

République Algérienne Démocratique et Populaire
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ FERHAT ABBAS SÉTIF 1
FACULTÉ DE MÉDECINE



DÉPARTEMENT DE PHARMACIE

**Application du concept Quality by Design « QbD » au sein
de l'industrie pharmaceutique**

THESE
POUR OBTENIR LE DIPLOME
DE DOCTORAT EN SCIENCES MÉDICALES

Soutenue par :

Mohamed Nadjib KAARAR

Maitre-assistant Hospitalo-Universitaire en Chimie Analytique

Le : 28 Mars 2023

Jury d'évaluation :

Pr BOUDENDOUNA Abdelhakim	Président	Faculté de Pharmacie d'Alger
Pr BENBOUDIAF Sabah	Membre	Faculté de médecine de Sétif
Pr CHERIF Redouane Amine	Membre	Faculté de Pharmacie d'Alger
Pr AYACHI Nabila	Membre	Faculté de médecine de Blida
Pr GHARBI Abdelaziz	Directeur	Faculté de médecine de Blida

REMERCIEMENTS

A Monsieur Pr BOUDENDOUNA Abdelhakim, Président de Jury

Merci de me faire l'honneur de présider le jury de cette thèse.

Votre dévouement et votre exemplarité ne peuvent que donner éclat et hauteur à cette thèse.

Vos remarques et constatations sur le travail m'ont été d'un grand apport. Soyez assurée de ma haute considération et de ma gratitude.

A Monsieur Pr GHARBI Abdelaziz, Directeur de Thèse

Merci de m'avoir accompagné tout au long de ce travail de thèse de l'état de projet, jusqu'à la rédaction en passant par les (nombreux) recueils de données.

Vos remarques, vos orientations et vos conseils m'ont permis de mettre en exergue les principaux résultats obtenus afin qu'ils soient bien exploités dans le futur.

Cela a été un plaisir et un privilège de travailler avec vous.

A Madame Pr BENBOUDIAF Sabah, Membre du Jury

Merci de me faire l'honneur d'apporter votre expérience à la critique de ce travail en siégeant dans mon jury de thèse. Je vous prie de bien vouloir accepter ma respectueuse considération et ma profonde gratitude.

A Madame Pr AYACHI Nabila, Membre du Jury

Votre présence au sein du jury est un grand honneur pour moi.

Votre compétence, votre sens profond de l'humanité ainsi que votre modestie sont connus de tous. Vous avez toujours fait preuve de disponibilité et de compréhension.

Je vous remercie du fond de mon cœur pour tout.

A Monsieur CHERIF Redouane Amine, Membre du Jury

Merci de me faire l'honneur d'évaluer le travail réalisé en participant à ce jury de thèse.

Je vous en suis reconnaissant. Vos remarques très judicieuses m'ont permis d'améliorer la présentation de cette thèse. Veuillez trouver en ces quelques phrases l'expression de ma gratitude et de mes remerciements.

Je ne peux oublier d'adresser mes remerciements à Pr MAMOU Merzouk pour son aide, ses recommandations et ses conseils qui m'ont permis d'améliorer ce travail.

*Ma gratitude et ma sympathie sont adressées également à **Mr ANDJECHAIRI Fayçal**, Responsable Unité Qualité, **Mme HADDAR Mounia**, Directrice de l'usine, **Mme ABDOUN Selma**, Responsable du Laboratoire Contrôle Qualité, **Mr BELADRAA Bilal**, Superviseur contrôle qualité, **Mr BOUGERN Khalil**, Superviseur contrôle qualité, **Mr SAADI Sofiane**, Responsable Assurance Qualité, ainsi qu'à toute l'équipe des laboratoires Hikma (Opérateurs de Production et opérateurs de laboratoire) pour leur aide, leurs conseils et leur dévouement durant toute la période de mon travail au sein de l'unité de production.*

*Enfin, un grand merci à **Pr Gouri Adel** pour ses conseils précieux qui m'ont aidé à rédiger cette thèse.*

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents avec tout mon amour

*A mon père qui a toujours été ma source de réconfort de soutien et
d'encouragements*

*A ma chère maman qui s'est sacrifiée durant toute sa vie pour le bonheur et
l'éducation de ses enfants et dont la seule fierté était leur réussite.*

*A ma grand-mère qui a été source de tendresse et de réconfort depuis ma tendre
enfance.*

A ma chère épouse Wafa

Aucun mot ne pourrait exprimer mon amour, ma gratitude et mon respect.

Depuis que je te connais, tu n'as cessé de me soutenir et de m'épauler.

A mes chers enfants Mohamed Amine et Ines

Puisse Allah vous procurer santé, réussite et bonheur.

A mes chères sœurs

*Je tiens à vous exprimer tout mon amour et mon bonheur de vous avoir eu à mes
côtés toutes ces années.*

Table des matières

Introduction générale.....	1
Revue bibliographique	
I. Approche QbD dans le développement galénique.....	4
I.1 : Définition et aspects réglementaires du QbD.....	4
I.2 : Comparaison entre l'approche traditionnelle et le QbD.....	7
I.3 : Les avantages du QbD.....	9
I.4 : Les éléments du QbD.....	9
I.4.1 : Le profil cible de qualité du produit.....	10
I.4.2 : Les attributs de qualité critiques.....	13
I.4.3 : L'évaluation des risques (Risk Assessment).....	22
I.4.3.1 : Diagramme d'Ishikawa (Fishbone diagram).....	24
I.4.3.2 : Analyse des modes de défaillance et de leurs effets (Failure Mode Effects Analysis, FMEA) / Analyse des modes de défaillance, de leurs effets et de leur criticité (Failure Mode Effects and Criticality Analysis, FMEAC)	25
I.4.3.3 : Analyse de l'arbre des défaillances (Fault Tree Analysis, FTA).....	29
I.4.3.4 : Analyse des risques et maîtrise des points critiques (Hazard Analysis and Critical Control Points, HACCP).....	31
I.4.3.5 : Analyse des risques et de l'exploitabilité (Hazard Operability Analysis, HAZOP).....	31
I.4.3.6 : Analyse préliminaire des risques (Preliminary Hazard Analysis, PHA).....	32
I.4.4 : Espace de conception (Design Space).....	34
I.4.4.1 : Plans de criblage.....	36
I.4.4.2 : Plans d'optimisation (Response Surface Methodology, RSM).....	42
I.4.4.3 : Analyse des résultats.....	61
1- L'analyse graphique.....	61
2- L'analyse mathématique et statistique	69
2-1- L'analyse mathématique	69
2-2- L'analyse statistique.....	73
I.4.5 : La stratégie de contrôle (Control Strategy).....	84
I.4.6 : La gestion du cycle de vie des produits et l'amélioration continue (Product Lifecycle Management and Continual Improvement).....	93
II. Approche QbD dans le développement de méthodes analytiques.....	95
II.1 : Définition et aspects réglementaires du QbD analytique	95
II.2 : Comparaison entre l'approche AQbD et le QbD.....	96
II.3 : Les avantages de l'AQbD.....	98
II.4 : Les éléments de l'AQbD.....	99
II.4.1 : Le profil cible analytique (Analytical Target Profile, ATP).....	99
II.4.2 : Les attributs de qualité critiques et l'évaluation initiale des risques (Critical Quality Attributes and Initial Risk Assessment).....	105
II.4.3 : L'évaluation quantitative des risques.....	110
II.4.3.1 : Analyse des modes de défaillance et des effets /Analyse des effets du mode de défaillance et de la criticité (AMDE/AMDEC) (Failure mode effects analysis/Failure mode effects and criticality analysis, FMEA/FMECA)	110
II.4.3.2 : Matrice des causes et des effets (Cause and effects matrix, C&E).....	115
II.4.4 : La conception d'expériences (Design of Experiments, DoE).....	119
II.4.4.1 : Sélection des plans.....	122
1- Plans de criblage.....	123
2- Plans d'optimisation.....	126
3- La robustesse.....	127
II.4.5 : La validation de la méthode.....	129

II.4.6 : La vérification continue des performances des procédures / La gestion du cycle de vie.....	140
Partie pratique	
Chapitre I : Matériel et méthodes	
I. Matériel et Méthodes.....	143
I.1 : Matériel.....	143
I.1.1 : Conception du produit.....	143
I.1.2 : Développement de la procédure analytique pour la détermination qualitative et quantitative des analytes.....	145
I.1.3 : Préparation des sachets pour l'établissement du design space.....	148
I.1.4 : Préparation des solutions pour l'établissement du design space et du MODR.....	148
I.1.5 : Préparation des solutions pour la validation de la méthode.....	150
I.1.6 : Logiciels utilisés.....	152
II. Méthodes.....	152
II.1 : Conception du produit.....	152
II.1.1 : Définition du profil cible de qualité du produit (QTPP).....	152
II.1.2 : Identification des attributs de qualité critiques (CQAs).....	152
II.1.3 : Evaluation des risques.....	152
II.1.4 : Conception d'expériences et développement d'un design space.....	153
II.1.5 : Conception et mise en œuvre d'une stratégie de contrôle et de surveillance continue du process (CPM, Continuous process monitoring).....	155
II.2 : Développement de la procédure analytique pour la détermination qualitative et quantitative des analytes.....	155
II.2.1 : Définition du profil cible analytique (ATP).....	155
II.2.2 : Identification des attributs de qualité critiques (CQAs).....	156
II.2.3 : Evaluation des risques.....	156
II.2.4 : Etablissement d'un MODR.....	157
II.2.5 : Validation de la méthode.....	159
II.2.6 : Planification d'une stratégie de contrôle.....	160
Chapitre II : Résultats	
1- Conception du produit.....	161
1-1 : Définition du QTPP.....	161
1-2 : Identification des CQAs.....	167
1-3 : Evaluation des risques.....	173
1-4 : Conception d'expériences et développement d'un design space.....	187
1-4-1 : Analyse des résultats.....	188
1-4-2 : Etablissement du design space.....	196
1-5 : Conception et mise en œuvre d'une stratégie de contrôle et de surveillance continue du process	199
2- Développement de la procédure analytique pour la détermination qualitative et quantitative des analytes.....	200
1-5 : Définition de l'ATP.....	200
1-6 : Identification des CQAs.....	210
1-7 : Evaluation des risques.....	213
1-8 : Conception d'expériences et développement d'un MODR.....	221
2-4-1 : Analyse des résultats du plan de criblage définitif pour la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur).....	222
2-4-2 : Etablissement du MODR.....	236
2-4-3 : Analyse des résultats du plan de criblage définitif pour la méthode RP-UHPLC (Solutions de résolution).....	239
2-4-4 : Etablissement du MODR.....	243

2-4-5 : Analyse des résultats du plan de criblage définitif pour la méthode RP-UHPLC (Dosage des impuretés).....	249
2-4-6 : Etablissement du MODR.....	288
2-5 : Validation de la méthode.....	290
2-5-1 : L'amoxicilline.....	293
2-5-1-1: Modèle linéaire passant par l'origine.....	293
2-5-1-2 : Modèle linéaire.....	300
2-5-1-3: Après transformation logarithmique des données.....	307
2-5-1-4: Après transformation racine carrée des données.....	314
2-5-2 : L'acide clavulanique.....	321
2-5-2-1: Modèle linéaire passant par l'origine.....	321
2-5-2-2: Modèle linéaire.....	328
2-5-2-3: Après transformation logarithmique des données.....	335
2-5-2-4: Après transformation racine carrée des données.....	342
2-6 : Etablissement des cartes contrôle.....	349
Chapitre III : Discussion	
Discussion.....	351
1- Conception du produit.....	351
1-1 : Définition du QTPP.....	351
1-2 : Identification des CQAs.....	352
1-3 : Evaluation des risques.....	353
1-4 : Conception d'expériences et développement d'un design space.....	359
1-5 : Conception et mise en œuvre d'une stratégie de contrôle et de surveillance continue du process	361
2- Développement de la procédure analytique pour la détermination qualitative et quantitative des analytes.....	363
2-1 : Etablissement de l'ATP.....	363
2-2 : Identification des CQAs.....	365
2-3 : Evaluation des risques.....	366
2-4 : Conception d'expériences et développement d'un MODR.....	375
2-5 : Validation de la méthode.....	393
2-6 : Etablissement des cartes contrôle.....	401
Conclusion et perspectives.....	402
Références bibliographiques.....	404
Résumé.....	421

