, Karlbom U, Lazorova L, Gråsjö J, et al. Regional levels of drug transporters along the human intestinal tract: Co-expression of ABC and SLC transporters and comparison with Caco-2 cells. *Eur J Pharm Sci.* 2006;29:269-77.
171. Herrera-Ruiz D, Wang Q, Cook TJ, Knipp GT, Gudmundsson OS, Smith RL, et al. Spatial expression patterns of peptide transporters in the human and rat gastrointestinal tracts, Caco-2 In Vitro cell culture model, and multiple human tissues. *AAPS PharmSci.* 2001;3:9.
172. Gordon RC, Regamey C, Kirby WMM. Comparative Clinical Pharmacology of Amoxicillin and Ampicillin Administered Orally. *Antimicrob Agents Chemother.* 1972;1:504-7.
173. Arancibia A, Guttmann J, González G, González C. Absorption and disposition kinetics of amoxicillin in normal human subjects. *Antimicrob Agents Chemother.* 1980;17:199-202.
174. INTERACTIONS OF AMOXICILLIN AND CEFACLOR WITH HUMAN RENAL ORGANIC ANION AND PEPTIDE TRANSPORTERS | Drug Metabolism & Disposition [Internet]. [cité 9 avr 2023]. Disponible sur: <https://dmd.aspetjournals.org/content/34/4/547>
175. Chulavatnatol S, Charles B. Determination of dose-dependent absorption of amoxycillin from urinary excretion data in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 1994;38:274-7.
176. Hill SA, Jones KH, Lees LJ. Pharmacokinetics of parenterally administered amoxycillin. *J Infect.* 1980;2:320-32.
177. Cole M, Kenig MD, Hewitt VA. Metabolism of Penicillins to Penicilloic Acids and 6-Aminopenicillanic Acid in Man and Its Significance in Assessing Penicillin Absorption. *Antimicrob Agents Chemother.* 1973;3:463-8.
178. Kortejärvi H, Malkki J, Shawahna R, Scherrmann J-M, Urtti A, Yliperttula M. Pharmacokinetic simulations to explore dissolution criteria of BCS I and III biowaivers with and without MDR-1 efflux transporter. *Eur J Pharm Sci.* 2014;61:18-26.

## Références bibliographiques

---

179. Okumura J, Taga M, Tey S, Kataoka Y, Nam N, Kimura K. High failure rate of the dissolution tests for 500-mg amoxicillin capsules sold in Cambodia: is it because of the product or the test method? *Trop Med Int Health*. 2010;15:1340-6.
180. Khan MH, Hatanaka K, Sovannarith T, Nivanna N, Casas LCC, Yoshida N, et al. Effects of packaging and storage conditions on the quality of amoxicillin-clavulanic acid – an analysis of Cambodian samples. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2013;14:33.
181. Avianto P, Mahfudz null, Suharjo null, Isnaeni null, Alderman CP. In vitro equivalence of generic and branded amoxicillin tablet by microbiological assay method. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2020;30:/j/jbcpp.2019.30.issue-6/jbcpp-2019-0247/jbcpp-2019-0247.xml.
182. Pathak P, Dawane J. In vitro Comparison of Generic and Branded Preparations of Amoxicillin with Potassium Clavulanate. *J Clin Diagn Res JCDR*. 2016;10:FC07-9.
183. Nightingale CH. A survey of the quality of generic clarithromycin products from 18 countries. *Clin Drug Investig*. 2005;25:135-52.
184. de Mattos LIS, Ferraris FK, Machado TSC, de Brito TM, Chaves AS, Pereira HM, et al. Post-marketing surveillance of generic amoxicillin using a microbiological assay and pharmacokinetic approach in rats. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48:753-6.
185. Shenoy Panchmal G, Shenoy R, Tellis R, Jacob JM, Rekha PD, Jodalli P, et al. Comparison of medicine quality of the generic formulation of amoxicillin provided by the government of Karnataka with marketed brands - a public health perspective. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2013;23:37-42.
186. Yulizal OK, Tarigan SB, Isnainul OK, Muttaqin Z. Gastric histopathological features after the administration of omeprazole, amoxicillin, and clarithromycin in gastritis *Helicobacter pylori* rat model. *J Adv Vet Anim Res*. 2021;8:158-63.
187. Hassan TMM, Al-Najjar SI, Al-Zahrani IH, Alanazi FIB, Alotibi MG. *Helicobacter pylori* chronic gastritis updated Sydney grading in relation to endoscopic findings and H. pylori IgG antibody: diagnostic methods. *J Microsc Ultrastruct*. 2016;4:167-74.
188. Werawatganon D. Simple animal model of *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol*. 2014;20:6420-4.
189. O'Rourke JL, Lee A. Animal models of *Helicobacter pylori* infection and disease. *Microbes Infect*. 2003;5:741-8.

## Références bibliographiques

---

190. Yulizal OK, Lelo A, Ilyas S, Kusumawati RL. The effect of snakehead fish extract supplementation to first-line eradication regimen on macrophage migration inhibitory factor (MIF) expression in rats induced by *Helicobacter pylori* infection. *J Adv Vet Anim Res.* 2020;7:209-17.
191. Amaral TY, Padilha IG, Presidio GA, Silveira EAAS da, Duarte AWF, Barbosa APF, et al. Antimicrobial and anti-inflammatory activities of *Apis mellifera* honey on the *Helicobacter pylori* infection of Wistar rats gastric mucosa. *Food Sci Technol.* 2017;37:34-41.
192. Eren M, Çolak Ö, Işıksoy S, Yavuz A. Effect of *H. pylori* infection on gastrin, ghrelin, motilin, and gastroesophageal reflux. *Turk J Gastroenterol Off J Turk Soc Gastroenterol.* 2015;26:367-72.
193. Hathroubi S, Servetas SL, Windham I, Merrell DS, Ottemann KM. *Helicobacter pylori* Biofilm Formation and Its Potential Role in Pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR.* 2018;82:e00001-18.
194. Zhang C-L, Geng C-H, Yang Z-W, Li Y-L, Tong L-Q, Gao P, et al. Changes in patients' symptoms and gastric emptying after *Helicobacter pylori* treatment. *World J Gastroenterol.* 2016;22:4585-93.
195. Yonezawa H, Osaki T, Kamiya S. Biofilm Formation by *Helicobacter pylori* and Its Involvement for Antibiotic Resistance. *BioMed Res Int.* 2015;2015:914791.
196. Brito BB de, Silva FAF da, Soares AS, Pereira VA, Santos MLC, Sampaio MM, et al. Pathogenesis and clinical management of *Helicobacter pylori* gastric infection. *World J Gastroenterol.* 2019;25:5578-89.
197. The effect of *Channa striata* extract and standard eradication regimen on asymmetric dimethylarginine in *Helicobacter pylori* gastritis rat model - PubMed [Internet]. [cité 27 mai 2023]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33061234/>
198. Nasser SC, Slim M, Nassif JG, Nasser SM. Influence of proton pump inhibitors on gastritis diagnosis and pathologic gastric changes. *World J Gastroenterol.* 2015;21:4599-606.
199. Mori H, Suzuki H. Role of Acid Suppression in Acid-related Diseases: Proton Pump Inhibitor and Potassium-competitive Acid Blocker. *J Neurogastroenterol Motil.* 2019;25:6-14.
200. Debraekeleer A, Remaut H. Future perspective for potential *Helicobacter pylori* eradication therapies. *Future Microbiol.* 2018;13:671-87.

## Références bibliographiques

---

201. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut*. 2017;66:6-30.
202. Crowe SE. *Helicobacter pylori* Infection. *N Engl J Med*. 2019;380:1158-65.
203. Agudelo M, Rodriguez CA, Zuluaga AF, Vesga O. Nontherapeutic equivalence of a generic product of imipenem-cilastatin is caused more by chemical instability of the active pharmaceutical ingredient (imipenem) than by its substandard amount of cilastatin. *PLoS ONE*. 2019;14:e0211096.
204. Khan AN, Khar RK, Udayabanu M. QUALITY AND AFFORDABILITY OF AMOXICILLIN GENERIC PRODUCTS: A PATIENT CONCERN. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2016;386-90.
205. Xanthopoulou S-S, Katsaliaki K. Policies and perceptions on generic drugs: The case of Greece. *Health Serv Manage Res*. 2019;32:49-56.
206. Qu J, Zuo W, Wang S, Du L, Liu X, Gao Y, et al. Knowledge, perceptions and practices of pharmacists regarding generic substitution in China: a cross-sectional study. *BMJ Open*. 2021;11:e051277.
207. Li W, Xia M, Gong S, Ding Y. Perceptions of Generic Drugs in the Pharmacists of Public Hospitals: A Cross-sectional Survey in Hubei Province of China. *Curr Med Sci*. 2021;41:987-95.
208. Babar Z-U-D, Grover P, Stewart J, Hogg M, Short L, Seo HG, et al. Evaluating pharmacists' views, knowledge, and perception regarding generic medicines in New Zealand. *Res Soc Adm Pharm*. 2011;7:294-305.
209. Maly J, Dosedel M, Kubena A, Vlcek J. Analysis of pharmacists' opinions, attitudes and experiences with generic drugs and generic substitution in the Czech Republic. *Acta Pol Pharm*. 2013;70:923-31.
210. Moet GJ, Watters AA, Sader HS, Jones RN. Expanded studies of piperacillin/tazobactam formulations: variations among branded product lots and assessment of 46 generic lots. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009;65:319-22.
211. Veronin M. Should we have concerns with generic versus brand antimicrobial drugs? A review of issues. *J Pharm Health Serv Res*. 2011;2.
212. Chow SC, Liu J. Meta-analysis for bioequivalence review. *J Biopharm Stat*. 1997;7:97-111.

## Références bibliographiques

---

213. Nambiar S, Madurawe RD, Zuk SM, Khan SR, Ellison CD, Faustino PJ, et al. Product Quality of Parenteral Vancomycin Products in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:2819-23.
214. Hadwiger ME, Sommers CD, Mans DJ, Patel V, Boyne MT. Quality assessment of U.S. marketplace vancomycin for injection products using high-resolution liquid chromatography-mass spectrometry and potency assays. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:2824-30.
215. Zak O. Scope and limitations of experimental chemotherapy. *Experientia.* 1980;36:479-83.
216. Rodriguez CA, Agudelo M, Cataño JC, Zuluaga AF, Vesga O. Potential therapeutic failure of generic vancomycin in a liver transplant patient with MRSA peritonitis and bacteremia. *J Infect.* 2009;59:277-80.
217. Mastoraki E, Michalopoulos A, Kriaras I, Mouchtouri E, Falagas ME, Karatza D, et al. Incidence of postoperative infections in patients undergoing coronary artery bypass grafting surgery receiving antimicrobial prophylaxis with original and generic cefuroxime. *J Infect.* 2008;56:35-9.
218. Karaikos I, Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother.* 2014;15:1351-70.
219. Llor C, Bjerrum L. Antimicrobial resistance: risk associated with antibiotic overuse and initiatives to reduce the problem. *Ther Adv Drug Saf.* 2014;5:229-41.
220. You Y, Silbergeld EK. Learning from agriculture: understanding low-dose antimicrobials as drivers of resistome expansion. *Front Microbiol.* 2014;5:284.
221. IMS Institute for Healthcare Informatics 100 IMS Drive, Parsippany, NJ 07054, USA. Global Medicines Use in 2020, Outlook and Implications. IMS Institute for Healthcare Informatics; 2015.
222. Rodriguez CA, Agudelo M, Aguilar YA, Zuluaga AF, Vesga O. Impact on Bacterial Resistance of Therapeutically Nonequivalent Generics: The Case of Piperacillin-Tazobactam. *PLoS One.* 2016;11:e0155806.
223. van der Meersch A, Dechartres A, Ravaud P. Quality of reporting of bioequivalence trials comparing generic to brand name drugs: a methodological systematic review. *PLoS One.* 2011;6:e23611.

## Références bibliographiques

---

224. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de la santé. Rapport d'activité 2015 de l'ANSM. 2016.

225. Pathak P, Pandit VA, Dhande PP. Bioequivalence of generic and branded amoxicillin capsules in healthy human volunteers. *Indian J Pharmacol.* 2017;49:176-81.

226. Del Tacca M, Pasqualetti G, Di Paolo A, Viridis A, Massimetti G, Gori G, et al. Lack of pharmacokinetic bioequivalence between generic and branded amoxicillin formulations. A post-marketing clinical study on healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* 2009;68:34-42.



**ANNEXES**

## ANNEXES :

**Annexe 1:** Certificat de conformité à la pharmacopée européenne du standard de référence de l'amoxicilline trihydrate

European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare  
European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)  
7, Allée Kastner CS 30026, F-67081 Strasbourg (France)  
Tel. +33 (0)3 88 41 20 35 Fax. + 33 (0)3 88 41 27 71  
For any questions: www.edqm.eu (HelpDesk)



**INFORMATION LEAFLET Ph. Eur. Reference Standard**  
**AMOXICILLIN TRIHYDRATE CRS batch 6**

**1. Identification**

Catalogue code: A0800000

Unit Quantity: ca 200 mg

**2. Scientific Information****2.1 Intended use**

Reference Standard for laboratory tests as prescribed in the European Pharmacopoeia only.  
Established for use with the monograph(s): 0577, 0260, 0578, 0168, 0167, 0813, 1140, 1653.

**2.2 Analytical information related to intended use, when applicable**

The "as is" content is : **85.9% of C16H19N3O5S (for 0577, 0260)**

**2.3 Uncertainty of the assigned value, when applicable**

The uncertainty of the assigned value is not stated since it is considered to be negligible in relation to the defined limits of the method-specific assays for which the reference standard is used. Please also refer to Ph. Eur. chapter 5.12.

**2.4 Validity**

Ph. Eur. RS are periodically tested to ensure their continuous fitness for purpose. For each valid Ph. Eur. RS, a Batch Validity Statement at the time of use can be downloaded and printed from the EDQM website (Reference Standards Database).

**2.5 Instructions for use**

The container should not be opened until required for use. Allow the closed container to equilibrate at ambient temperature before opening to avoid uptake of moisture. Use "as is". Do not dry/desiccate before use. Ph. Eur. RS are for immediate use. Once the container has been opened, its entire content must be used immediately. Any further storage and re-use are not warranted.

**3. Storage conditions**

In the original container at +5°C ± 3°C, protected from light. Re-instate promptly upon receipt.

**4. Safety**

For scientific research, development and analysis only. Handle in accordance with good occupational hygiene, safety and laboratory practices and take precautions to avoid exposure. More information is available at the EDQM website (Reference Standards Database): Safety Data Sheet for hazardous chemicals and Safety Data Statement for other materials.

**5. Shipping conditions**

Each Ph. Eur. RS is shipped under conditions that preserve its suitability for use and comply with the relevant regulations. For more details see EDQM website (Reference Standards Database).

**6. Warranties, Liabilities and responsibility***- Safety*

In the event of any safety concerns, please read carefully the safety data sheets or safety data statements available for each product. It is for Purchasers to determine independently the risks associated with the items and to take appropriate safety measures, including the provision of appropriate information, equipment and training of those persons coming into contact with the item.

*- Warranties*

Except for the use of Reference Standards in tests and assays carried out in accordance with the official methods of the European Pharmacopoeia and by professionals with the necessary technical skills and at their own discretion and risk, the EDQM makes no representation, contractual statement, or expression of opinion concerning the quality or safety of any item supplied, the presence of any defect in it, or its fitness for any particular purpose except that as described above.

Signed on: 05/02/2019  
FORM/597 Rev. 03 [14/01/2019]



Rev.4 1/2

The EDQM does not guarantee that the items will meet the Purchaser's specific expectations. The EDQM only guarantees that the items (i) were fit for use according to EDQM's intended use of the product ;(ii) were fit for use at the moment that they were handed over to the carrier being responsible for the delivery of the items to the Purchaser with such accessories including packaging, delivery instructions or other instructions for the item's delivery and reception as the Purchaser may expect to receive; and (iii) possess qualities and performance capabilities which are normal in goods of the same type and which the Purchaser may expect given the nature of the goods and the information provided on the EDQM's website and (iv) the carrier and the Purchaser received clear and accurate instructions for the item's delivery and reception. No other guarantees, whether explicitly or implied, are given by the EDQM. The EDQM does not guarantee that the purchase or use of the items will not infringe any intellectual property rights, in particular patents.

*- Limitation of Liability*

In no event shall the EDQM be liable for any damages due to the use of items, included, but not limited to loss of business, loss of profit, loss of use, loss of opportunity, costs of procurement of substitute goods, services or systems or for any indirect, special, incidental, punitive or consequential damages, however caused and, whether in contract, tort or under any other theory of liability, whether or not the Purchaser has been advised of the possibility of such damages or costs.

Any liability of the EDQM for injury, loss or damage arising from the supply or use of any such item is in any event hereby excluded to the fullest extent permitted internationally accepted commercial standards; in particular, no liability is accepted for loss of profits or indirect or consequential loss.

**7. Arbitration & Applicable Law**

The aim of the EDQM is to settle any disputes amicably in the framework of its Terms and Conditions. In accordance with the provisions of article 21 of the General Agreement on the Privileges and Immunities of the Council of Europe, all disputes between the EDQM and the Purchaser as regards the application of these General Terms shall be submitted, if a mutual agreement cannot be reached between the parties, to arbitration as laid down in Order No. 481 of the Secretary General, approved by the Committee of Ministers.

This transaction shall be governed by the Council of Europe's relevant regulatory framework, complemented, where necessary, by French national substantive law.

**8. Citation**

Users shall ensure that any reference made to an EDQM Reference Standard in any publication, presentation or public document (ex. scientific articles, data sheets for kits) bears the exact name, and catalogue code of the Reference Standard and the exact name and address of EDQM as given on the first page of this information leaflet.

**9. Adoption**

The suitability for intended use has been officially adopted by the European Pharmacopoeia Commission.

**10. Signature**

This document is approved by:

**Ms Caroline Offerlé**  
**Head of the Quality and Risk Management Section**

## Annexe 2: Certificat de conformité à la pharmacopée européenne du standard de référence de l'impureté Cefadroxil

European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare  
European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)  
7, Allée Kastner CS 30026, F-67081 Strasbourg (France)  
Tel. +33 (0)3 88 41 20 35 Fax. + 33 (0)3 88 41 27 71  
For any questions: www.edqm.eu (HelpDesk)



### INFORMATION LEAFLET Ph. Eur. Reference Standard CEFADROXIL CRS batch 4

#### 1. Identification

Catalogue code: C0650000

Unit Quantity: ca 150 mg

#### 2. Scientific Information

##### 2.1 Intended use

Reference Standard for laboratory tests as prescribed in the European Pharmacopoeia only.  
Established for use with the monograph(s): 0577, 0260, 0813, 2342.

##### 2.2 Analytical information related to intended use, when applicable

The "as is" content is : **94.0% of C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S for use in monograph 0813.**  
**100.0% of C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S·H<sub>2</sub>O for use in monograph 2342,**  
**see note below. An assigned content is not given for use in**  
**monographs 0577 and 0260.**

Note: Conversion of the assigned content of 94.0% of anhydrous cefadroxil (Mr 363.4) into cefadroxil monohydrate (Mr 381.4) results in a content greater than 95.0%, i.e. the content of the CRS for the intended use in the LC test for related substances can be considered as 100.0% (cf. Ph. Eur. 5.12).

##### 2.3 Uncertainty of the assigned value, when applicable

The uncertainty of the assigned value is not stated since it is considered to be negligible in relation to the defined limits of the method-specific assays for which the reference standard is used. Please also refer to Ph. Eur. chapter 5.12.

##### 2.4 Validity

Ph. Eur. RS are periodically tested to ensure their continuous fitness for purpose. For each valid Ph. Eur. RS, a Batch Validity Statement at the time of use can be downloaded and printed from the EDQM website (Reference Standards Database).

##### 2.5 Instructions for use

The container should not be opened until required for use. Allow the closed container to equilibrate at ambient temperature before opening to avoid uptake of moisture. Use "as is". Do not dry/desiccate before use. Ph. Eur. RS are for immediate use. Once the container has been opened, its entire content must be used immediately. Any further storage and re-use are not warranted.

#### 3. Storage conditions

In the original container at +5°C ± 3°C, protected from light. Re-instate promptly upon receipt.

#### 4. Safety

For scientific research, development and analysis only. Handle in accordance with good occupational hygiene, safety and laboratory practices and take precautions to avoid exposure. More information is available at the EDQM website (Reference Standards Database): Safety Data Sheet for hazardous chemicals and Safety Data Statement for other materials.

#### 5. Shipping conditions

Each Ph. Eur. RS is shipped under conditions that preserve its suitability for use and comply with the relevant regulations. For more details see EDQM website (Reference Standards Database).

#### 6. Warranties, Liabilities and responsibility

##### - Safety

In the event of any safety concerns, please read carefully the safety data sheets or safety data statements available for each product. It is for Purchasers to determine independently the risks associated with the items and to take appropriate safety measures, including the provision of appropriate information, equipment and training of those persons coming into contact with the item.

Signed on: 31/05/2019  
FORM/597 Rev. 03 [14/01/2019]



Rev.3 1/2

## ANNEXES

---

### *- Warranties*

Except for the use of Reference Standards in tests and assays carried out in accordance with the official methods of the European Pharmacopoeia and by professionals with the necessary technical skills and at their own discretion and risk, the EDQM makes no representation, contractual statement, or expression of opinion concerning the quality or safety of any item supplied, the presence of any defect in it, or its fitness for any particular purpose except that as described above.