Liste des Tableaux

N° du Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Liste des lignes directrices et activités liées au QbD	5
Tableau 2	Comparaison entre l'approche traditionnelle de la qualité par test et l'approche systématique de la qualité par conception	8
Tableau 3	Exemple d'un QTPP d'une poudre sèche pour suspension buvable	12
Tableau 4	Différents CQAs pour la substance médicamenteuse, les excipients, les matériaux en cours de production et le produit fini	15
Tableau 5	Numéro de priorité du risque : score basé sur les notes de gravité, d'occurrence et de détectabilité (ICHQ9 2005)	26
Tableau 6	Gestion des risques de qualité du processus de production typique par approche FMEA	27
Tableau 7	Exemple de matrice d'évaluation des risques : classement numérique et notation	32
Tableau 8	Descriptions de la gravité et de la probabilité (Norme ANSI Z590.3 PtD)	33
Tableau 9	Résumé des plans expérimentaux pour le criblage	37
Tableau 10	Plan factoriel complet à deux niveaux 2^3 . X_1 , X_2 et X_3 représentent les trois facteurs	38
Tableau 11	Colonnes de générateur pour certaines conceptions Plackett-Burman	39
Tableau 12	Plan factoriel fractionné de Plackett et Burman pour l'estimation des effets principaux de 11 facteurs à 2 niveaux	40
Tableau 13	Comparaison entre le nombre d'expériences requises pour le plan D-optimal et les autres plans factoriels	41
Tableau 14	Comparaison des caractéristiques de plans de criblage et d'optimisation	42
Tableau 15	Plan factoriel complet 3^3	44
Tableau 16	Approche séquentielle pour la réalisation d'un plan composite centré à trois facteurs en trois blocs	46
Tableau 17	Résumé des plans composites centraux les plus couramment utilisés pour 2-6 facteurs	47
Tableau 18	Matrice du plan composite central	48
Tableau 19	Plan de Box-Behnken pour trois facteurs d'entrée (X_1 , X_2 et X_3)	50
Tableau 20	Propriétés des plans de Doehlert	52
Tableau 21	Plans de Doehlert pour 2 à 3 facteurs	53
Tableau 22	Comparaison de l'efficacité du plan composite central (CCD), du plan de Box-Behnken (BBD) et du plan de Doehlert (DM)	54
Tableau 23	Sélecteur de tableau orthogonal Taguchi	59
Tableau 24	Analyse de la variance (ANOVA) pour la signification de la régression dans la régression multiple	74
Tableau 25	Désignation et signification des principaux résultats de l'ACP	82
Tableau 26	Quelques éléments de la stratégie de contrôle améliorée	88
Tableau 27	Comparaison entre l'approche QbD et AqBd	97
Tableau 28	Exemple d'éléments constituant un ATP	102
Tableau 29	Choix des méthodes analytiques pour les attributs de qualité critiques du produit	106

Tableau 30	CMPs et CQAs couramment rencontrés lors de divers développements de méthodes analytiques	107
Tableau 31	Matrice de priorisation pour l'évaluation initiale des risques pour l'optimisation d'une méthode HPLC	109
Tableau 32	Evaluation des risques typiques utilisés lors du développement d'une méthode analytique basée sur l'AQbD impliquant une estimation basée sur la FMEA	111
Tableau 33a	FMEA typique pour une méthode de dosage RP- HPLC	112
Tableau 33b	FMEA typique pour une méthode de dosage RP- HPLC	114
Tableau 34	Matrice d'évaluation des risques basée sur l'approche C-N-X pour une séparation chromatographique	116
Tableau 35	Analyse C-N-X combinée à l'approche FMEA pour une analyse HPLC	118
Tableau 36	Sélection des outils du DoE en AQbD	124
Tableau 37	Les caractéristiques de validation à considérer selon le type de méthode à valider	130
Tableau 38	Organisation des mesures du plan de validation	135
Tableau 39	Organisation des essais du plan d'étalonnage	136
Tableau 40	Principales fonctions de réponse utilisables pour un étalonnage	136
Tableau 41	Equations de prédiction inverse selon le type de la fonction de réponse	137
Tableau 42	Critères de fidélité et de justesse par niveau	137
Tableau 43	Résumé des différents éléments qui serviront au profil d'exactitude, incluant les limites des intervalles de tolérance par niveau	138
Tableau 44	Matières premières et équipements utilisés pendant la conception du produit	143
Tableau 45	Matières et équipements utilisés pendant le développement de la procédure analytique	145
Tableau 46	Teneur en eau des matières premières pour Amoclan [®] 8 :1 1G/125mg et niveaux des facteurs correspondants	154
Tableau 47	Niveaux des facteurs sélectionnés lors de la RP-HPLC	157
Tableau 48	Niveaux des facteurs sélectionnés lors de la RP-UHPLC (Solutions de résolution)	158
Tableau 49	Niveaux des facteurs sélectionnés lors de la RP-UHPLC (Dosage des impuretés)	158
Tableau 50	QTPP pour l'Amoclan [®] 8 :1 500mg/62,5mg sachets et Amoclan [®] 8 :1 1G/125mg sachets	162
Tableau 51	CQAs de l'Amoclan [®] 8 :1 500mg/62,5mg sachets et de l'Amoclan [®] 8 :1 1G/125mg sachets	168
Tableau 52	Evaluation initiale des risques des attributs de l'amoxicilline trihydratée	174
Tableau 53	Evaluation initiale des risques des attributs du clavulanate de potassium/dioxyde de silicium	175
Tableau 54	Evaluation initiale des risques des variables de formulation	176
Tableau 55	Evaluation initiale des risques des articles de conditionnement	177
Tableau 56	Evaluation initiale des risques du processus de production	178
Tableau 57	Echelles de gravité, d'occurrence et de détectabilité utilisées pour la FMECA	181
Tableau 58	Résultats de la FMECA	182

Tableau 59	Plan de criblage définitif et résultats expérimentaux pour l'Amoclan® 8 :1 1G/125mg sachets	187
Tableau 60	ATP de la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)	201
Tableau 61	ATP de la méthode RP-UHPLC (Solution de résolution et dosage des produits de dégradation)	205
Tableau 62	CQAs de la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)	211
Tableau 63	CQAs de la méthode RP-UHPLC (Solution de résolution et dosage des produits de dégradation)	212
Tableau 64	Evaluation initiale des risques des attributs de la méthode de dosage RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)	214
Tableau 65	Evaluation initiale des risques des attributs de la méthode RP-UHPLC (Solution de résolution et dosage des produits de dégradation)	215
Tableau 66	Echelles de gravité, d'occurrence et de détectabilité utilisées pour la FMECA	218
Tableau 67	Analyse C-N-X combinée à l'approche FMECA pour la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)	219
Tableau 68	Analyse C-N-X combinée à l'approche FMECA pour la méthode RP-UHPLC (Solution de résolution et dosage des produits de dégradation)	220
Tableau 69	Plan de criblage définitif et résultats expérimentaux pour la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)	221
Tableau 70	Plan de criblage définitif et résultats expérimentaux pour la méthode RP-UHPLC (Solutions de résolution)	238
Tableau 71	Plan de criblage définitif et résultats expérimentaux pour la méthode RP-UHPLC (Dosage des impuretés)	245
Tableau 72	Résultats de conformité de système	290
Tableau 73	Organisation des essais du plan d'étalonnage pour la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)	291
Tableau 74	Estimations des paramètres du modèle en fonction des séries pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)	293
Tableau 75	Critères de justesse pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)	295
Tableau 76	Critères de fidélité pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)	296
Tableau 77	Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)	297
Tableau 78	Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)	299
Tableau 79	Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire)	300
Tableau 80	Critères de justesse pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire)	302
Tableau 81	Critères de fidélité pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire)	303
Tableau 82	Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire)	304
Tableau 83	Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)	306
Tableau 84	Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'Amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)	307

Tableau 85	Critères de justesse pour l'Amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)	309
Tableau 86	Critères de fidélité pour l'Amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)	310
Tableau 87	Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'Amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)	311
Tableau 88	Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'Amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)	313
Tableau 89	Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'Amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)	314
Tableau 90	Critères de justesse pour l'Amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)	316
Tableau 91	Critères de fidélité pour l'Amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)	317
Tableau 92	Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'Amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)	318
Tableau 93	Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'Amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)	320
Tableau 94	Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)	321
Tableau 95	Critères de justesse pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)	323
Tableau 96	Critères de fidélité pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)	324
Tableau 97	Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)	325
Tableau 98	Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)	327
Tableau 99	Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire)	328
Tableau 100	Critères de justesse pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire)	330
Tableau 101	Critères de fidélité pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire)	331
Tableau 102	Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire)	332
Tableau 103	Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire)	334
Tableau 104	Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'Acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)	335
Tableau 105	Critères de justesse pour l'Acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)	337
Tableau 106	Critères de fidélité pour l'Acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)	338
Tableau 107	Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'Acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)	339
Tableau 108	Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'Acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)	341

Tableau 109	Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'Acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)	342
Tableau 110	Critères de justesse pour l'Acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)	344
Tableau 111	Critères de fidélité pour l'Acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)	345
Tableau 112	Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'Acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)	346
Tableau 113	Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'Acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)	348
Tableau 114	Limites de contrôle supérieures et inférieures de la résolution	349
Tableau 115	Limites de contrôle supérieures et inférieures du nombre de plateaux théoriques de l'amoxicilline	349
Tableau 116	Limites de contrôle supérieures et inférieures du nombre de plateaux théoriques de l'acide clavulanique	350

Liste des Figures

N° de la Figure	Titre	Page
Figure 1	Flux d'entrée et de sortie du profil cible de qualité du produit	13
Figure 2	Processus de détermination de la criticité d'un attribut de qualité	14
Figure 3	Relation entre CMAs, CPPs et CQAs pour une opération d'unité	18
Figure 4	Arbre de décision PDA pour désigner la criticité des paramètres	21
Figure 5	Aperçu d'un processus typique de gestion du risque qualité	23
Figure 6	Analyse préliminaire d'évaluation des risques (diagramme d'Ishikawa)	24
Figure 7	Diagramme d'arbre de défauts pour une contamination croisée entre deux produits	30
Figure 8	Relation entre la connaissance, la conception et l'espace de contrôle	34
Figure 9	Modèle théorique d'une situation spécifique du monde réel	35
Figure 10	Représentation géométrique du plan factoriel complet à deux niveaux 2^3	38
Figure 11	Plan factoriel fractionnaire à deux niveaux : 2^{3-1}	39
Figure 12	Cycle de la colonne du générateur pour P-B 12	40
Figure 13	Représentation de la matrice du plan factoriel complet à trois niveaux 3^3	45
Figure 14	Représentation de la matrice (a) du plan factoriel complet à trois niveaux 3^3 et de la matrice du plan composite centré (CCD) (b) pour trois facteurs d'entrée	49
Figure 15	Plan de Box-Behnken pour trois facteurs	50
Figure 16	Représentation de la matrice (a) du plan factoriel complet à trois niveaux 3^3 et (b) de la matrice du plan de Box-Behnken pour trois facteurs d'entrée	51
Figure 17	Plan de Doehlert pour l'étude de deux facteurs, où les points sont régulièrement disposés sur un hexagone et il y a un point central	52
Figure 18	Plan de mélanges en réseaux pour trois produits purs et leur mélange	55
Figure 19	Plan de mélanges centré	55
Figure 20	Plan de mélanges centré augmenté	55
Figure 21	Représentation géométrique des mélanges à deux constituants	56
Figure 22	Représentation géométrique des mélanges ternaires	56
Figure 23	Représentation géométrique des mélanges quaternaires	57
Figure 24	Plans en réseau croisé utilisés dans la méthode Taguchi	57
Figure 25	Surface de réponse et contre-graphiques pour linéaire (a), linéaire + interaction (b)	60
Figure 26	Surface de réponse et contre-graphiques pour les fonctions linéaires + quadratiques (c) et les fonctions complètes (d) du modèle	61
Figure 27	Diagramme à barres	62
Figure 28	Diagramme des effets principaux	63
Figure 29	Diagramme des interactions	63
Figure 30	Graphique en cube avec réponse	64
Figure 31	Graphique de Pareto des effets des facteurs	64
Figure 32	Diagramme de Daniel : a) Droite de Henry, b) Demi-droite de Henry	65
Figure 33	Diagramme de Daniel des valeurs résiduelles	66
Figure 34	Diagramme de Daniel des valeurs résiduelles (Résidus en fonction des valeurs ajustées)	67

Figure 35	Courbes d'isoréponses	67
Figure 36	Fonction de désirabilité avec valeur particulière et plateau	68
Figure 37	Tracé de la surface de réponse du modèle de second ordre	69
Figure 38	Matrice de données utilisée dans l'analyse en composantes principales	80
Figure 39	Diagramme de dispersion de deux principaux composants	80
Figure 40	Comparaison de contrôles traditionnels avec des contrôles avancés pour la libération en temps réel d'une forme posologique solide orale.	85
Figure 41	Interrelation entre la stratégie de contrôle et l'espace de conception	92
Figure 42	Nombre de publications scientifiques sur l'AQbD de 2010 à 2018	96
Figure 43	Flux de travail AQbD pour le développement des méthodes analytiques	99
Figure 44	Cycle de vie d'une procédure analytique	100
Figure 45	Représentation graphique de l'ATP	104
Figure 46	Relation entre les attributs de la méthode, des matériaux et les CQAs	105
Figure 47	Diagramme d'Ishikawa (cause à effet) pour le développement d'une méthode de chromatographie liquide	108
Figure 48	Schéma des étapes de mise en œuvre du QbD (a) et de l'AQbD (b)	119
Figure 49	Organigramme de conception expérimentale	121
Figure 50	Classification des plans expérimentaux utilisés en AQbD	122
Figure 51	Profil d'exactitude établi avec 3 niveaux de concentration	139
Figure 52	Cartes de contrôle	141
Figure 53	Structure de l'Amoxicilline trihydratée	144
Figure 54	Structure du clavulanate de potassium	144
Figure 55	Relation entre p-CMAs et CQAs	179
Figure 56	Relation entre p-CPPs et CQAs	180
Figure 57	Design space pour la conception de Amoclan [®] 8 :1 1G/125mg sachets	197
Figure 58	Applications du PAT pour le processus de production de l'Amoclan [®] 8 :1 500mg/62,5mg et l'Amoclan [®] 8 :1 1G/125mg sachets	199
Figure 59	Diagramme d'Ishikawa de la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)	216
Figure 60	Diagramme d'Ishikawa de la méthode RP-UHPLC (Solution de résolution et dosage des produits de dégradation)	217
Figure 61	MODR pour la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)	237
Figure 62	MODR pour la méthode RP-UHPLC (Solutions de résolution)	244
Figure 63	MODR pour la méthode RP-UHPLC (Dosage des impuretés)	289
Figure 64	Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)	294
Figure 65	Profil d'exactitude pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)	298
Figure 66	Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)	299
Figure 67	Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire)	301
Figure 68	Profil d'exactitude pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire)	305
Figure 69	Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'Amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)	306

Figure 70	Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'Amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)	308
Figure 71	Profil d'exactitude pour l'Amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)	312
Figure 72	Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'Amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)	313
Figure 73	Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'Amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)	315
Figure 74	Profil d'exactitude pour l'Amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)	319
Figure 75	Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'Amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)	320
Figure 76	Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)	322
Figure 77	Profil d'exactitude pour l'Acide Clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)	326
Figure 78	Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)	327
Figure 79	Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire)	329
Figure 80	Profil d'exactitude pour l'Acide Clavulanique (Modèle linéaire)	333
Figure 81	Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'Acide clavulanique (Modèle linéaire)	334
Figure 82	Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'Acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)	336
Figure 83	Profil d'exactitude pour l'Acide Clavulanique (Après transformation logarithmique des données)	340
Figure 84	Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'Acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)	341
Figure 85	Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'Acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)	343
Figure 86	Profil d'exactitude pour l'Acide Clavulanique (Après transformation racine carrée des données)	347
Figure 87	Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'Acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)	348
Figure 88	Cartes de contrôle de la résolution	349
Figure 89	Cartes de contrôle du nombre de plateaux théoriques de l'amoxicilline	349
Figure 90	Cartes de contrôle du nombre de plateaux théoriques de l'acide clavulanique	350

Liste des abréviations et des acronymes

ACP : Analyse en composante principale
ACS : Analytical control strategy
AMDE : Analyse des modes de défaillance et des effets
AMDEC : Analyse des effets du mode de défaillance et de la criticité
AMPC: Analytical Method Performance Characteristic
ANOVA: Analysis of variance
ANSI: American National Standards Institute
APC: Advanced Process Control
API: Active Pharmaceutical Ingredient
AQbD : Analytical Quality by Design
ATG : Analytical Technical group
ATP : Analytical target profile
AV : Acceptance value
BBD : Box-Behnken design
BCS : Biopharmaceutics Classification System
BLUE : Best linear unbiased estimator
BP : British Pharmacopoeia
BPF : Bonnes pratiques de fabrication
C : Controlled Factors
C&E : Cause-and effects matrix
CAP : Critical Analytical Parameter
CCD : Central Composite Designs
cGMPs : current Good Manufacturing Practices
CMAs : Critical Material Attributes
CMAs : Critical Method Attributes
CMCs : Critical Material Controles
CMPs : Critical Method Parameters
CMV : Critical Method Variables
CPM : Continuous process monitoring
CPPs : Critical Process Parameters
CQAs : Critical Quality Attributes
DM : Doehlert matrix
DoE : Design of Experiments
DS : Design space
DSDs : Definitive screening designs
ECs : Established Conditions
EFPIA : European Federation of Pharmaceutical Industries and Association
EMA : European Medicines Agency
EMA : European Medicines Evaluation Agency
EPA : Environmental Protection Agency
FMEA : Failure Mode Effects Analysis
FMEAC : Failure Mode Effects and Criticality Analysis
ft : Facteur de trainée
FTA : Fault Tree Analysis
GC : Gaz Chromatography
GC-MS : Gas chromatography-mass spectrometry
HACCP : Hazard Analysis and Critical Control Points
HAZOP : Hazard Operability Analysis
HPG : D-hydroxyphenylglycine
HPLC : High Performance Liquid Chromatography

HPTLC : High Performance Thin Layer Chromatography
 HVAC : Heating, Ventilation and Air Conditioning
 IBW : Instrumental bandwidth
 ICH : International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For
 Registration Of Pharmaceuticals For Human Use
 ISO/IEC : International Organization for Standardization/International Electrotechnical
 Commission
K' : Facteur de rétention
 KPP : Key Process Parameters
 LCL : Lower Control Limit
 LC-MS : Liquid Chromatography–Mass Spectrometry
 LOD : Limit of detection
 LOQ : Limit of quantitation
 MODR : Method Operable Design Region
 MVA : Multivariate analysis
 N : Noise Factors
 N : Nombre de plateaux théoriques
 NICHD : National Institute of Child Health and Human Development
 NIR : Near Infra Red
 NMT : Not more than
 OFAT : One factor at a time
 OMS : Organisation mondiale de la santé
 OOC : Out of Control
 OOS : Out of Specification
 OOT : Out Of Trend
 OTR : Oxygen Transmission Rate
 PAT : Process analytical technology
 P-B : Plackett-Burman
 p-CMAs : Potential Critical Materials Attributes
 p-CMPs : Potential Critical Method Attributes
 p-CPPs : Potential Critical Process Attributes
 PDA : Parenteral Drug Association
 PHA : Preliminary Hazard Analysis
 PhRMA : Pharmaceutical Research and Manufactures of America
 PLS : Partial least squares
 PP : Paramètres de processus
 PRESS : prediction error sum of squares
 PtD : Prevention through Design
 PTFE : Polytétrafluoroéthylène
 PVDF : Polyfluorure de vinylidène
 QbD : Quality by Design
 QbT : Quality by Testing
 QRA : Quality Risk Assessment
 QTPP : Quality Target Product Profile
 Quality Risk Management, QRM
 RCRA : Resource Conservation and Recovery Act
 RMSE : Root Mean Square Error
 RP-HPLC : Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography
 RPN : Risk Priority Number
 RP-UHPLC : Reversed Phase Ultra High Performance Liquid Chromatography
 Rs : Résolution

RSM : Response Surface Methodology
RTRt : Real-Time Release testing
S/B : signal/bruit
SFSTP : Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques
SOP : Standard Operating Procedure
TMU : Target Measurement Uncertainty
Tr : Temps de rétention
TRR : Temps de rétention relatifs
UCL : Upper Control Limit
UFC : Unité formant colonie
UHPLC : Ultra High Performance Liquid Chromatography
UPLC-MS/MS : Ultrapformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry
USFDA : U.S. Food and Drug Administration
USP : United States Pharmacopeia
VIM : Vocabulaire International de Métrologie
VIP : Variable Importance for the Projection
WS : Working standards
WVTR : Water Vapour Transmission Rate
X : Experimental Factors

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Introduction générale

Les industries pharmaceutiques sont conscientes de l'importance de la qualité, de la sécurité et de l'efficacité de leurs produits qui sont directement liées à la santé publique. Ces industries sont des secteurs sensibles, réglementés et régis par des organismes officiels qui mettent en avant la qualité pharmaceutique. Cette qualité revêt une grande importance car elle fait référence à des produits répondant à des exigences afin qu'ils fournissent aux patients un bénéfice thérapeutique reproductible et exempt de toute contamination qui peut présenter un risque sanitaire.

Dans ce contexte, il est nécessaire de contrôler la qualité des produits pharmaceutiques par la mise en place de processus de fabrication fiables permettant de fournir en permanence des produits conformes aux spécifications et le développement de méthodes analytiques précises, robustes et économiques afin de s'assurer de la qualité du médicament, vérifier sa pureté aux différentes étapes de production et faciliter sa mise sur le marché.

Cependant, les critiques sur la qualité des produits pharmaceutiques ont augmenté ces derniers temps, car bien que la réglementation actuelle sur les bonnes pratiques de fabrication (BPF) soit en place depuis longtemps, il existait un écart entre la capacité du système de production pharmaceutique et la qualité fournie lié à la gestion des risques, ce qui a amené les organismes de réglementation tels que l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (U.S. Food and Drug Administration, USFDA) à affirmer la nécessité d'approches systématiques pour le développement des médicaments.[1–3]

Traditionnellement, le développement et la fabrication des produits pharmaceutiques faisait appel au modèle Quality by Testing (QbT) où seule la qualité du produit était garantie par des contrôles hors ligne (avec un long délai de rétroaction) tels que les contrôles sur les matières premières et sur les substances médicamenteuses, les contrôles sur les produits en cours de production et les contrôles sur les produits finis, mais la qualité n'était pas garantie.[4–6]

Le développement des méthodes analytiques utilisées pour le contrôle était aussi basé sur des essais qui étudiaient un facteur à la fois (one factor at a time, OFAT) où un paramètre seul était optimisé pour la réponse attendue tandis que d'autres restaient constants, mais cette méthodologie prenait du temps, nécessitait un grand nombre d'expériences et présentait un risque élevé d'échec car elle ne permettait pas de caractériser correctement la relation entre les facteurs critiques de la méthode et les réponses nécessitant toujours une revalidation après le transfert de méthode ou pendant le développement de méthodes alternatives.[7,8]

Introduction générale

Il est désormais largement reconnu qu'un élément important du système d'assurance qualité est la gestion des risques associés au produit pharmaceutique comme indiqué dans l'International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use (ICH) Q9 par l'introduction de procédures de contrôle adaptées au risque encouru tout au long du processus.[9]

Cette approche est la base d'une stratégie systématique appelée le Quality by Design (QbD) ou la qualité par conception qui a été proposée par le Dr. Joseph M. Juran dans les années 1960, et qui est devenue aujourd'hui privilégiée et fortement recommandée par les organismes de réglementation telle que l'USFDA, aux États-Unis, et l'Agence européenne des médicaments (European Medicines Agency, EMA) dans l'Union Européenne. [9–11]

Ce concept s'est aussi étendu aux méthodes analytiques sous le nom d'Analytical Quality by Design (AQbD) qui relie l'évaluation des risques dans le choix de la méthode et de ses résultats attendus en utilisant un espace de conception permettant ainsi d'atteindre une qualité optimale, une flexibilité réglementaire et une réduction des résultats hors spécification (Out of Specification, OOS), hors tendance (Out of Trend, OOT) et hors contrôle (Out of control, OOC).[12,13]

L'objectif principal de ce travail est d'appliquer la démarche QbD et AQbD dans le développement du processus de production et dans l'optimisation des méthodes analytiques de contrôle d'un produit fini : Amoclan[®] 8 :1, qui est une association amoxicilline /acide clavulanique 8 :1 sous forme d'une poudre pour suspension buvable en sachet avec deux dosages : 1g/125mg et 500mg/62,5mg.

L'application de l'approche QbD est destinée :

- En premier lieu à développer une meilleure conception du produit avec moins de problèmes dans la production et permettre la mise en œuvre de nouvelles technologies de production sans examen réglementaire supplémentaire.
- Ensuite, la démarche AQbD sera appliquée en vue d'améliorer la robustesse des méthodes analytiques, faciliter leur transfert au niveau de la production et avoir une plus grande conformité avec les autorités réglementaires.
- L'intégration de ces nouveaux concepts dans le secteur industriel pharmaceutique permettra aux industries nationales de se doter d'outils efficaces pour développer et améliorer leurs processus de production et mettre au point des méthodes de contrôles robustes à faible coût, ce qui améliorera considérablement la qualité des médicaments.

Introduction générale

Cela permettra aussi à ces industries de se hisser aux normes de qualité des industries pharmaceutiques européennes et américaines et facilitera l'approbation et l'exportation des médicaments produits en Algérie dans ces espaces économiques.

REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Approche QbD dans le développement galénique

I.1 : Définition et aspects réglementaires du QbD

Historiquement, l'intégration de la qualité dans le développement pharmaceutique a officiellement commencé avec la publication d'un document d'orientation en août 2002 par l'USFDA sur les current Good Manufacturing Practices (cGMPs) intitulé « Pharmaceutical cGMPs for the 21st Century : A Risk-Based Approach ». Ensuite, plusieurs directives réglementaires, qui sont énumérées dans le (Tableau 1) ont été publiées par d'autres agences afin d'améliorer et réglementer la qualité des produits pharmaceutiques.[13,14]

En Europe, c'est en juillet 2003 à Bruxelles, qu'ont eu lieu les premières discussions ICH avec un accord sur une nouvelle vision et des guidelines ICH ont été élaborées afin de faciliter l'implémentation du QbD par les firmes pharmaceutiques.[15]

En 2005, la ligne directrice de l'ICH Q8(R2) définit le QbD comme une « *Approche systématique du développement, fondée sur la gestion des risques liés à la qualité et sur des données scientifiques robustes, qui est instaurée en fonction d'objectifs prédéfinis et qui est axée sur la compréhension du produit et du procédé ainsi que sur le contrôle des procédés.* »

Ce concept qui englobe la conception et le développement de formulations et de processus de production peut être utilisé pour toutes les formes posologiques afin de garantir les spécifications prédéfinies des produits. [16,17]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Tableau 1 : Liste des lignes directrices et activités liées au QbD

Agence	Lignes directrices/Activités	Mois/année	Réf.
USFDA	Pharmaceutical cGMPs for the 21st Century - A Risk-Based Approach : Second Progress Report and Implementation Plan	Septembre 2003	[14]
USFDA	Guidance for Industry: PAT ¹ - A Framework for Innovative Pharmaceutical Development, Manufacturing, and Quality Assurance	Septembre 2004	[18]
USFDA	Pharmaceutical CGMPs for the 21st Century - A Risk-Based Approach: Final Report	Septembre 2004	[19]
EMA²	The European Medicines Agency Road Map to 2010 : Preparing the Ground for the Future	Mars 2005	[20]
ICH	Quality Risk Management (Q9)	Novembre 2005	[9]
ICH	Pharmaceutical Quality System (Q10)	Juin 2008	[21]
ICH	Pharmaceutical Development (Q8(R2))	Août 2009	[16]
OMS³	WHO ⁴ Guideline on Quality Risk Management	Août 2010	[22]
EMA	Road map to 2015	Décembre 2010	[23]
USFDA	Guidance for Industry : Process Validation : General Principles and Practices	Janvier 2011	[24]
ICH	ICH-Endorsed Guide for ICH Q8/Q9/Q10 Implementation	Décembre 2011	[25]
EMA	ICH Quality IWG Points to consider for ICH Q8/Q9/Q10 guidelines	Février 2012	[26]
EMA	Guideline on Real Time Release Testing (formerly Guideline on Parametric Release)	Mars 2012	[27]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

(Suite)

USFDA	Quality by Design for ANDAs: An Example for Immediate-Release Dosage Forms	Avril 2012	[28]
ICH	Development and Manufacture of Drug Substances (Chemical Entities and Biotechnological/Biological entities) (Q11)	Mai 2012	[29]
EMA-USFDA	EMA-FDA pilot program for parallel assessment of Quality-by-Design applications : lessons learnt and Q&A resulting from the first parallel assessment	Août 2013	[30]
EMA	Guideline on process validation for finished products - information and data to be provided in regulatory submissions	Novembre 2016	[31]
EMA-USFDA	Final Report from the FDA-EMA pilot program for the parallel assessment of quality-by-design elements of marketing applications	Avril 2017	[32]
ICH	ICH Q14 : Analytical Procedure Development and Revision of Q2(R1) Analytical Validation	Novembre 2018	[33]
ICH	Technical And Regulatory Considerations for Pharmaceutical Product Lifecycle Management Q12	Novembre 2019	[34]
ICH	Continuous Manufacturing of Drug Substances And Drug Products Q13	Juillet 2021	[35]

¹ PAT : Process Analytical Technology

² EMEA : European Medicines Evaluation Agency

³ OMS: Organisation mondiale de la santé

⁴ WHO : World Health Organization

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

I.2 : Comparaison entre l'approche traditionnelle et le QbD

L'approche traditionnelle, aussi appelée approche QbT, a été utilisée à un stade précoce dans les BPF. Elle repose sur le contrôle du produit final en restreignant la flexibilité des processus de production, et en testant le produit final (tests de matières premières et de substances médicamenteuses, production du produit : tests en cours de processus et tests de produits finis) et la qualité n'est pas garantie (Tableau 2).[5,36]

D'un autre côté, les BPF ont un impact indésirable sur la compréhension de la science de la fabrication sans prendre en considération la compréhension fondée sur les risques. [36]

Dans ce contexte, le nouveau concept de QbD est aujourd'hui largement préféré et fortement recommandé par les agences de réglementation : l'USFDA et la EMA.[5]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Tableau 2 : Comparaison entre l'approche traditionnelle de la qualité par test et l'approche systématique de la qualité par conception.[37,38]

QbT	QbD
La qualité est assurée par des tests et des inspections de temps en temps	La qualité est intégrée au produit et au processus dès la conception, basée sur une compréhension scientifique
Le développement de processus est empirique, aléatoire avec des expériences univariées	Implique le développement de processus systématique avec des expériences multivariées
Le processus de production est fixe et les nouveaux changements sont difficile à mettre en place	Le processus de production est flexible et peut être ajusté dans l'espace de conception en se concentrant principalement sur la stratégie de contrôle avec une vérification continue permettant de mettre en place des innovations
Le processus se concentre principalement sur la reproductibilité sans tenir compte de la variabilité	Le processus vise principalement à atteindre la robustesse en comprenant et en contrôlant la variabilité
Dans le processus, le contrôle de la qualité se base sur les tests en cours et l'analyse hors ligne avec des réponses lentes	La technologie d'analyse des processus (Process analytical technology, PAT) est principalement utilisée pour le contrôle des processus et la rétroaction en temps réel
L'espace de conception n'est pas bien défini avec des intervalles de fonctionnement étroites	L'espace de conception est bien défini pour une qualité de produit supérieure
La spécification du produit dépend principalement des données obtenues à partir de petits lots et est attribuée aux futurs lots	La performance du produit détermine principalement la spécification du produit (sécurité et efficacité)
Tests de qualité rétrospectifs (finaux et intermédiaires) : chaque lot doit être testé par rapport aux spécifications du produit pour garantir la qualité et la cohérence de la production	Tests de qualité en temps réel : le contrôle du processus est basé sur le risque et fournit des preuves suffisantes que les lots répondront aux spécifications s'ils sont testés, ce qui permet une libération des lots en temps réel

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

(Suite)

Besoin de modifications après approbation pour toute amélioration de processus apportée	Toute modification se fait par une amélioration continue dans l'espace de conception et ne nécessite pas de changement post-approbation
Les données réglementaires concernent principalement la caractérisation du produit et la description du processus	Les données réglementaires distinguent principalement la façon dont les attributs des matériaux et les paramètres du processus influent sur les attributs critiques de la qualité et la façon dont ils ont été modifiés pendant la production

I.3 : Les avantages du QbD

Les avantages réclamés pour QbD comprennent :

- Meilleure conception du produit par l'utilisation d'outils tels que le plan d'expérience (Design of Experiments, DoE), la PAT, l'analyse multivariée (Multivariate analysis, MVA) et l'évaluation des risques ;
- Raccourcissement du temps de développement de médicaments et réduction du coût global de fabrication ;
- L'amélioration continue par l'application de nouvelles méthodes afin d'optimiser la robustesse du processus et la qualité du produit ;
- Moins de problèmes dans la fabrication et moins de gaspillage ;
- Approbation réglementaire plus rapide et mise en œuvre de nouvelles technologies de production sans contrôle réglementaire.[39,40]

I.4 : Les éléments du QbD

Le QbD pharmaceutique est constitué des éléments suivants :

- Le profil cible de qualité du produit (Quality Target Product Profile, QTPP) ;
- Les attributs de qualité critiques (Critical Quality Attributes, CQAs) ;

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

- L'évaluation des risques (Risk Assessment) ;
- L'espace de conception (Design Space) ;
- La stratégie de contrôle (Control Strategy) ;
- La gestion du cycle de vie du produit et amélioration continue (Product Lifecycle Management and Continual Improvement).

I.4.1 : Le profil cible de qualité du produit

Le QTPP est un élément essentiel d'une approche QbD dans le développement des médicaments. Cet aspect moderne de la conception des produits commence par la définition d'objectifs qualitatifs et quantitatifs de qualité, utilisés pour sélectionner et concevoir le produit commercialisé prévu en fonction des besoins cliniques et commerciaux et des propriétés physicochimiques de la substance active. [41–43]

D'après l'ICH Q8(R2) : « *Le profil cible de qualité du produit constitue la base de la conception de la mise au point du produit. Les facteurs à considérer pour le profil cible de qualité du produit sont notamment :*

- *L'utilisation prévue en milieu clinique, la voie d'administration, la forme posologique et les modes d'administration du médicament ;*
- *La concentration ;*
- *Le contenant et dispositif de fermeture ;*
- *La libération de la fraction thérapeutique et les attributs qui ont une incidence sur les caractéristiques pharmacocinétiques, exemple : dissolution, propriétés aérodynamiques) correspondant à la forme posologique du produit pharmaceutique mis au point ;*
- *Les critères de qualité du produit pharmacologique (Exemple : stérilité, pureté, stabilité et libération du médicament) appropriés pour le produit destiné à la commercialisation. »[16]*

Ces exigences qui sont appelées "attributs de qualité" représentent un résumé prospectif des caractéristiques de qualité d'un produit médicamenteux à atteindre (Tableau 3) qui, idéalement, seront obtenues pour assurer la qualité souhaitée, en tenant compte de l'innocuité et de

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

l'efficacité du produit médicamenteux en se concentrant sur les stades de développement chimique, de production et de contrôle. [16,43,44]

Par conséquent, l'absence d'un QTPP bien défini engendre une perte de temps et de précieuses ressources, d'où l'importance de définir un bon QTPP avant de procéder à tout développement.[45]

Une série de considérations critiques doivent être prises dans l'établissement du QTPP tels que les connaissances scientifiques (Expériences accumulées en laboratoire, connaissances précliniques et cliniques), les exigences des autorités sanitaires et les propriétés intrinsèques du principe actif (Active Pharmaceutical Ingredient, API) (Figure 1), car à la fin le QTPP ne doit inclure que les éléments de performance du produit pertinents pour le patient.[46,47]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Tableau 3 : Exemple d'un QTPP d'une poudre sèche pour suspension buvable.[48]

Éléments du QTPP		Cible	Justification
Forme galénique		Solide	Exigence d'équivalence pharmaceutique : même forme galénique
Formulation		Poudre sèche pour suspension buvable	Conception nécessaire pour répondre aux revendications de l'étiquette
Voie d'administration		Orale	Exigence d'équivalence pharmaceutique : même voie d'administration
Dosage		200mg/5mL	Exigence d'équivalence pharmaceutique
Attributs de qualité des produits pharmaceutiques	Attributs physiques	Exigence d'équivalence pharmaceutique : doit répondre aux mêmes recueils ou autres normes (qualité) applicables (c'est-à-dire identité, dosage, pureté et qualité)	
	Identification		
	Essai		
	Uniformité de teneur		
	Dissolution		
	Teneur en eau		
Stabilité		Durée de conservation d'au moins 24 mois à température ambiante	Durée de conservation équivalente ou supérieure à la formulation commercialisée
Système de fermeture du récipient		Système de fermeture qualifié comme approprié pour ce produit médicamenteux	Nécessaire pour atteindre la durée de conservation cible et pendant l'expédition

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Dans le développement des médicaments génériques, le QTPP est défini sur la base des caractéristiques de la molécule mère, et doit comprendre tous les attributs du produit qui sont nécessaires pour garantir une sécurité et une efficacité équivalentes au princeps.[28]

Le QTPP est un document évolutif qui peut changer à mesure que de plus amples informations deviennent disponibles, impliquant une réévaluation et une mise à jour pour refléter les nouvelles connaissances sur le produit et les changements dans le programme de développement clinique.[49]

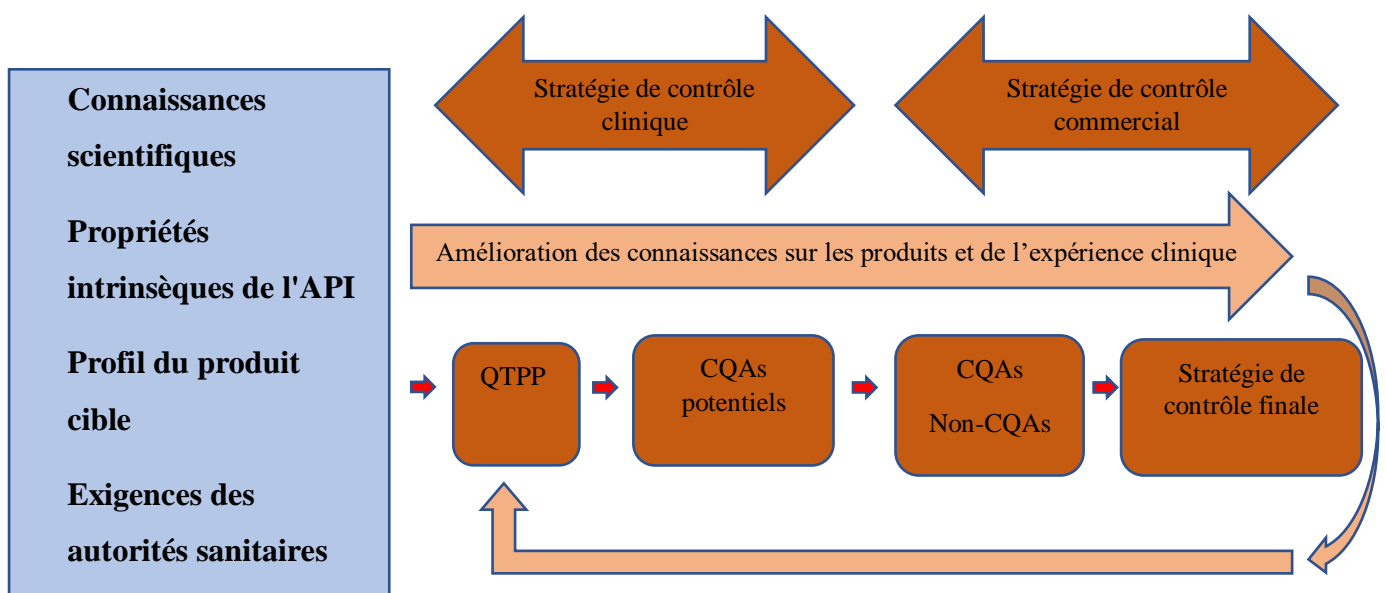


Figure 1 : Flux d'entrée et de sortie du profil cible de qualité du produit .[49]