The EDQM does not guarantee that the items will meet the Purchaser's specific expectations. The EDQM only guarantees that the items (i) were fit for use according to EDQM's intended use of the product ;(ii) were fit for use at the moment that they were handed over to the carrier being responsible for the delivery of the items to the Purchaser with such accessories including packaging, delivery instructions or other instructions for the item's delivery and reception as the Purchaser may expect to receive; and (iii) possess qualities and performance capabilities which are normal in goods of the same type and which the Purchaser may expect given the nature of the goods and the information provided on the EDQM's website and (iv) the carrier and the Purchaser received clear and accurate instructions for the item's delivery and reception. No other guarantees, whether explicitly or implied, are given by the EDQM. The EDQM does not guarantee that the purchase or use of the items will not infringe any intellectual property rights, in particular patents.

### *- Limitation of Liability*

In no event shall the EDQM be liable for any damages due to the use of items, included, but not limited to loss of business, loss of profit, loss of use, loss of opportunity, costs of procurement of substitute goods, services or systems or for any indirect, special, incidental, punitive or consequential damages, however caused and, whether in contract, tort or under any other theory of liability, whether or not the Purchaser has been advised of the possibility of such damages or costs.

Any liability of the EDQM for injury, loss or damage arising from the supply or use of any such item is in any event hereby excluded to the fullest extent permitted internationally accepted commercial standards; in particular, no liability is accepted for loss of profits or indirect or consequential loss.

### **Arbitration & Applicable Law**

The aim of the EDQM is to settle any disputes amicably in the framework of its Terms and Conditions. In accordance with the provisions of article 21 of the General Agreement on the Privileges and Immunities of the Council of Europe, all disputes between the EDQM and the Purchaser as regards the application of these General Terms shall be submitted, if a mutual agreement cannot be reached between the parties, to arbitration as laid down in Order No. 481 of the Secretary General, approved by the Committee of Ministers.

This transaction shall be governed by the Council of Europe's relevant regulatory framework, complemented, where necessary, by French national substantive law.

### **i. Citation**

Users shall ensure that any reference made to an EDQM Reference Standard in any publication, presentation or public document (ex. scientific articles, data sheets for kits) bears the exact name, and catalogue code of the Reference Standard and the exact name and address of EDQM as given on the first page of this information leaflet.

### **i. Adoption**

The suitability for intended use has been officially adopted by the European Pharmacopoeia Commission.

### **0. Signature**

This document is approved by:

**Ms Caroline Offerlé**  
**Head of the Quality and Risk Management Section**

### Annexe 3: Certificat de qualité de la colonne HPLC C18 utilisée pour la recherche des impuretés



Wöhlerstr. 2-6  
D-55120 Mainz  
www.mz-at.de

Tel. 06131/68 66 19  
Fax 06131/68 66 20  
info@mz-at.de

USt. Id.-Nr.: DE 149057837  
Steuer-Nr.: 26/662/01682

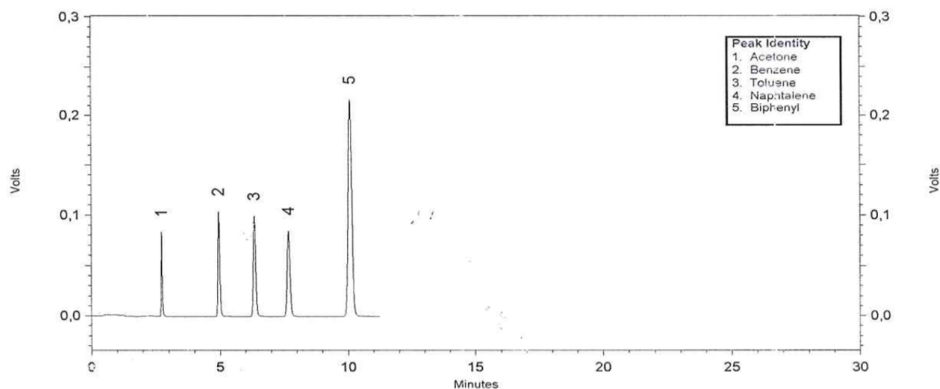


## HPLC-Column Quality Certificate

**Column:** 250 x 4.6 mm [Length x ID] **Part-No.: MZ6195-250046**  
**Material:** Hypersil BDS C18 **Ser.-No.: 26141223**  
**Particle size:** 5 µm  
**Batch-No.:** 12569

### Chromatographic Conditions

**Eluent:** acetonitrile / water 65/35  
**Flow rate:** 1.00 ml / min  
**Back pressure:** 6.3 MPa  
**Sample Volume:** 0.5 µl  
**Detection:** UV / 254 nm  
**Temperature:** ambient



### Results

Peak Name	Retention Time [min]	Capacity Factor k'	Theor. Plates / Column	Theor. Plates / m	Asymmetry
Biphenyl	10,09	2,69	23227	92910	1,04

Operator: A. Korba

**Annexe 4:** Certificat de conformité du Potassium phosphate monobasique

Page: 1

**Honeywell**

CERTIFICATE OF ANALYSIS

**Honeywell Specialty Chemicals Seelze GmbH**  
 Wunstorferstrasse 40  
 Seelze, 30926  
 Telefon: +49 5137 999-0  
[www.lab-honeywell.com](http://www.lab-honeywell.com)

**Brand:** Honeywell Fluka™  
**Product:** 04243  
**Lot No:** I3110  
**Production date:** 07.Nov.2020  
**Rec. Retest Date:** 20.Apr.2024

Potassium phosphate monobasic, meets analytical specification of Ph. Eur., NF, E 340

Parameter	Specification	Units	Result	Units
assay (calc. to the dried substance)	98.0-100.5	%	99.9	%
loss on drying (130°C)	max. 1.0	%	0.04	%
loss on drying (105°C, 4 h)	max. 1.0	%	<0.01	%
water insoluble matter	max. 0.2	%	<0.2	%
pH (5 %, 20°C)	4.2-4.5		4.3	
arsenic (As)	max. 1	ppm	<1	ppm
cadmium (Cd)	max. 1	ppm	<1	ppm
copper (Cu)	max. 0.002	%	<0.002	%
iron (Fe)	max. 10	ppm	<10	ppm
mercury (Hg)	max. 1	ppm	<1	ppm
sodium (Na)	max. 0.1	%	<0.1	%
lead (Pb)	max. 1	ppm	<1	ppm
zinc (Zn)	max. 0.002	%	<0.002	%
heavy metals (as Pb)	max. 10	ppm	<10	ppm
chloride (Cl)	max. 10	ppm	<10	ppm
fluoride (F)	max. 10	ppm	<10	ppm
sulfate (SO <sub>4</sub> )	max. 200	ppm	<200	ppm
KMnO <sub>4</sub> red. matter (as O)	max. 0.04	%	<0.04	%
appearance of the solution	complying		complying	
residual solvents	complying		complying	

## Annexe 5: Certificat de conformité du Potassium phosphate monobasique

Page: 1

**Honeywell**

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Honeywell Specialty Chemicals Seelze GmbH  
 Wunstorferstrasse 40  
 Seelze, 30926  
 Telefon: +49 5137 999-0  
[lab.honeywell.com](http://lab.honeywell.com)

Brand: Honeywell Riedel-de Haën  
 Product: 34851  
 Lot No: L2340  
 Production date: 22.Aug.2021  
 Expiry Date: 12.Aug.2023

Acetonitrile CHROMASOLV, for HPLC, gradient grade, 99.9%
----------------------------------------------------------

Parameter	Specification	Units	Result	Units
assay (GC)	min. 99.90	%	>99.99	%
refractive index (n 20/D)	1.3435-1.3445		1.3439	
non-volatile matter	max. 0.0005	%	<0.0005	%
water (Karl Fischer)	max. 0.02	%	<0.001	%
free acid (as CH <sub>3</sub> COOH)	max. 0.001	%	<0.001	%
free alkali (as NH <sub>3</sub> )	max. 0.0002	%	<0.0002	%
absorbance at 400 nm	max. 0.0044		<0.0044	
absorbance at 250 nm	max. 0.0044		<0.0044	
absorbance at 235 nm	max. 0.0044		<0.0044	
absorbance at 230 nm	max. 0.0044		<0.0044	
absorbance at 200 nm	max. 0.032		<0.032	
absorbance at 195 nm	max. 0.12		<0.12	
fluorescence (chinin) at 254 nm	max. 1	ppb	<1	ppb
fluorescence (chinin) at 365 nm	max. 0.5	ppb	<0.5	ppb
HPLC-gradient at 210 nm	max. 3	mAU	<3	mAU
HPLC-gradient at 254 nm	max. 0.5	mAU	<0.5	mAU
baseline drift at 210 nm	max. 15	mAU	<15	mAU

## ANNEXES

**Annexe 6:** Résultats des absorbances des 12 prélèvements du princeps dans chaque milieu (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps)

### Tampon HCl à pH 1,2 :

Abs princeps	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	moyenne	CV
5min	0,1908	0,1908	0,2087	0,1796	0,1793	0,1789	0,1820	0,1810	0,1812	0,1886	0,1899	0,1893	0,1867	4,54
10min	0,3211	0,3194	0,3194	0,3180	0,3305	0,3327	0,3341	0,3349	0,3205	0,3207	0,3203	0,3199	0,3243	2,03
15min	0,3545	0,3509	0,3285	0,3467	0,3329	0,3488	0,3382	0,3453	0,3241	0,3557	0,3508	0,3505	0,3439	3,05
20min	0,3531	0,3518	0,3437	0,3546	0,3312	0,3538	0,3391	0,3475	0,3435	0,3487	0,3532	0,3566	0,3481	2,16
30min	0,3465	0,3547	0,3455	0,3549	0,3277	0,3511	0,3423	0,3460	0,3466	0,3583	0,3496	0,3485	0,3476	2,24
45min	0,3469	0,3468	0,3502	0,3524	0,3344	0,3465	0,3399	0,3426	0,3373	0,3537	0,3482	0,3495	0,3457	1,73
60min	0,3521	0,3554	0,3491	0,3538	0,3336	0,3536	0,3416	0,3507	0,3337	0,3609	0,3510	0,3480	0,3486	2,40
90min	0,3532	0,3570	0,3509	0,3353	0,3359	0,3512	0,3427	0,3438	0,3571	0,3593	0,3525	0,3522	0,3493	2,30