I.4.2 : Les attributs de qualité critiques

L'identification des CQAs du produit pharmaceutique est l'étape suivante du développement d'un produit médicamenteux robuste.[45]

D'après l'ICH Q8(R2) : « Un CQA est une propriété ou une caractéristique physique, chimique, biologique ou microbiologique qui doit se situer dans une limite, un intervalle ou une distribution appropriée pour garantir la qualité du produit souhaitée. Les CQAs sont généralement associés à la substance médicamenteuse, aux excipients, aux intermédiaires (matières en cours de fabrication) et au produit médicamenteux. »[16]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

La criticité d'un attribut, qui influence la qualité du produit final et qui peut être étudiés ou contrôlés, est principalement basée sur la gravité du préjudice subi par le patient (Figure 2) si le produit est endommagé ou se trouve en dehors de l'intervalle acceptable. Ces attributs comprennent (Tableau 4), sans s'y limiter, les éléments suivants :

- ✓ La pureté ;
- ✓ Le dosage ;
- ✓ La dissolution/libération du médicament ;
- ✓ La stérilité pour les produits parentéraux ;
- ✓ Les produits de dégradation ;
- ✓ Les propriétés d'adhérence des patchs transdermiques ;
- ✓ La distribution granulométrique pour les matières premières ;
- ✓ La cristallinité.[16,50,51]

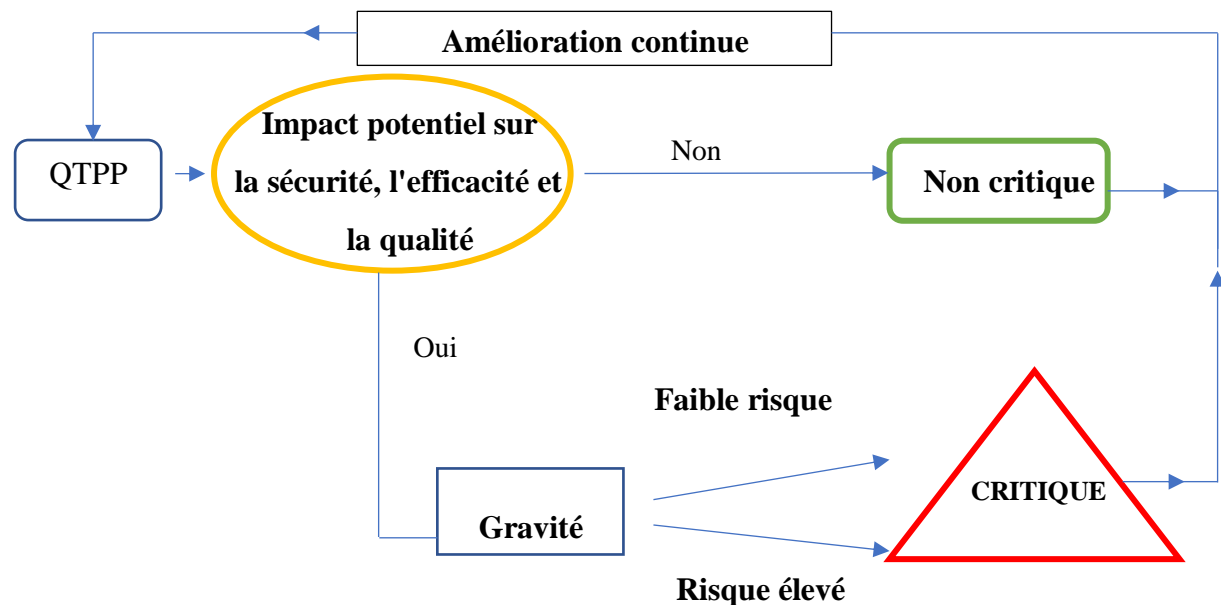


Figure2 : Processus de détermination de la criticité d'un attribut de qualité.[52]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

(Suite)

Matériaux en cours de production		<p>Essai</p> <p>Teneur en eau</p> <p>Dureté et friabilité des noyaux de comprimés (qui seront enrobés)</p> <p>pH de la solution</p> <p>Temps de désintégration/ Friabilité</p>
Produit finis	Physico-chimique	<p>Description</p> <p>Identification</p> <p>Essai</p> <p>Impuretés</p> <p>Taille des particules</p> <p>Formes polymorphiques</p> <p>-Comprimés (enrobés et non enrobés) et gélules :</p> <p>Dissolution</p> <p>Désintégration</p> <p>Dureté/friabilité</p> <p>Uniformité de teneur</p> <p>Teneur en eau</p> <p>-Liquides oraux :</p> <p>Uniformité de teneur</p> <p>pH</p> <p>Teneur en conservateur antimicrobien</p> <p>Teneur en conservateur antioxydant</p> <p>Substances extractibles</p> <p>Teneur en alcool</p> <p>Dissolution</p> <p>Distribution granulométrique (suspensions orales)</p> <p>Redispersibilité (suspensions orales)</p> <p>Propriétés rhéologiques (solutions et suspensions visqueuses)</p> <p>Temps de reconstitution (poudre sèche pour reconstitution)</p>

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

(Suite)

		<p>Teneur en eau (poudre sèche pour reconstitution)</p> <p>-Produits pharmaceutiques parentéraux</p> <p>Uniformité de teneur</p> <p>pH</p> <p>Matières particulaires</p> <p>Teneur en conservateur antimicrobien</p> <p>Teneur en conservateur antioxydant</p> <p>Matières extractibles</p> <p>Test de fonctionnalité des systèmes d'administration (conditionnés dans des seringues préremplies, des cartouches d'auto-injecteurs, etc.)</p> <p>Osmolarité</p> <p>Distribution granulométrique</p> <p>Redispersibilité (suspensions injectables)</p> <p>Temps de reconstitution (produits pour la reconstitution)</p>
	Biologique	Corrélation in vitro - in vivo (pour les produits à libération prolongée)
	Microbiologique	<p>Nombre total d'organismes aérobies</p> <p>Nombre total de levures et moisissures</p> <p>Absence de bactéries spécifiques indésirables</p> <p>-Produits médicamenteux parentéraux</p> <p>Stérilité</p> <p>Endotoxines/pyrogènes</p>

Bien que les CQAs peuvent évoluer à mesure que la connaissance du produit se développe au cours de son cycle de vie, il est souhaitable de comprendre les CQAs à un stade précoce du développement de la molécule en se basant sur les données d'études animales, toxicologiques cliniques et d'évaluation des risques. Ensuite, ils doivent être surveillés tout au long du processus de développement du médicament.[51,54,55]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Si le processus ou la stratégie de contrôle sont modifiés il est préconisé de réévaluer certains paramètres appelés « important non critique ». Ce sont des paramètres de processus et des attributs de qualité qui pourraient devenir critiques pour la sécurité et l'efficacité du produit et qui doivent être signalés et connus en interne afin de les modifier en cas d'améliorations ultérieures.[52]

En pratique, il est indispensable d'identifier les attributs critiques des matériaux (Critical Material Attributes, CMAs) et les paramètres critiques du processus (Critical Process Parameters, CPPs) et les relier aux CQAs (Figure 3). Leurs variations sont étudiées dans des études de robustesse des processus.[51,54]

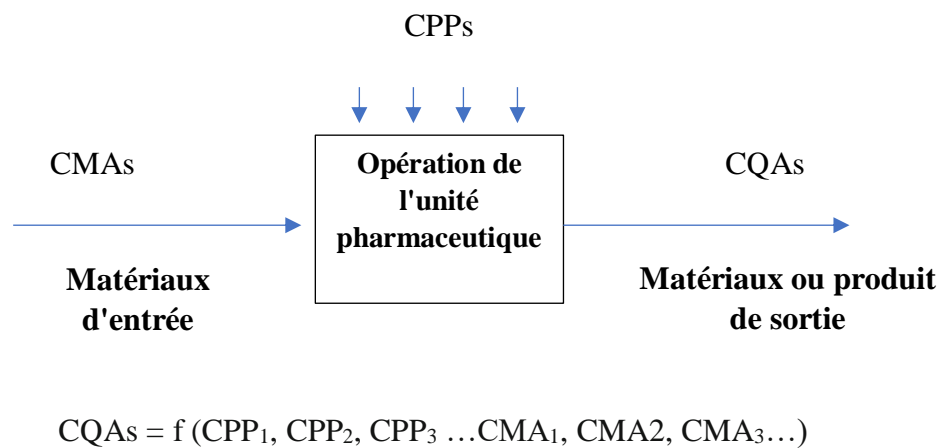


Figure 3 : Relation entre CMAs, CPPs et CQAs pour une opération d'unité. [51]

Un CMA concerne la qualité et la quantité des matières premières, ou peut être défini comme une propriété ou une caractéristique physique, chimique, biologique ou microbiologique d'un intrant qui devrait se situer dans une limite, une plage ou une distribution appropriée pour assurer la qualité désirée du produit fini. [51,56]

Il faut noter que la substance médicamenteuse, les excipients, les matières en cours de production et l'emballage primaire peuvent avoir de nombreuses CMAs qui sont considérées comme différentes des CQAs, car les CQAs concernent les produits de sortie (Les produits intermédiaires et les produits finis), tandis que les CMAs visent les intrants (Les substances médicamenteuses et les excipients).

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Afin de mettre en évidence ces CMAs, il est important de comprendre le produit par :

- L'identification de tous les attributs connus des matériaux d'entrée pouvant avoir un impact sur la qualité du produit ;
- L'utilisation de l'évaluation des risques et les connaissances scientifiques pour identifier les attributs à haut risque potentiellement critiques et l'établissement de niveaux ou des intervalles pour ces attributs ;
- La conception et la réalisation d'expériences en utilisant les plans d'expériences afin de déterminer si un attribut est critique ;
- Le développement d'une stratégie de contrôle pour les CMAs choisis.[51,52]

D'après l'ICH Q8(R2) un CPP est : « *Un paramètre de processus dont la variabilité a un impact sur un attribut de qualité critique et qui doit donc être surveillé ou contrôlé pour garantir que le processus produit la qualité désirée* ». [16] Les paramètres critiques du processus peuvent être le type d'équipement, la taille du lot, l'ordre de mélange, le temps de mélange, la température, la pression, etc.[52,56] Leur sélection se base sur l'expérience scientifique antérieure et sur les connaissances tirées des sources documentaires pertinentes afin de sélectionner les paramètres dont la variabilité génère un impact significatif sur les CQAs et qui doivent donc être surveillés ou contrôlés.[57,58]

Afin de mettre en évidence ces CPPs, il est important de comprendre le processus par :

- L'identification de tous les paramètres de processus connus pouvant avoir un impact sur les performances du processus ;
- L'utilisation de l'évaluation des risques et les connaissances scientifiques pour identifier les paramètres à haut risque potentiellement critiques et l'établissement de niveaux ou des intervalles pour ces paramètres ;
- La conception et la réalisation d'expériences en utilisant le DoE afin de déterminer si un paramètre de processus est critique ;
- Le développement d'une stratégie de contrôle pour les CPPs choisis.[51]

Le rapport technique de la PDA (Parenteral Drug Association) n°60 comprend un arbre décisionnel (Figure 4) utilisé pour différencier les paramètres critiques des paramètres non critiques selon la définition ICH Q8 (R2). La différenciation d'un CPP potentiel d'un non-CPP

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

repose sur l'évaluation des risques afin d'estimer le risque d'impact sur les CQAs, sur la performance du processus et la différenciation entre des paramètres de processus clés (Key Process Parameters, KPP) et un non-CPP.[52]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

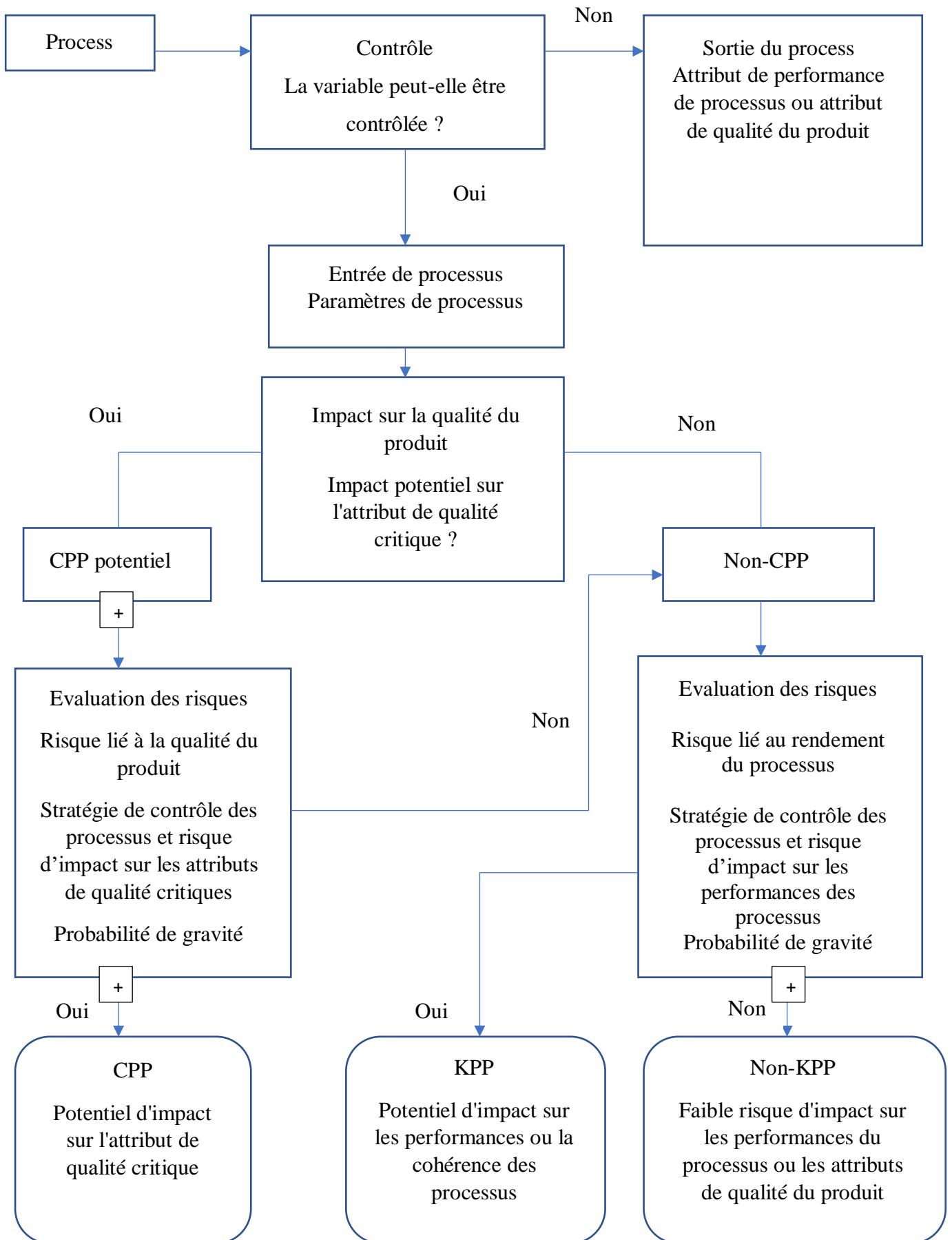


Figure 4 : Arbre de décision PDA pour désigner la criticité des paramètres.[52]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Les CMAs et les CPPs pour lesquels un impact sur la qualité du produit ne peut être exclu doivent être identifiés comme des conditions établies (Established Conditions, ECs).

Ces ECs fournissent une compréhension claire entre le titulaire de l'autorisation de mise sur le marché et les autorités réglementaires concernant les éléments pour assurer la qualité du produit et qui impliquent une communication réglementaire, si elle est modifiée.[34]

I.4.3 : L'évaluation des risques (Risk Assessment)

Le risque est défini comme la combinaison de la probabilité d'un évènement et de ses conséquences (généralement négatives) ou peut être défini comme l'effet de l'incertitude sur l'atteinte des objectifs.[59,60]

Dans l'ICH Q9 : « *L'évaluation des risques consiste à déterminer les dangers et à analyser et à évaluer les risques associés à l'exposition à ces dangers. Les évaluations des risques de qualité commencent par une description du problème ou une question de risque bien définie. Lorsque le risque en question est bien défini, un outil de gestion des risques approprié et les types de renseignements nécessaires pour aborder la question des risques seront plus facilement identifiables.* »[9]

C'est un processus systématique d'organisation de l'information composé de l'identification, l'analyse et l'évaluation des risques, qui rentre dans le cadre d'un processus de gestion des risques (Figure 5) tout au long du cycle de vie du produit pharmaceutique, suivi du contrôle des risques et l'examen des risques afin de les réduire à un niveau acceptable.[6,59]

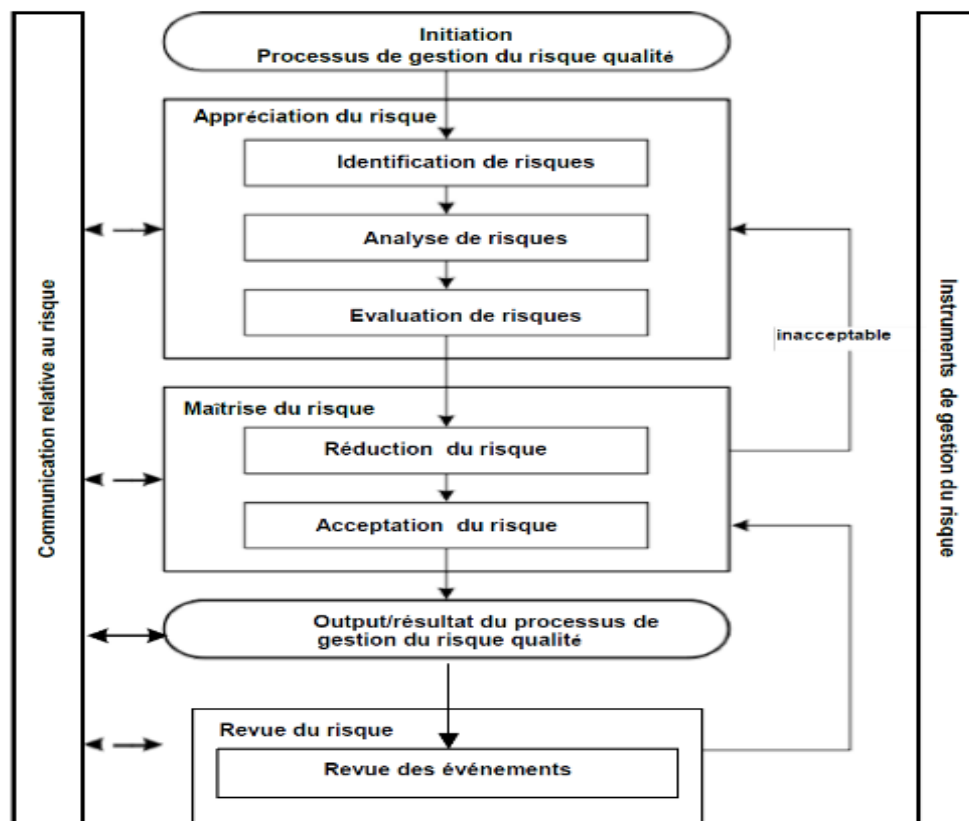


Figure 5 : Aperçu d'un processus typique de gestion du risque qualité.[9]

La gestion des risques de qualité s'appuie sur une approche scientifique et pratique (Organigrammes, fiches de contrôle, cartographie des processus, etc.) qui organise les données pour la prise de décision, et fournit des méthodes documentées, transparentes et reproductibles pour accomplir les étapes du processus de gestion des risques.

Elle peut être utilisée à différentes étapes tel que le développement, la production, et les études de contrôle et de stabilité en laboratoire.[9]

Dans l'approche QbD, l'objectif de l'évaluation des risques dans le développement pharmaceutique est d'identifier les facteurs de risque (CMAs et CPPs) qui devraient être étudiés par des plans d'expérience et les relier aux CQAs du produit pharmaceutique liées au bénéfice thérapeutique pour le patient, afin qu'une stratégie de contrôle appropriée puisse être mise en œuvre pour garantir que ces CQAs respectent les exigences prédéfinies.[6,61,62]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

L'industrie pharmaceutique peut s'appuyer sur des outils de gestion des risques reconnus tels que :

I.4.3.1 : Diagramme d'Ishikawa (Fishbone diagram)

Il est utilisé pour identifier toutes les variables potentielles et les facteurs de risque, telles que les matières premières, les paramètres instrumentaux et les facteurs environnementaux (Figure 6) , qui peuvent avoir un impact sur un CQA particulier, comme la dureté des comprimés ou produire une défaillance concernant la qualité du produit final.[6,63]

Les facteurs de risque sont classés dans les catégories suivantes :

- Facteurs à haut risque : ils sont fixés et corrigés pendant le processus de développement et doivent être rigoureusement contrôlés ;
- Facteurs de bruit potentiels : ils sont soumis à des tests statistiques tels que l'analyse de variance (Analysis of variance, ANOVA), et sont soumis à des tests de robustesse ;
- Facteurs expérimentaux : ils peuvent être explorés expérimentalement pour identifier les intervalles acceptables.[62,64]

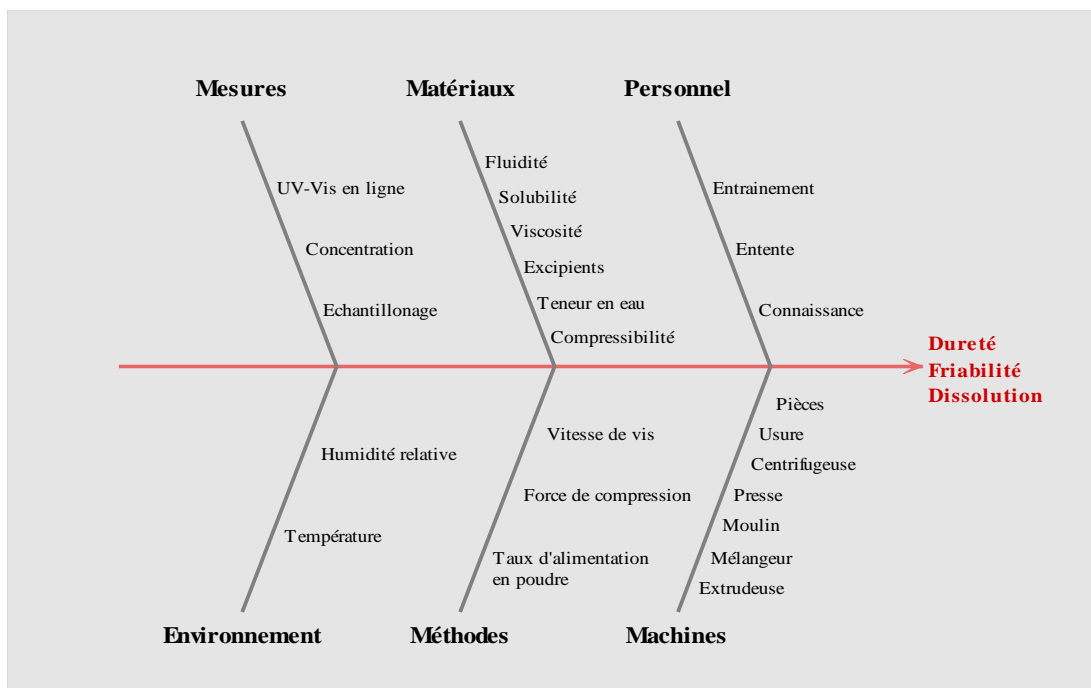


Figure 6 : Analyse préliminaire d'évaluation des risques (diagramme d'Ishikawa). [52]

I.4.3.2 : Analyse des modes de défaillance et de leurs effets (Failure Mode Effects Analysis, FMEA) / Analyse des modes de défaillance, de leurs effets et de leur criticité (Failure Mode Effects and Criticality Analysis, FMEAC)

L'application de la FMEA dans l'industrie pharmaceutique est surtout utilisée pour les défaillances et les risques associés aux processus de production. Elle permet d'identifier et d'évaluer les modes de défaillance potentiels des processus et leur effet probable sur les résultats et/ou les performances du produit en classant les variables en fonction du risque et en sélectionnant les paramètres de processus présentant des risques plus élevés pour des études ultérieures afin de mieux comprendre leurs effets sur les CQAs.[9,61]

La méthode FMEA permet une évaluation quantitative des risques à l'aide d'un indice de priorité de risque (Risk Priority Number, RPN) pour chaque combinaison de gravité du mode de défaillance, de probabilité d'occurrence et de probabilité de détection (Tableau 5,6) avec des échelles de notation qui vont généralement de 10 à 1.[6,65]

Le RPN est calculé par la formule :

$$RPN = O \times S \times D \quad (1)$$

O (Occurrence) : la probabilité d'occurrence ou la probabilité qu'un événement se produise ;

S (Severity) : la gravité, c'est-à-dire la mesure de la gravité de l'effet ou les conséquences d'un mode de défaillance donné ;

D (Detectability) : la détectabilité, c'est-à-dire la facilité ou la difficulté avec laquelle un mode de défaillance peut être détecté plus tard dans le processus. Ainsi, plus un mode de défaillance est détectable, moins il présente de risque pour la qualité du produit.[63,66,67]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Tableau5 : Numéro de priorité du risque* : score basé sur les notes de gravité, d'occurrence et de détectabilité (ICHQ9 2005).[46]