### Tampon acétate à pH 4,5:

Abs 23 13 002	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	moyenne	CV
5min	0,2355	0,2311	0,2315	0,2377	0,2390	0,2376	0,2323	0,2208	0,2371	0,2368	0,2114	0,2128	0,2303	4,26
10min	0,3135	0,3127	0,3253	0,3130	0,3253	0,3257	0,3174	0,3290	0,3271	0,3265	0,3293	0,3208	0,3221	1,98
15min	0,3391	0,3429	0,3472	0,3393	0,3442	0,3259	0,3366	0,3268	0,3360	0,3472	0,3447	0,3349	0,3387	2,11
20min	0,3412	0,3419	0,3578	0,3394	0,3457	0,3336	0,3531	0,3337	0,3470	0,3320	0,3346	0,3382	0,3415	2,38
30min	0,3412	0,3488	0,3453	0,3427	0,3480	0,3442	0,3345	0,3461	0,3317	0,3470	0,3490	0,3415	0,3433	1,60
45min	0,3449	0,3349	0,3518	0,3471	0,3463	0,3468	0,3418	0,3426	0,3399	0,3358	0,3368	0,3392	0,3423	1,52
60min	0,3431	0,3567	0,3544	0,3411	0,3412	0,3402	0,3451	0,3444	0,3438	0,3454	0,3416	0,3414	0,3449	1,53
90min	0,3473	0,3519	0,3403	0,3481	0,3528	0,3425	0,3436	0,3462	0,3464	0,3496	0,3386	0,3444	0,3460	1,26

### Tampon phosphate à pH 6,8 :

Abs princeps	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	Moy	CV
5min	0,0111	0,0155	0,0143	0,0158	0,0149	0,0180	0,0182	0,0183	0,0173	0,0176	0,0181	0,0196	0,0166	14,15
10min	0,0968	0,0925	0,0937	0,0980	0,1145	0,1002	0,1039	0,0950	0,0925	0,0922	0,0925	0,1052	0,0981	6,99
15min	0,1425	0,1451	0,1451	0,1370	0,1344	0,1372	0,1417	0,1401	0,1426	0,1474	0,1360	0,1406	0,1408	2,87
20min	0,1451	0,1353	0,1369	0,1401	0,1369	0,1404	0,1381	0,1422	0,1421	0,1433	0,1140	0,1347	0,1374	5,87
30min	0,1425	0,1422	0,1398	0,1447	0,1432	0,1475	0,1398	0,1417	0,1459	0,1387	0,1404	0,1404	0,1422	1,89
45min	0,1554	0,1565	0,1491	0,1469	0,1450	0,1527	0,1499	0,1493	0,1507	0,1480	0,1487	0,1500	0,1502	2,20
60min	0,1574	0,1467	0,1582	0,1569	0,1557	0,1569	0,1584	0,1596	0,1569	0,1572	0,1560	0,1535	0,1561	2,13
90min	0,1572	0,1585	0,1567	0,1589	0,1569	0,1558	0,1589	0,1585	0,1580	0,1587	0,1568	0,1570	0,1577	0,66

## ANNEXES

**Annexe 7:** Résultats des absorbances des 12 prélèvements de GA5 dans chaque milieu (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps)

### Tampon HCl à pH 1,2

Abs 23 13 002	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	moyenne	CV
5min	0,2355	0,2311	0,2315	0,2377	0,2390	0,2376	0,2323	0,2208	0,2371	0,2368	0,2114	0,2128	0,2303	4,26
10min	0,3135	0,3127	0,3253	0,3130	0,3253	0,3257	0,3174	0,3290	0,3271	0,3265	0,3293	0,3208	0,3221	1,98
15min	0,3391	0,3429	0,3472	0,3393	0,3442	0,3259	0,3366	0,3268	0,3360	0,3472	0,3447	0,3349	0,3387	2,11
20min	0,3412	0,3419	0,3578	0,3394	0,3457	0,3336	0,3531	0,3337	0,3470	0,3320	0,3346	0,3382	0,3415	2,38
30min	0,3412	0,3488	0,3453	0,3427	0,3480	0,3442	0,3345	0,3461	0,3317	0,3470	0,3490	0,3415	0,3433	1,60
45min	0,3449	0,3349	0,3518	0,3471	0,3463	0,3468	0,3418	0,3426	0,3399	0,3358	0,3368	0,3392	0,3423	1,52
60min	0,3431	0,3567	0,3544	0,3411	0,3412	0,3402	0,3451	0,3444	0,3438	0,3454	0,3416	0,3414	0,3449	1,53
90min	0,3473	0,3519	0,3403	0,3481	0,3528	0,3425	0,3436	0,3462	0,3464	0,3496	0,3386	0,3444	0,3460	1,26

### Tampon acétate à pH 4,5

Abs-G5-	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	Moy	CV
5min	0,0280	0,0282	0,0254	0,0348	0,0254	0,0328	0,0274	0,0254	0,0174	0,0366	0,0367	0,0282	0,0289	19,35
10min	0,0765	0,0902	0,0822	0,0731	0,0878	0,0833	0,0887	0,0674	0,0916	0,0703	0,0765	0,0766	0,0804	10,11
15min	0,0909	0,1023	0,0990	0,1017	0,1063	0,1007	0,1050	0,0988	0,0943	0,0895	0,0917	0,0908	0,0976	6,06
20min	0,1150	0,1166	0,1172	0,1198	0,1160	0,1108	0,1238	0,1073	0,1071	0,1060	0,1105	0,1064	0,1130	5,18
30min	0,1215	0,1328	0,1271	0,1237	0,1333	0,1319	0,1307	0,1277	0,1245	0,1281	0,1299	0,1392	0,1292	3,76
45min	0,1429	0,1466	0,1474	0,1489	0,1559	0,1580	0,1492	0,1492	0,1454	0,1469	0,1455	0,1454	0,1484	2,96
60min	0,1511	0,1532	0,1517	0,1502	0,1613	0,1688	0,1707	0,1571	0,1562	0,1629	0,1538	0,1511	0,1573	4,49
90min	0,1545	0,1662	0,1581	0,1521	0,1685	0,1757	0,1738	0,1633	0,1659	0,1605	0,1688	0,1594	0,3400	2,15

### Tampon phosphate à pH 6,8 :

Abs GA5	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	Moy	CV
5min	0,0258	0,0217	0,0258	0,0257	0,0270	0,0258	0,0196	0,0271	0,0258	0,0255	0,0255	0,0258	0,0251	8,71
10min	0,0893	0,0905	0,0842	0,0975	0,0901	0,0750	0,1148	0,1180	0,0995	0,0854	0,0747	0,1141	0,0944	15,66
15min	0,1088	0,1075	0,1122	0,1107	0,1125	0,1116	0,1000	0,1032	0,1144	0,1086	0,1076	0,1074	0,1087	3,74
20min	0,1246	0,1441	0,1320	0,1387	0,1389	0,1381	0,1392	0,1326	0,1344	0,1304	0,1311	0,1445	0,1357	4,35
30min	0,1573	0,1602	0,1606	0,1586	0,1663	0,1619	0,1659	0,1615	0,1618	0,1644	0,1663	0,1574	0,1619	2,02
45min	0,1691	0,1650	0,1694	0,1685	0,1685	0,1675	0,1672	0,1691	0,1641	0,1647	0,1691	0,1693	0,1676	1,17
60min	0,1719	0,1686	0,1673	0,1747	0,1714	0,1702	0,1723	0,1741	0,1762	0,1770	0,1699	0,1721	0,1721	1,71
90min	0,1750	0,1713	0,1616	0,1714	0,1704	0,1709	0,1758	0,1692	0,1751	0,1760	0,1736	0,1687	0,1716	2,36

## ANNEXES

**Annexe 8:** Résultats du pourcentage de libération de PA des 12 prélèvements du princeps dans chaque milieu (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps)

### Tampon HCl à pH 1,2 :

Q(%) princeps	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	moyenne
5min	56,16	56,16	61,42	52,86	52,77	52,65	53,57	53,27	53,33	55,51	55,89	55,72	54,94
10min	94,63	94,13	94,14	93,71	97,39	98,04	98,45	98,69	94,45	94,51	94,40	94,28	95,57
15min	104,55	103,49	96,89	102,25	98,20	102,88	99,76	101,85	95,60	104,90	103,46	103,37	101,43
20min	104,16	103,77	101,37	104,59	97,70	104,36	100,03	102,50	101,31	102,86	104,18	105,18	102,67
30min	102,21	104,63	101,91	104,69	96,67	103,57	100,97	102,06	102,24	105,68	103,13	102,80	102,55
45min	102,33	102,30	103,30	103,95	98,64	102,21	100,26	101,06	99,50	104,34	102,71	103,09	101,97
60min	103,86	104,83	102,98	104,36	98,40	104,30	100,76	103,44	98,44	106,45	103,54	102,65	102,83
90min	104,19	105,31	103,51	98,92	99,08	103,60	101,09	101,42	105,32	105,99	103,98	103,89	103,02
													764,99

### Tampon acétate à pH 4,5 :

Q(%) princeps	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	Moy
5min	10,68	10,26	10,02	13,70	11,98	13,76	10,20	13,76	12,52	8,19	9,61	10,38	11,25
10min	45,99	44,75	33,36	41,37	41,72	54,07	36,14	46,41	40,89	43,67	43,68	35,14	42,27
15min	68,25	65,23	66,98	67,00	70,91	68,33	69,89	68,31	66,70	68,25	68,37	68,29	68,04
20min	68,60	74,17	65,45	68,30	71,57	75,54	70,09	77,14	76,84	70,56	68,48	68,54	71,27
30min	79,45	82,73	77,37	81,95	80,59	81,66	75,07	80,96	80,72	76,02	82,66	83,07	80,19
45min	75,98	73,85	81,14	78,12	77,82	77,76	79,11	74,86	74,08	78,05	75,81	75,81	76,87
60min	83,62	98,86	91,94	96,44	95,85	96,68	100,18	97,62	92,75	92,94	97,32	83,86	94,01
90min	94,49	102,83	99,26	101,05	101,64	104,61	103,43	105,80	99,85	99,85	102,83	89,16	100,40
													544,30

### Tampon phosphate à pH 6,8 :

Q(%) princeps	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	Moy
5min	6,54	9,13	8,42	9,30	8,77	10,60	10,72	10,77	10,19	10,36	10,66	11,54	9,75
10min	57,01	54,48	55,19	57,72	67,43	59,02	61,20	55,96	54,48	54,31	54,48	61,96	57,77
15min	84,03	85,55	85,55	80,79	79,28	80,91	83,56	82,61	84,08	86,90	80,19	82,92	83,03
20min	85,62	79,85	80,79	82,67	80,78	82,84	81,49	83,91	83,85	84,56	67,30	79,49	81,10
30min	84,09	83,90	82,49	85,38	84,49	87,03	82,49	83,61	86,09	81,85	82,81	82,84	83,92
45min	91,68	92,33	87,97	86,68	85,56	90,10	88,44	88,09	88,92	87,32	87,73	88,50	88,61
60min	92,88	86,58	93,34	92,57	91,86	92,58	93,46	94,16	92,58	92,75	92,04	90,57	92,11
90min	92,76	93,51	92,47	93,76	92,58	91,94	93,76	93,53	93,23	93,64	92,52	92,64	93,03
													425,19