Notation	Gravité	Occurrence	Détectabilité
1	Impact minime ou nul	Peu probable	Élevé
2	Impact mineur	Faible probabilité	Modéré
3	Impact modéré ; solutions de contournement possibles	Probable	Moyen
4	Impact inacceptable ; solutions de contournement possible	Très probable	Faible
5	Impact inacceptable ; aucune alternative n'existe	Presque certainement	Aucun

* Le score RPN (gravité × occurrence × détectabilité) variera de 1 à 125

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Tableau 6 : Gestion des risques de qualité du processus de production typique par approche FMEA.[47]

Zone de risque	Mode de défaillance	Effet de la défaillance	Analyse du risque*			
			O	S	D	RPN
Matières premières			O	S	D	RPN
Substance médicamenteuse	Modification de la taille des particules ou des propriétés comme la forme ou l'énergie de surface	Modification des performances de dissolution, impactant ainsi les performances cliniques	4	5	5	100
Excipient	Augmenter les niveaux de liant	Désintégration lente des comprimés affectant la performance clinique	4	5	5	100
	Diminution du niveau de désintégration	Désintégration entravée des comprimés affectant les performances cliniques	4	5	5	100
	Variabilité du stéarate de magnésium affectant le mouillage des particules	Modification du comportement de dissolution affectant les performances cliniques	3	5	5	75
	Variabilité de la quantité de diluants	Modification des propriétés des granulés altérant la désintégration/dissolution	2	5	5	50
Process						
Mélange à sec	Mélange insuffisant, mauvais mélange	Large gamme de contenu d'ingrédients actifs dans le lot	2	3	4	24
Granulation humide	Défaut de contrôler le point final de granulation	Diminution de la porosité des granules, diminution de l'infiltration d'eau et diminution du taux de dissolution	4	5	5	100

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

(Suite)

	Ajout d'une quantité excessive ou maintien de la masse humide pendant un temps significatif avant le séchage	Diminution de la performance de désintégration et diminution du taux de dissolution	3	5	5	75
Broyage à sec	Paramètres de broyage à sec incorrects	L'effet sur la taille des granules entraîne une dissolution altérée et un effet négatif sur les performances cliniques.	3	5	5	75
Lubrification	Temps de mélange trop long, entraînant un revêtement hydrophobe du lubrifiant autour des granules	La diminution de la vitesse de dissolution a un effet négatif sur les performances cliniques	3	5	5	75

**O est la probabilité, S la gravité et D la détectabilité*

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Le score de risque ou le numéro de produit de risque (RPN) a été déterminé par l'équation (1) :
 $RPN < 40$: risque faible ; $40 < RPN < 99$: risque intermédiaire ; et un $RPN \geq 100$: risque élevé.
Une fois les modes de défaillance établis, des actions correctives à partir de la valeur RPN la plus élevée sont entreprises afin d'éliminer, contenir, réduire ou contrôler les défaillances potentielles.[9,68] Le diagramme d'Ishikawa et la FMEA sont des approches largement utilisées pour l'évaluation des risques, soit séparément, soit en combinaison.[6]

I.4.3.3 : Analyse de l'arbre des défaillances (Fault Tree Analysis, FTA)

La FTA est une approche d'analyse déductive qui suppose la défaillance de la fonctionnalité d'un produit ou d'un processus et permet de résoudre cet événement indésirable en ses causes de manière descendante. En général, les échecs supposés sont répertoriés en haut en tant qu'événement principal ou événement TOP et tous les éléments associés dans ce système qui pourraient provoquer l'événement sont répertoriés comme des branches ultérieures jusqu'à ce que la cause soit identifiée. Les résultats sont représentés graphiquement sous la forme d'un arbre de défaillance (Figure 7). À chaque niveau de l'arbre, les combinaisons de modes de défaillance sont décrites à l'aide d'opérateurs logiques (Et, Ou, etc.).[9,47,69]

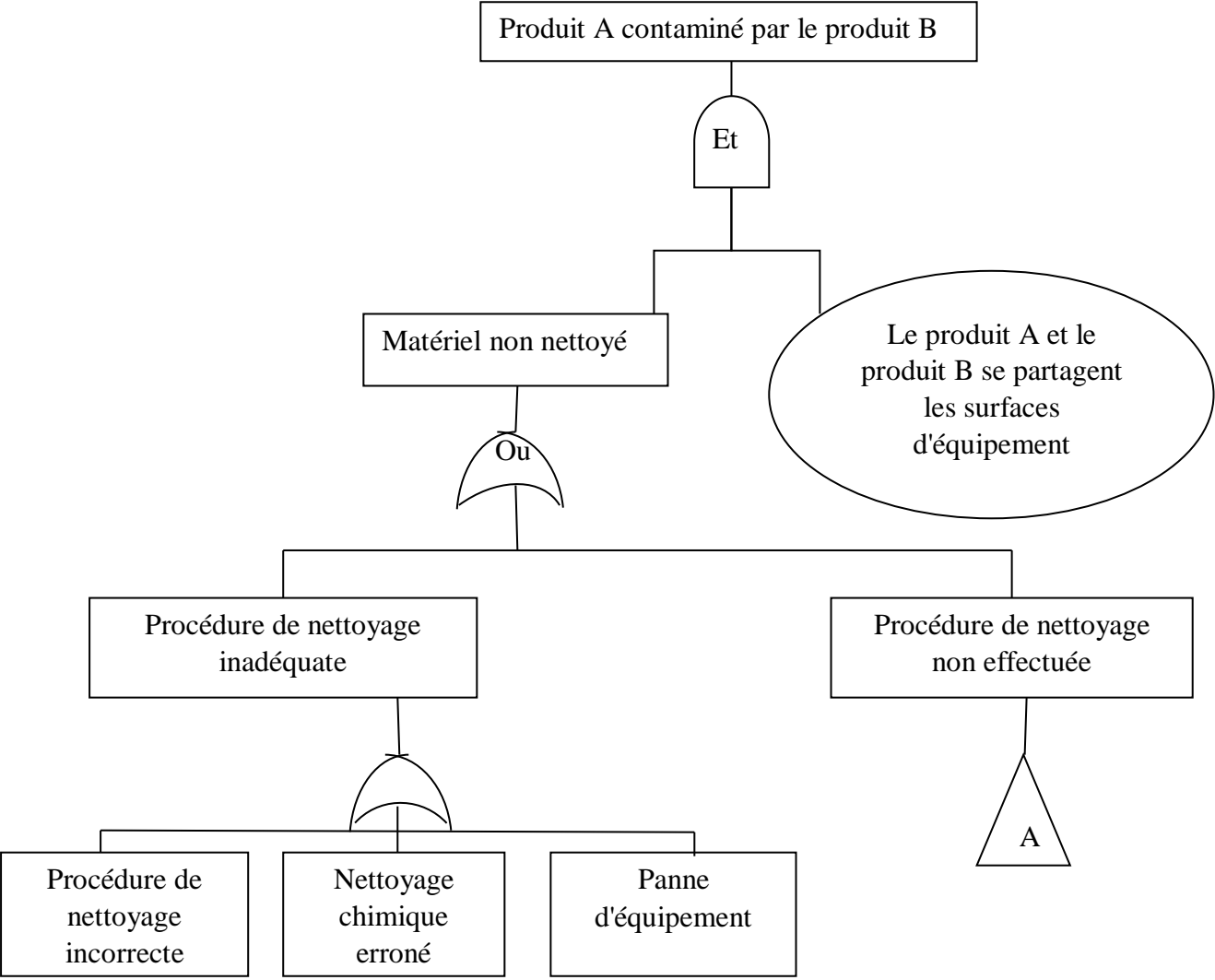


Figure 7 : Diagramme d'arbre de défauts pour une contamination croisée entre deux produits.[47]

I.4.3.4 : Analyse des risques et maîtrise des points critiques (Hazard Analysis and Critical Control Points, HACCP)

Le système HACCP est un outil systématique, proactif et préventif permettant l'identification et l'évaluation des dangers (flux de matières, étapes de fabrication, hygiène du personnel, etc.), leurs conséquences et la mise en place de contrôles aux points critiques d'un processus afin de prévenir efficacement ces dangers.[9,70]

Cette approche se concentre sur la prévention en fournissant une documentation détaillée des paramètres du processus et empêche les dangers de s'y produire plutôt que d'inspecter et d'évaluer les produits par des tests finaux.[70,71]

Le système HACCP comprend les sept étapes suivantes :

- 1- Effectuer une analyse des dangers ;
- 2- Identifier les points de contrôle critiques ;
- 3- Etablir des limites critiques pour chaque point de contrôle critique ;
- 4- Etablir un système pour surveiller les points de contrôle critiques ;
- 5- Etablir des mesures correctives ;
- 6- Etablir un système pour vérifier que le système HACCP fonctionne efficacement ;
- 7- Etablir un système d'enregistrement des données.[9,70]

I.4.3.5 : Analyse des risques et de l'exploitabilité (Hazard Operability Analysis, HAZOP)

Cette approche s'appuie sur une théorie qui suppose que les événements à risque sont causés par des écarts par rapport aux intentions de conception ou d'exploitation. Elle est basée sur le travail d'équipe et le brainstorming qui est structuré à partir de mots-guides (Pression - Température - Niveau – Composition, etc.), de paramètres de processus et de diverses listes de contrôle afin d'identifier les risques

Cette analyse est principalement utilisée dans l'industrie pharmaceutique pour évaluer les risques liés à la sécurité des processus en élaborant une liste d'opérations critiques, ce qui facilite la surveillance régulière des points critiques du processus de fabrication.[9,69]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

I.4.3.6 : Analyse préliminaire des risques (Preliminary Hazard Analysis, PHA)

La PHA est une méthode systématique assez simple pour identifier les dangers, dans les premières étapes la phase de conception d'un processus, de sorte qu'ils puissent être supprimés, réduits ou contrôlés lors du développement ultérieur.

Elle consiste en :

- 1- L'identification des possibilités que l'événement à risque se produise ;
- 2- L'évaluation qualitative de l'étendue des dommages qui pourraient en résulter ;
- 3- Un classement relatif du danger en utilisant une combinaison de gravité et de probabilité d'occurrence (Tableau 7,8) ;
- 4- L'identification des mesures correctives possibles.

Cette technique de brainstorming est qualifiée de « préliminaire » car elle est généralement suivie d'une analyse plus poussée des dangers dans des systèmes plus complexes.[9,69,70]

Tableau 7 : Exemple de matrice d'évaluation des risques : classement numérique et notation.[70]

Classement de gravité 5

Classement de probabilité 5

Probabilités et valeurs d'occurrence

Matrice d'évaluation des risques		Niveau de probabilité/Code d'exposition				
		1	2	3	4	5
Degré de gravité	5	5	10	15	20	25
	4	4	8	12	16	20
	3	3	6	9	12	15
	2	2	4	6	8	10
	1	1	2	3	4	5

Tableau 8 : Descriptions de la gravité et de la probabilité (Norme ANSI Z590.3 PtD*).[70]

Descriptions de la gravité de l'incident ou de l'exposition	
5 Catastrophique	Un ou plusieurs décès, perte totale du système, rejet chimique ayant un impact durable sur l'environnement ou la santé publique
4 Critique	Blessures ou maladies invalidantes, dommages matériels importants et temps d'arrêt de l'entreprise, rejet de produits chimiques ayant un impact temporaire sur l'environnement ou la santé publique
3 Marginal	Traitement médical ou travail restreint, perte ou endommagement mineur du sous-système, libération de produits chimiques déclenchant des exigences de déclaration externe
2 Négligeable	Premiers soins ou traitement médical mineur ou traitement médical mineur seulement, dommages non graves à l'équipement ou à l'installation, rejet de produits chimiques nécessitant un nettoyage de routine sans déclaration
1 Insignifiant	Sans conséquence en ce qui concerne les blessures ou les maladies, la perte ou les temps d'arrêt du système ou la libération de produits chimiques dans l'environnement
Descriptions des probabilités d'incident ou d'exposition	
5 Fréquent	Susceptible de se produire à plusieurs reprises
4 Probable	Cela se produira probablement plusieurs fois
3 Occasionnel	Peut se produire par intermittence
2 Rarement	Peut se produire, mais presque jamais
1 Improbable	Improbable, peut supposer que l'incident ou l'exposition ne se produira pas

* ANSI Z590.3 PtD : American National Standards Z590.3 Institute Prevention through Design

I.4.4 : Espace de conception (Design Space)

Les techniques d'évaluation des risques utilisées peuvent conduire à une compréhension du lien et de l'effet des attributs de matériau et des paramètres de processus sur les CQAs des médicaments, et identifier leurs intervalles dans lesquelles une qualité constante peut être obtenue. Ces paramètres peuvent ainsi être sélectionnés pour être inclus dans l'espace de conception (Design space, DS) (Figure 8).