## ANNEXES

**Annexe 9:** Résultats du pourcentage de libération de PA des 12 prélèvements du GA5 dans chaque milieu (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps)

### Tampon HCl à pH 1.2

Q(%) 23 13 002	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	moyenne
5min	69,31	68,02	68,14	69,96	70,34	69,93	68,37	64,99	69,78	69,70	62,22	62,63	67,78
10min	92,42	92,19	95,89	92,28	95,90	96,02	93,57	96,98	96,43	96,25	97,06	94,56	94,96
15min	100,01	101,13	102,40	100,07	101,52	96,13	99,28	96,40	99,11	102,40	101,67	98,78	99,91
20min	100,64	100,85	105,54	100,12	101,97	98,40	104,15	98,43	102,35	97,94	98,71	99,76	100,74
30min	100,65	102,88	101,86	101,09	102,65	101,52	98,68	102,08	97,85	102,35	102,94	100,73	101,27
45min	101,74	98,80	103,77	102,38	102,15	102,30	100,82	101,06	100,26	99,06	99,36	100,06	100,98
60min	101,21	105,20	104,54	100,62	100,65	100,36	101,79	101,59	101,41	101,88	100,76	100,70	101,73
90min	102,44	103,81	100,39	102,68	104,06	101,03	101,36	102,12	102,18	103,12	99,88	101,59	102,05

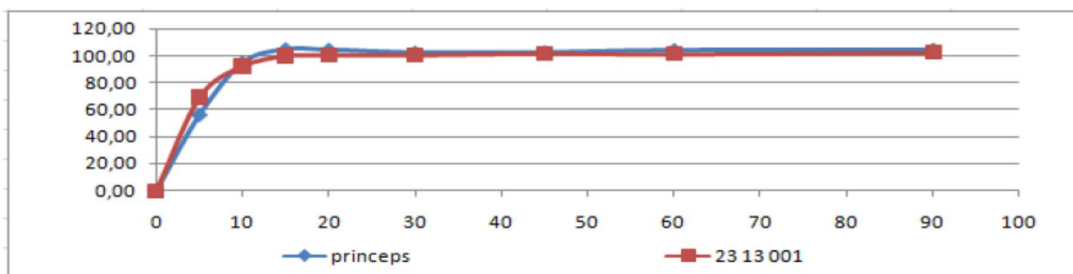
### Tampon acétate à pH 4,5 :

Q(%) -G5-	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	Moy
5min	16,61	16,73	15,07	20,64	15,07	19,45	16,25	15,07	10,32	21,71	21,77	16,73	17,12
10min	45,41	53,54	48,79	43,40	52,11	49,45	52,65	40,01	54,35	41,75	45,42	45,47	47,70
15min	54,02	60,80	58,83	60,42	63,17	59,84	62,40	58,69	56,05	53,18	54,49	53,96	57,99
20min	68,33	69,29	69,65	71,19	68,94	65,85	73,57	63,77	63,65	62,99	65,66	63,23	67,18
30min	72,22	78,92	75,54	73,53	79,22	78,38	77,69	75,89	73,99	76,12	77,19	82,71	76,78
45min	84,92	87,13	87,60	88,48	92,65	93,89	88,67	88,66	86,41	87,30	86,47	86,43	88,22
60min	89,81	91,06	90,17	89,29	95,88	100,33	101,45	93,38	92,84	96,82	91,42	89,82	93,52
90min	91,84	98,78	93,98	90,41	100,16	104,44	103,31	97,07	98,61	95,41	100,32	94,75	97,42

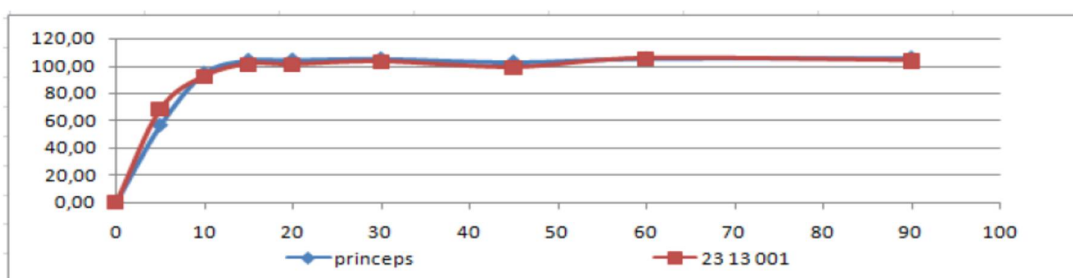
### Tampon phosphate à pH 6,8 :

Q(%) GA5	godet 1	godet 2	godet 3	godet 4	godet 5	godet 6	godet 7	godet 8	godet 9	godet 10	godet 11	godet 12	Moy
5min	15,19	12,78	15,19	15,13	15,90	15,19	11,54	15,96	15,19	15,01	15,01	15,19	14,77
10min	52,61	53,31	49,61	57,44	53,08	44,19	67,62	69,51	58,62	50,31	44,01	67,21	55,63
15min	64,17	63,41	66,17	65,30	66,35	65,80	59,03	60,92	67,49	64,05	63,45	63,38	64,13
20min	73,50	84,98	77,86	81,81	81,93	81,45	82,09	78,21	79,28	76,92	77,33	85,22	80,05
30min	92,78	94,51	94,73	93,56	98,09	95,50	97,86	95,26	95,44	96,96	98,08	92,86	95,47
45min	99,77	97,36	99,95	99,42	99,43	98,83	98,66	99,77	96,83	97,19	99,78	99,88	98,90
60min	101,43	99,48	98,72	103,08	101,14	100,43	101,66	102,73	103,96	104,43	100,25	101,55	101,57
90min	103,26	101,08	95,36	101,14	100,55	100,84	103,73	99,85	103,32	103,85	102,43	99,55	101,25
													76,47

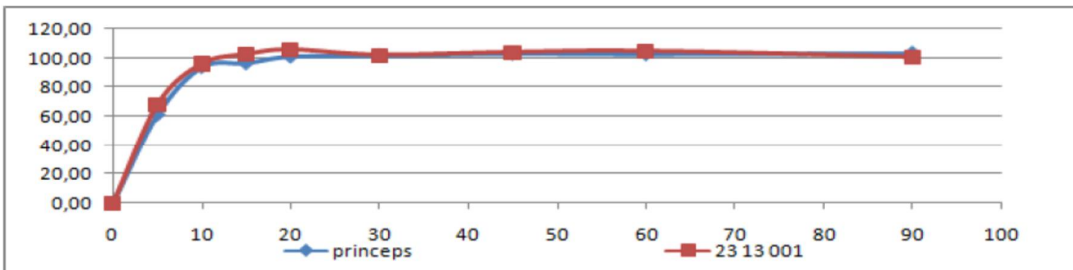
**Annexe 10:** les profils de dissolution du princeps et de GA5 dans chacun des 12 Godets à pH 1.2 (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps)



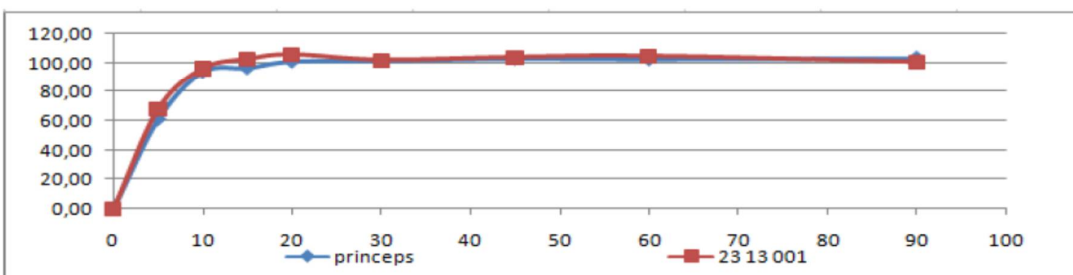
« Godet 1 »



« Godet 2 »

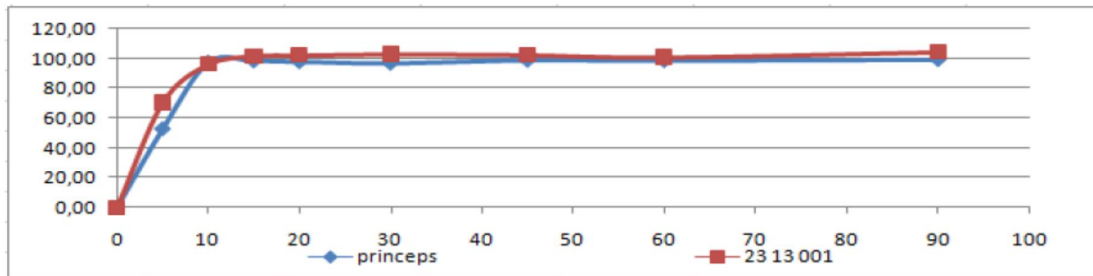


« Godet 3 »

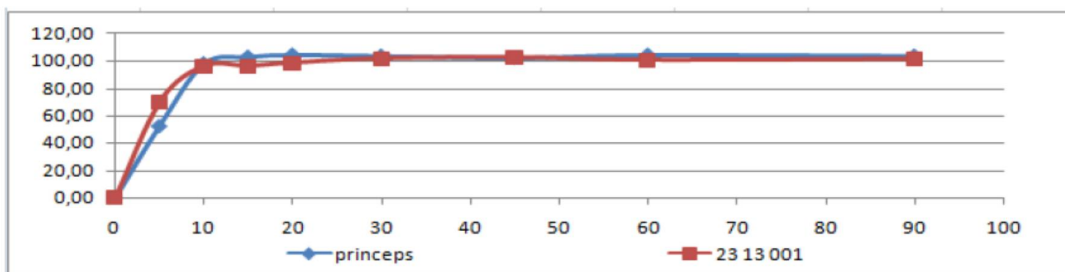


« Godet 4 »

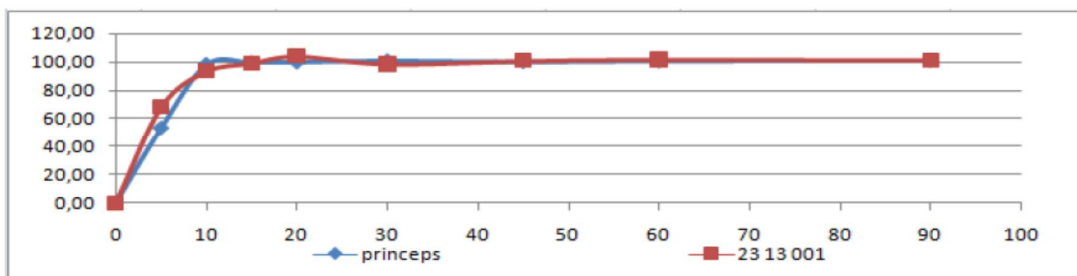
## ANNEXES



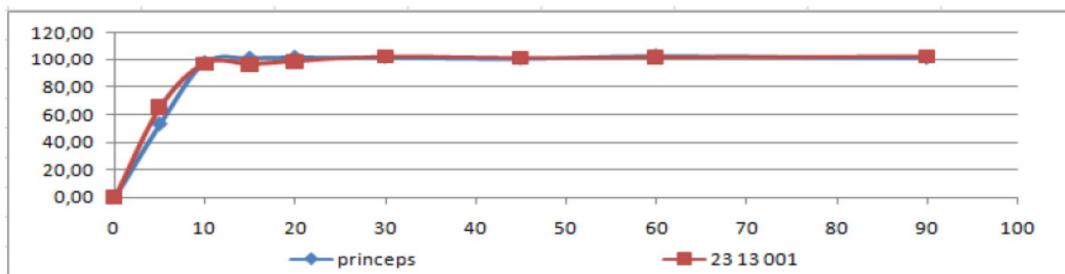
« Godet 5 »



« Godet 6 »

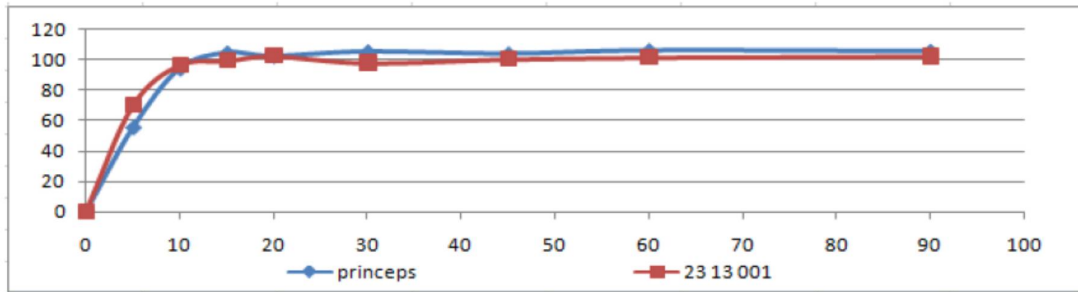


« Godet 7 »

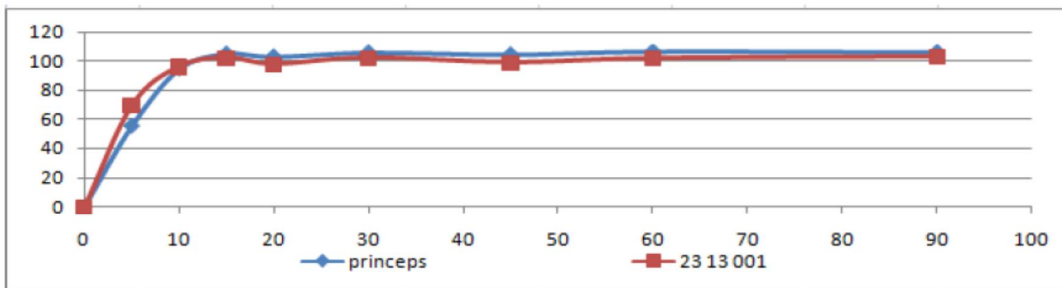


« Godet 8 »

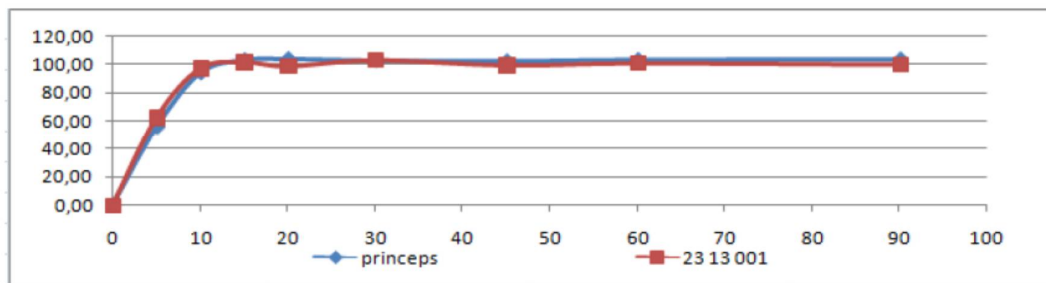
## ANNEXES



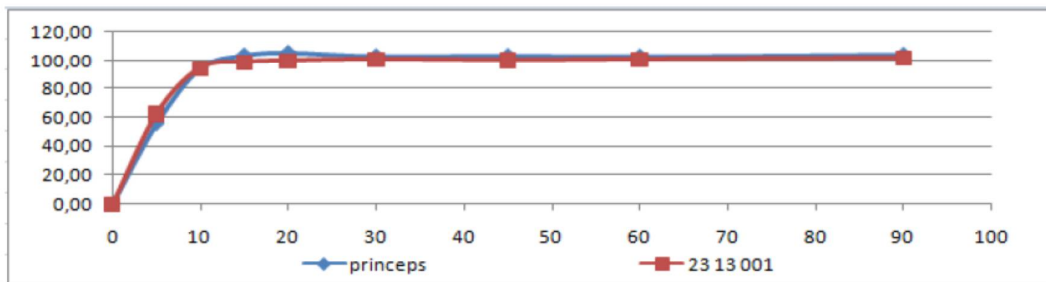
« Godet 9 »



« Godet 10 »

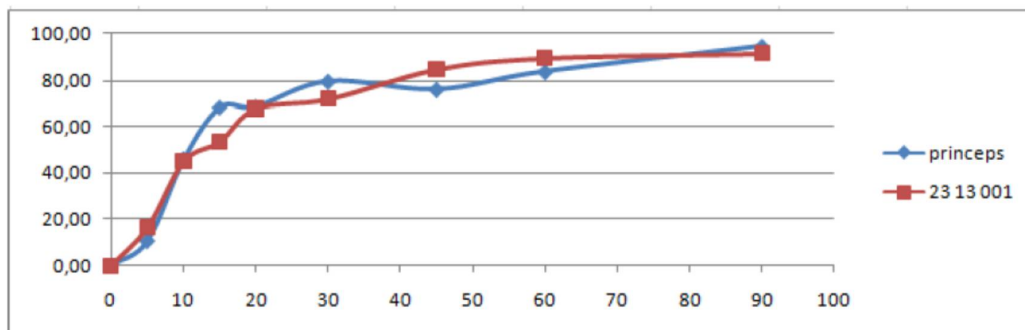


« Godet 11 »

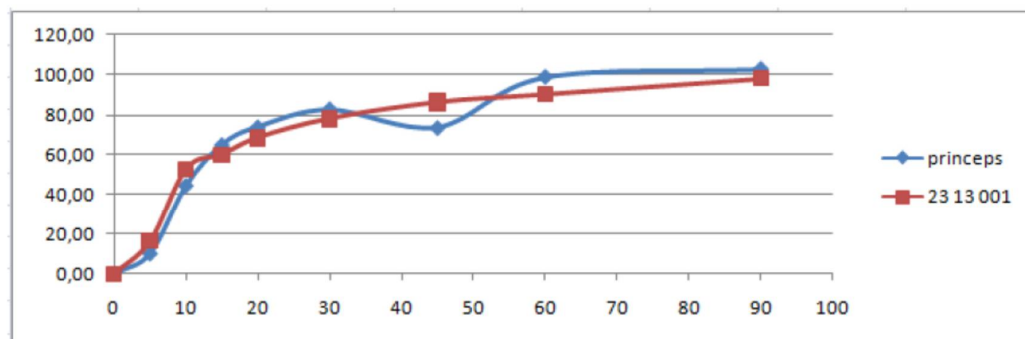


« Godet 12 »

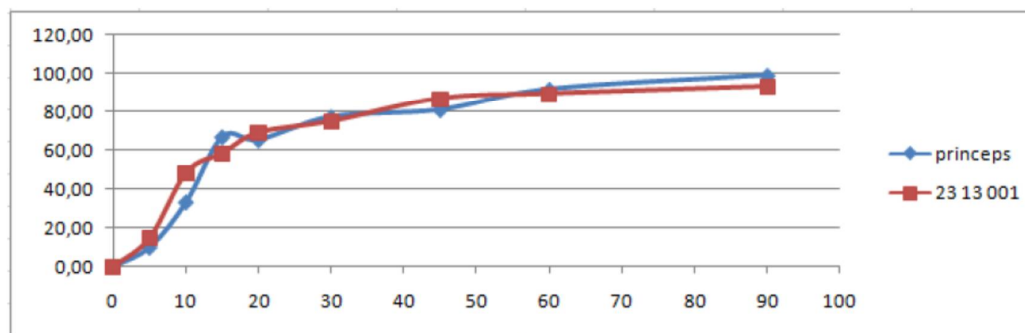
**Annexe 11:** les profils de dissolution du princeps et de GA5 dans chacun des 12 Godets à pH 4.5 (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps)



« Godet 1 »

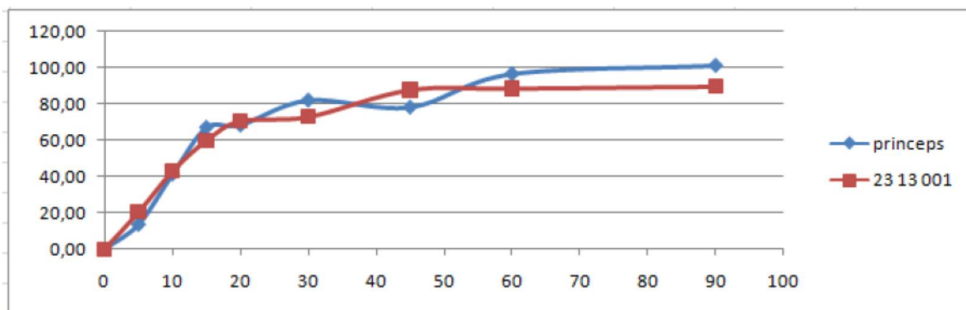


« Godet 2 »

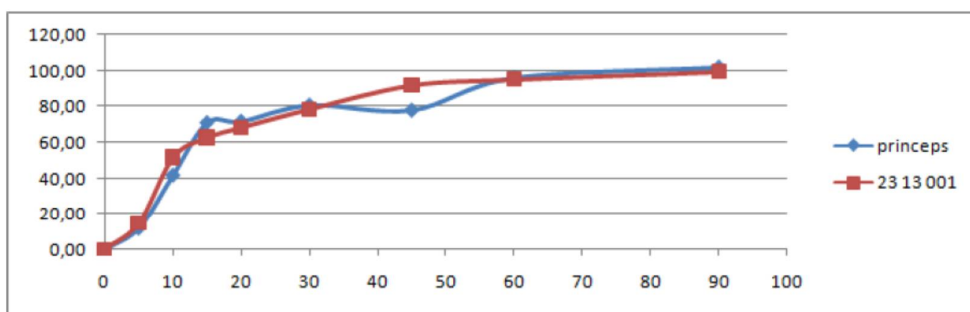


« Godet 3 »

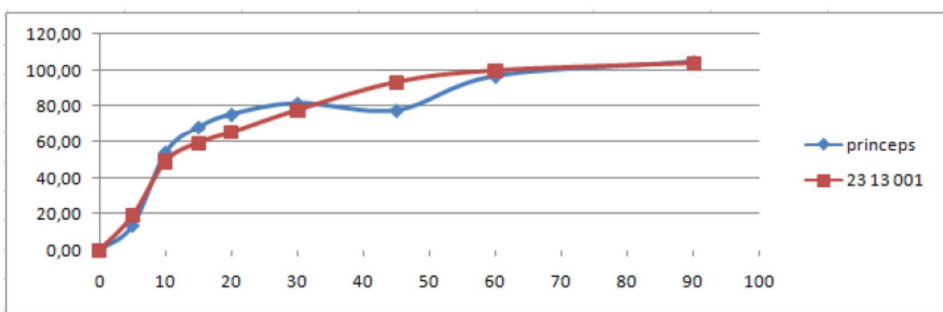
## ANNEXES



« Godet 4 »

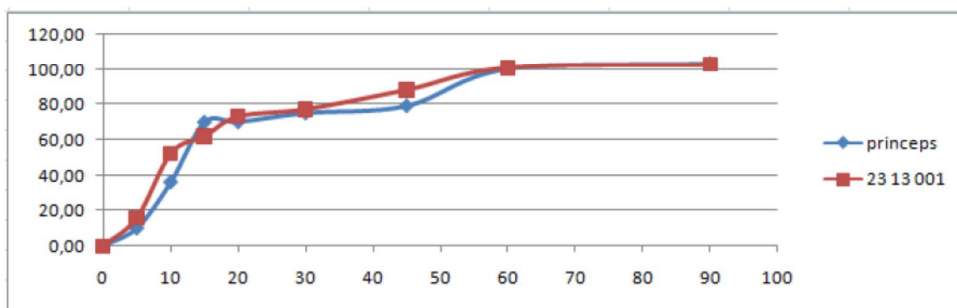


« Godet 5 »



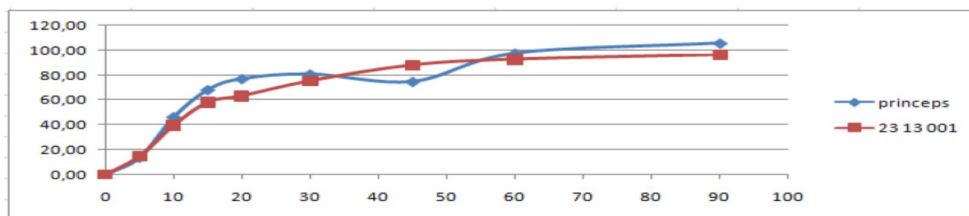
« Godet

6 »



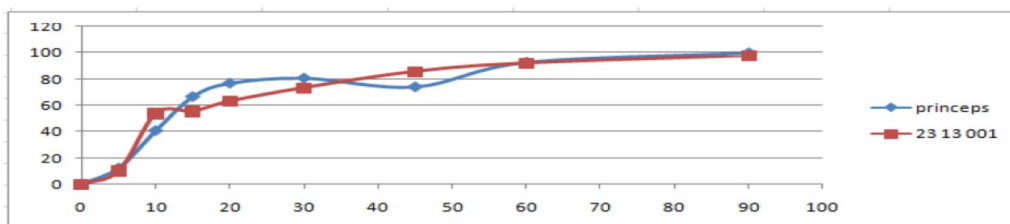
« Godet 7 »

## ANNEXES

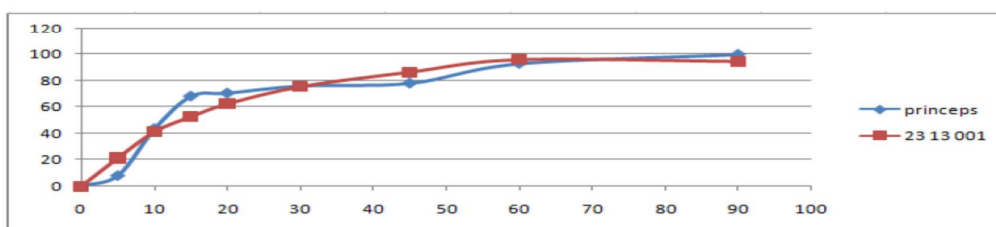


« Godet 8 »

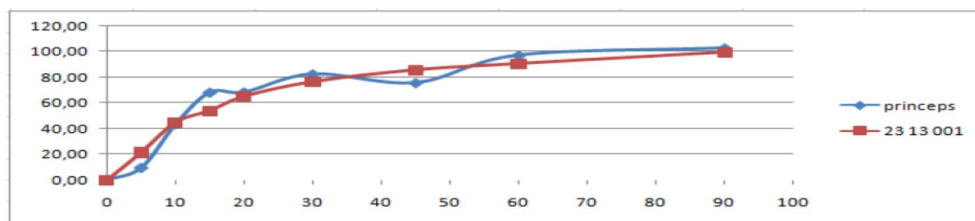
8 »



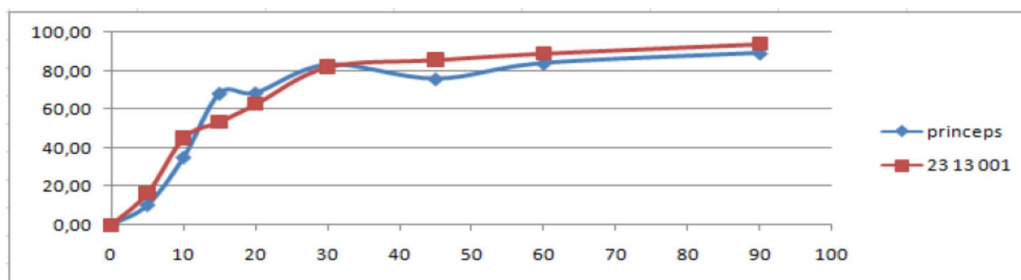
« Godet 9 »



« Godet 10 »



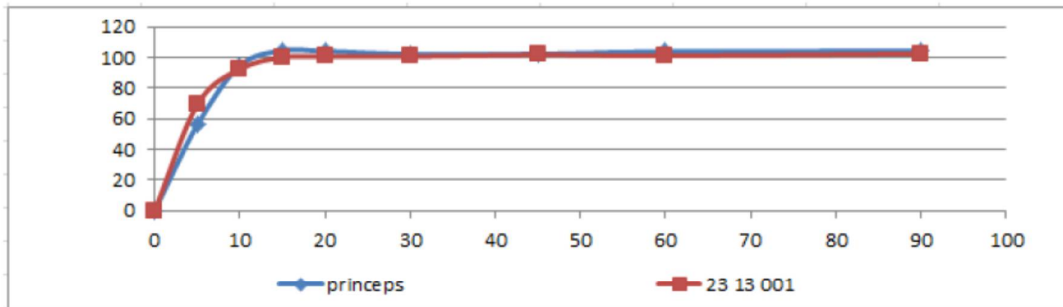
« Godet 11 »



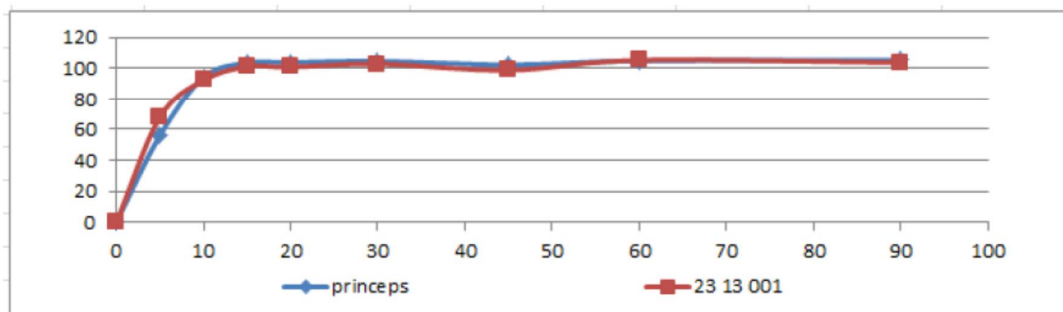
« Godet 12 »

## ANNEXES

**Annexe 12:** les profils de dissolution du princeps et de GA5 dans chacun des 12 Godets à pH 6.8 (étude pilote de bioéquivalence in vitro de GA05 & Princeps)

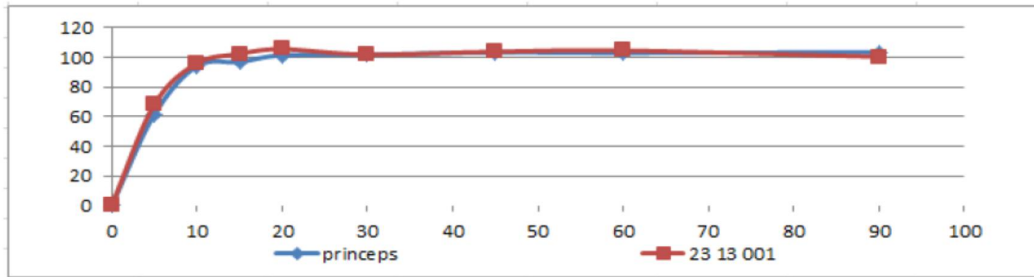


« Godet 1 »

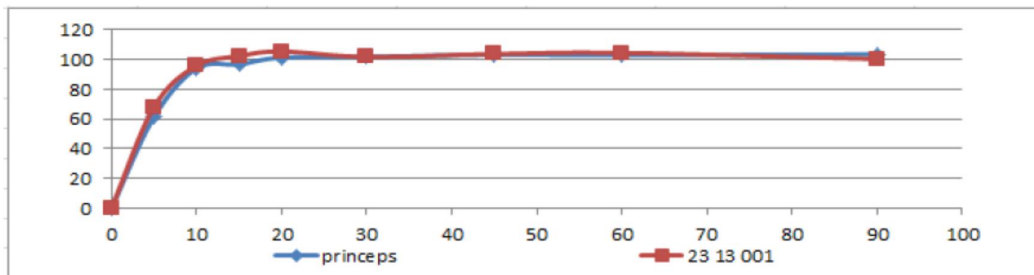


« Godet 2 »

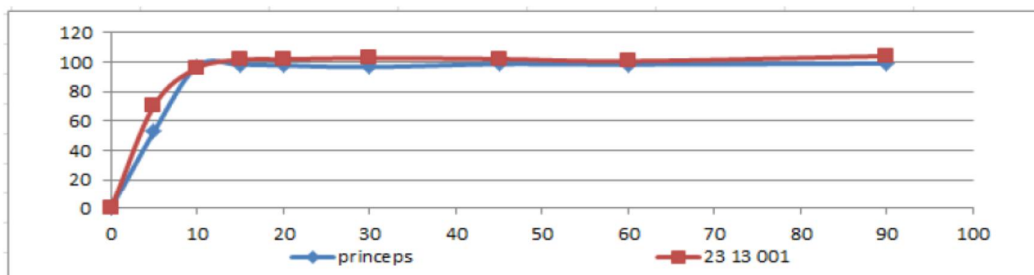
## ANNEXES



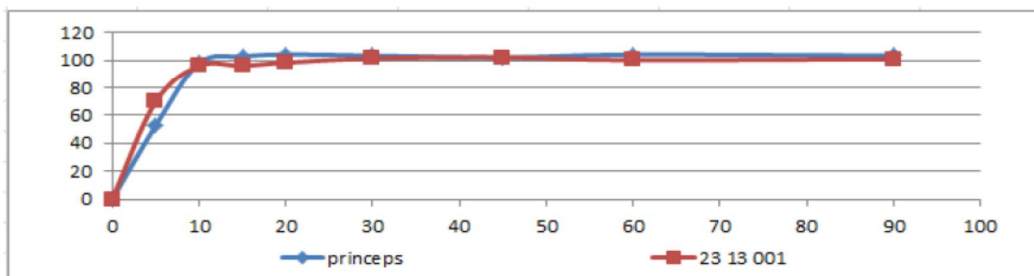
« Godet 3 »



« Godet 4 »

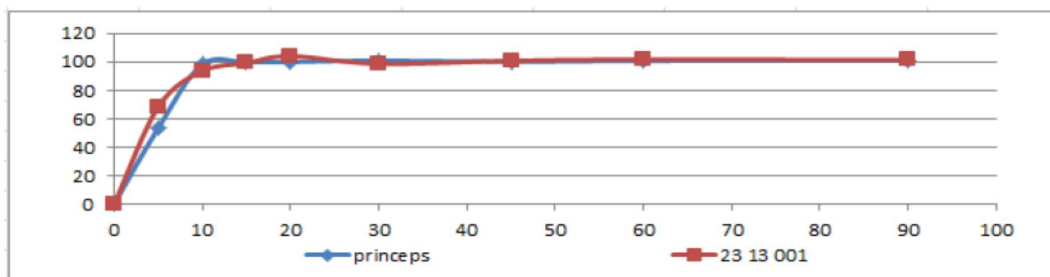


« Godet 5 »

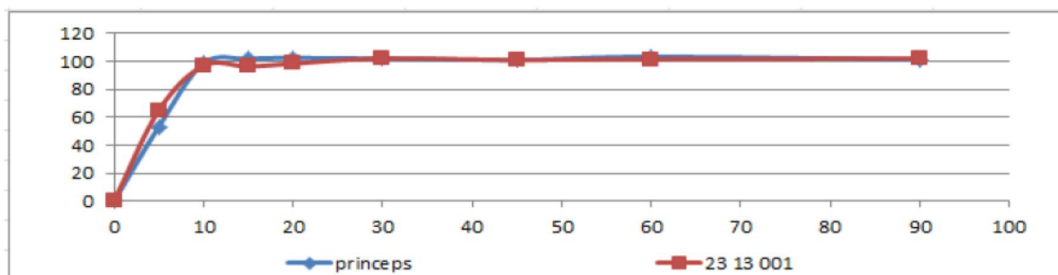


« Godet 6 »

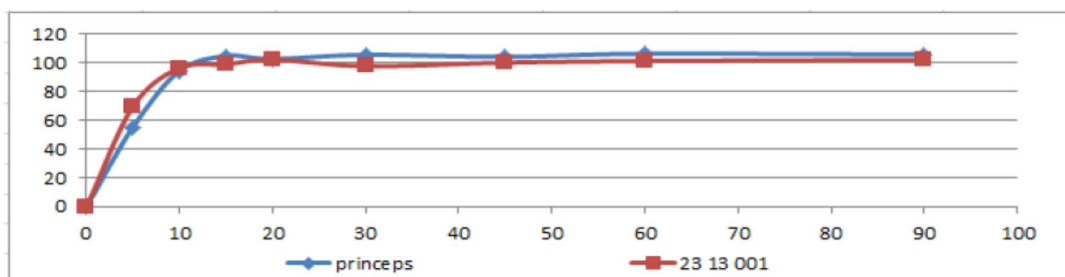
## ANNEXES



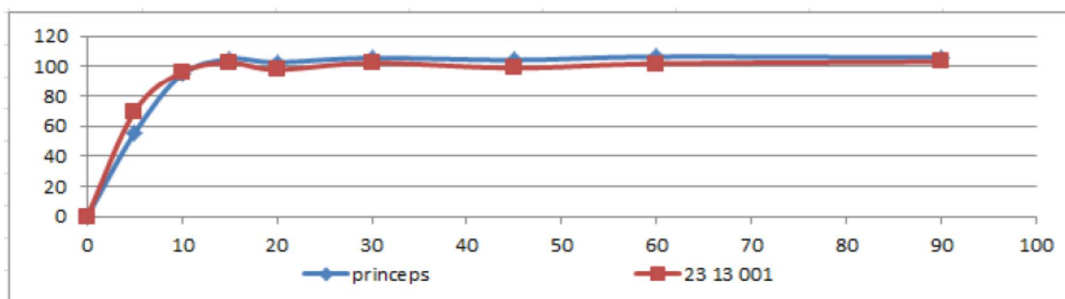
« Godet 7 »



« Godet 8 »



« Godet 9 »



« Godet 10 »

---

## Abstract

**Introduction:** In a global context where the quality of certain generic medications is highly debated, it is crucial to assess the situation in Algeria in order to evaluate the quality of available generic antibiotics. Although many generic amoxicillin drugs are available on the national market, few studies have been conducted to evaluate their pharmaceutical and pharmacodynamic quality. Our thesis aims to evaluate various aspects related to the pharmaceutical and pharmacodynamic quality of five generic amoxicillin drugs manufactured and marketed in Algeria, comparing them to the locally manufactured princeps version and the one manufactured in France.

**Materials and Methods:** We conducted a comprehensive evaluation of five generic amoxicillin drugs manufactured and marketed in Algeria (GA1, GA2, GA3, GA4, GA5) compared to the princeps (Algerian Clamoxyl and French Clamoxyl), focusing on their pharmaceutical, pharmacokinetic, and pharmacodynamic quality. We examined the organoleptic, pharmacotechnical, and chemical properties of the active ingredient, as well as the stability of the generics. We also performed five in vitro bioequivalence studies to evaluate pharmacokinetic quality. To evaluate pharmacodynamic quality, we studied the in vitro antibacterial activity and developed a method to evaluate the therapeutic efficacy of the generics compared to the princeps in vivo.

**Results:** The results of our study showed that four of the five tested generics were bioequivalent in vitro, while one was not. Stability tests showed that two generics had satisfactory stability under normal storage conditions but were unstable under accelerated conditions, while another generic was unstable under all stability conditions. Microbiological control tests concluded that some generics met microbiological quality standards, while others did not due to the presence of contaminations. Finally, the study compared the in vitro antibacterial activity of the generics with the princeps and found significant differences in their effectiveness against different bacterial strains.

**Conclusion:** Our results highlight the importance of a comprehensive evaluation of the pharmaceutical and pharmacodynamic quality of antibiotic generics and their interchangeability with the princeps.

**Keywords:** pharmaceutical quality, pharmacodynamic quality, antibiotic generics, amoxicill

---

---

## RESUMÉ

**Introduction:** Dans un contexte mondial où la qualité de certains médicaments génériques est vivement remise en question, il est essentiel d'examiner la situation en Algérie pour évaluer la qualité des génériques d'antibiotiques disponibles. Bien que de nombreux génériques d'amoxicilline soient disponibles sur le marché national, peu d'études ont été réalisées pour évaluer leur qualité pharmaceutique et pharmacodynamique. Notre thèse a pour objectif d'évaluer divers aspects liés à la qualité pharmaceutique et pharmacodynamique de cinq génériques d'amoxicilline fabriqués et commercialisés en Algérie, en les comparant à la version princeps fabriquée localement et à celle fabriquée en France.

**Matériel et méthode:** Nous avons procédé à une évaluation exhaustive de cinq génériques d'amoxicilline fabriqués et commercialisés en Algérie (GA1, GA2, GA3, GA4, GA5) par rapport au princeps (Clamoxyl Algérien et Clamoxyl Français), en nous concentrant sur leur qualité pharmaceutique, pharmacocinétique et pharmacodynamique. Nous avons examiné les propriétés organoleptiques, pharmacotechniques et chimiques du principe actif, ainsi que la stabilité des génériques. Nous avons également effectué cinq études de bioéquivalence in vitro pour évaluer la qualité pharmacocinétique. Pour évaluer la qualité pharmacodynamique, nous avons étudié l'activité antibactérienne in vitro et avons mis au point une méthode d'évaluation in vivo de l'efficacité thérapeutique des génériques par rapport au princeps.

**Résultats:** Les résultats de notre étude ont montré que quatre des cinq génériques testés étaient bio équivalents in vitro, tandis que l'un d'entre eux ne l'était pas. Les tests de stabilité ont montré que deux des génériques présentaient une stabilité satisfaisante dans des conditions normales de stockage, mais étaient instables sous des conditions accélérées, tandis qu'un autre générique était instable dans toutes les conditions de stabilité. Les tests de contrôle microbiologique ont conclu que certains génériques étaient conformes aux normes de qualité microbiologique, tandis que d'autres ne l'étaient pas en raison de la présence de contaminations. Enfin, l'étude a comparé l'activité antibactérienne in vitro des génériques par rapport aux princeps et a constaté des différences significatives dans leur efficacité contre différentes souches bactériennes.

**Conclusion:** Nos résultats soulignent l'importance d'une évaluation complète de la qualité pharmaceutique et pharmacodynamique des génériques d'antibiotiques et de leur interchangeabilité avec le princeps.

**Mots clés :** qualité pharmaceutique, qualité pharmacodynamique, génériques d'antibiotiques, amoxicilline.

---