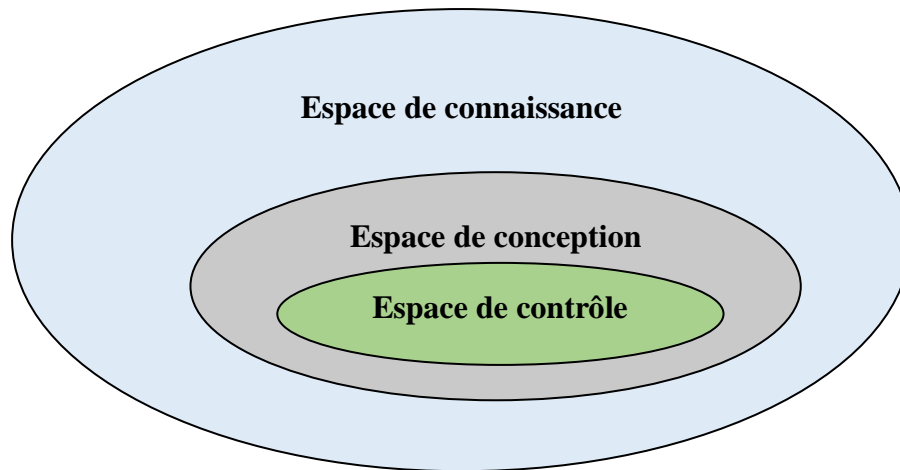


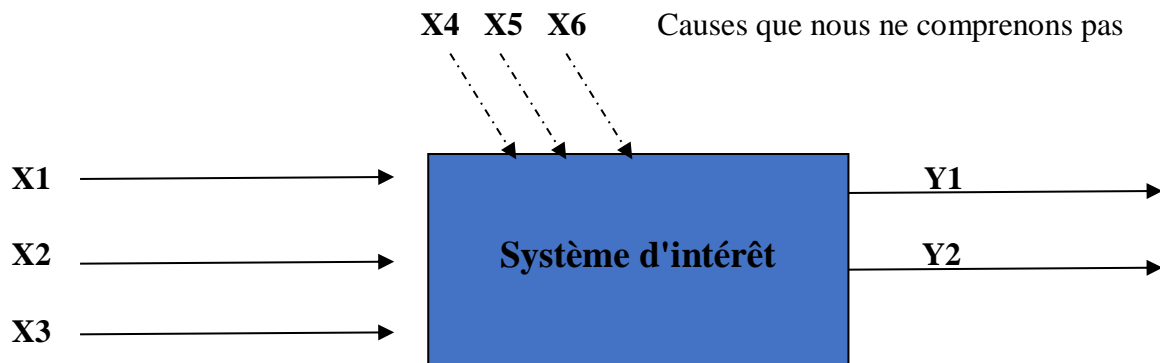
Figure 8 : Relation entre la connaissance, la conception et l'espace de contrôle.[52]

Selon l'ICH Q8(R2) l'espace de conception est « *La combinaison multidimensionnelle et l'interaction des variables d'entrée (par exemple, les attributs du matériau) et des paramètres de processus dont il a été démontré qu'ils fournissent une assurance de qualité.* », en d'autres termes c'est la relation entre les intrants du processus (CPPs et CMAs) et les CQAs.[16,66]

Travailler dans l'espace de conception n'est pas considéré comme un changement cependant tout déplacement hors de cet espace est considéré comme un changement qui déclencherait un processus de changement réglementaire après l'approbation.[16]

Un espace de conception peut être déterminé au moyen d'expériences et de modélisations appelées : conception d'expériences (Design of Experiments, DoE), qui sont utilisées à la fois dans le développement de produits et de processus afin d'arriver à leur optimisation.[51,66,72]

La DoE est définie comme « *une méthode structurée et organisée pour déterminer la relation entre les facteurs affectant un processus et le résultat de ce processus* », autrement dit, les facteurs d'entrée (x_1, x_2, \dots, x_i) sont délibérément variés afin de déterminer leurs effets sur les réponses (y_i) via des fonctions mathématiques $y=f(x)$, comme décrit dans la Figure 9.[73,74]



$$Y1 = \text{Fonction signal (X1, X2, X3)} + \text{Fonction nuisance (X4, X5, X6)}$$

$$Y2 = \text{Fonction signal (X1, X2, X3)} + \text{Fonction nuisance (X4, X5, X6)}$$

Figure 9 : Modèle théorique d'une situation spécifique du monde réel.[52]

L'approche OFAT basée sur la variation d'un facteur à la fois est obsolète, chronophage et incapable de soutenir l'étude simultanée de plusieurs changements de facteurs, ou d'identifier les relations causales, y compris les interactions, ce qui la rend inappropriée pour les applications QbD. La DoE présente plusieurs avantages par rapport à l'OFAT, en particulier :

- Maximiser les informations exhaustives à partir d'un nombre minimum d'expériences ;
- Etudier les effets individuels de chaque facteur en faisant varier simultanément tous les paramètres de fonctionnement et caractériser l'importance relative de chaque facteur ;
- Identifier les interactions entre les facteurs ;
- Déterminer les intervalles des paramètres critiques qui permettent d'obtenir un produit ou un processus plus robuste, c'est-à-dire relativement insensible aux fluctuations touchant le processus, les matériaux et les opérateurs ;
- Permettre la prédiction du comportement du processus dans l'espace de conception ;
- Permettre l'optimisation simultanée des réponses multiples des produits pharmaceutiques qui présentent plusieurs CQAs.[47,74,75]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

L'exécution d'un plan expérimental nécessite plusieurs phases distinctes :

1. Formulation des objectifs ;
2. Sélection des variables de processus (facteurs), leurs niveaux, et des réponses (CQAs) sur la base des connaissances préalables et de l'évaluation des risques ;
3. Sélection d'un plan expérimental en fonction des objectifs du DoE : plans de criblage ou d'optimisation ;
4. Exécution des expériences en s'appuyant sur une matrice de conception ;
5. Analyse des résultats par des outils statistiques tels que l'ANOVA et des outils graphiques afin d'identifier les principaux effets des facteurs significatifs et leurs interactions.[74,76]

I.4.4.1 : Plans de criblage

Ces plans sont réalisés très tôt dans le développement et ne devrait pas représenter plus de 20 à 30 % du coût total du projet.[76]

Ils sont utilisés lorsqu'il y a un grand nombre de facteurs à évaluer (quatre ou plus), car ils permettent la distinction entre les facteurs de processus critiques et les nombreux facteurs utiles afin de se concentrer sur ceux qui peuvent avoir un impact significatif sur les CQAs.[72,74]

Les plans expérimentaux pour le criblage possèdent ces propriétés essentielles :

- 1- Le nombre d'expériences est aussi réduit que possible et doit être au moins égal au nombre de coefficients indépendants p que nous devons calculer par la formule :

$$p = 1 + \sum_{i=1}^k S_i - 1 \quad (2)$$

Où S_i est le nombre de niveaux du $i^{\text{ème}}$ facteur et il y a k facteurs en tout.

Ces plans sont dits saturés s'ils consistent en exactement p expériences, ou presque saturés lorsque le nombre d'expériences est très proche de p

- 2- Les estimateurs des coefficients sont d'une précision maximale ; et presque orthogonaux que possible, c'est-à-dire qu'ils ne sont pas corrélés les uns avec les autres.[76]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Plusieurs plans expérimentaux sont utilisés pour le criblage (Tableau9) :

Tableau 9 : Résumé des plans expérimentaux pour le criblage.[76]

Type de plan	Nombre d'expériences*	Niveaux
Plackett-Burman (P-B)	$4n$: 4,8,12,16,20,24,28,32...	2 niveaux pour chaque facteur
Factoriel fractionnaire	2^{k-p} : le nombre d'expériences 2^k est divisé par 2^p	2 niveaux pour chaque facteur
D-optimaux	Tout nombre égal ou supérieur aux nombres des coefficients indépendants dans le modèle	Les facteurs ont un nombre différent de niveaux

* Limité aux conceptions avec ≤ 64 exécutions

- Plans factoriels à deux niveaux, complets ou fractionnaires qui ne permettent généralement pas de comprendre les interactions et les effets d'ordre supérieur mais seulement les effets principaux avec un nombre restreint de modèles d'interactions d'ordre inférieur.[74,77]

Les plans factoriels complets à deux niveaux (Tableau 10) sont décrits comme des plans 2^k où 2 représente le nombre de niveaux de facteurs et k le nombre de facteurs (Figure 10), mais lorsque le nombre de facteurs augmente, le nombre d'expériences augmente considérablement. Afin de les réduire on passe aux plans factoriels fractionnaires. Pour ces derniers (Figure 11), le nombre d'expériences est divisé par un nombre p selon un plan 2^{k-p} . [78]

Les effets principaux et d'interaction sont aliasés avec un ou plusieurs autres contrastes d'effet principal ou d'interaction dans des contrastes.[79]

Tableau 10 : Plan factoriel complet à deux niveaux 2^3 . X_1 , X_2 et X_3 représentent les trois facteurs.[78]

Expérience	X_1	X_2	X_3	Réponse
1	-1	-1	-1	y_1
2*	+1	-1	-1	y_2
3	+1	+1	-1	y_3
4*	-1	+1	-1	y_4
5*	-1	-1	+1	y_5
6	+1	-1	+1	y_6
7*	+1	+1	+1	y_7
8	-1	+1	+1	y_8

* : Les expériences marquées d'étoiles représentent le plan factoriel fractionnaire de la Figure 11.

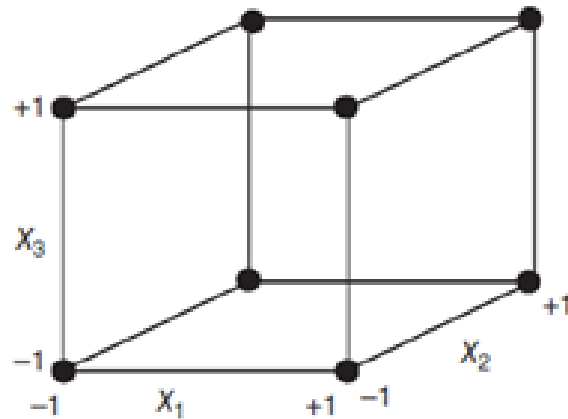


Figure 10 : Représentation géométrique du plan factoriel complet à deux niveaux 2^3 . [78]

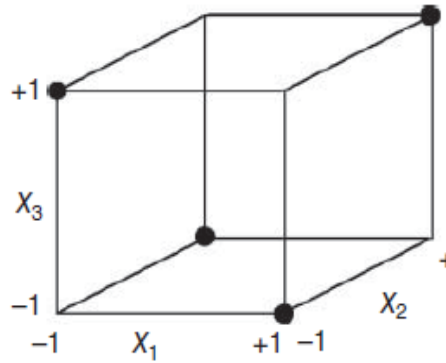


Figure 11 : Plan factoriel fractionnaire à deux niveaux : 2^{3-1} . [78]

- Plans de Plackett-Burman (Tableau 12) qui étudient les facteurs à deux niveaux et ajustent les modèles comprenant les effets principaux uniquement. [80,81]

Ces plans sont très faciles à construire selon ces règles :

1. Noter la première colonne : colonne du générateur (Tableau 11, Figure 12) ;
2. Décaler la colonne cycliquement d'une place $N - 1$ fois. N est le nombre de facteurs étudiés ;
3. Ajouter une dernière rangée de signes moins. [82]

Tableau 11 : Colonnes de générateur pour certaines conceptions Plackett-Burman. [82]

Nombre d'observations	Générateurs
8	+1 +1 +1 -1 +1 -1 -1
12	+1 +1 -1 +1 +1 +1 -1 -1 -1 +1 -1
16	+1 +1 +1 +1 -1 +1 -1 +1 +1 -1 -1 +1 -1 -1 -1
20	+1 +1 -1 -1 +1 +1 +1 +1 -1 +1 -1 +1 -1 -1 -1 +1 +1 -1
24	+1 +1 +1 +1 +1 -1 +1 -1 +1 +1 -1 -1 +1 +1 -1 -1 +1 -1 +1 -1 -1 -1

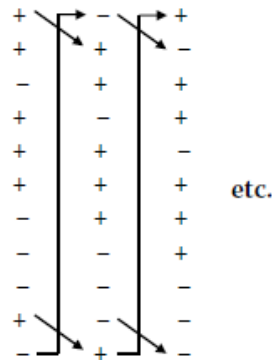


Figure 12 : Cycle de la colonne du générateur pour P-B 12.[82]

Tableau 12 : Plan factoriel fractionné de Plackett et Burman pour l'estimation des effets principaux de 11 facteurs à 2 niveaux.[78]

Expérience	Facteurs											Réponse
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉	X ₁₀	X ₁₁	
1	+1	+1	-1	+1	+1	+1	-1	-1	-1	+1	-1	y ₁
2	-1	+1	+1	-1	+1	+1	+1	-1	-1	-1	+1	y ₂
3	+1	-1	+1	+1	-1	+1	+1	+1	-1	-1	-1	y ₃
4	-1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	+1	+1	-1	-1	y ₄
5	-1	-1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	+1	+1	-1	y ₅
6	-1	-1	-1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	+1	+1	y ₆
7	+1	-1	-1	-1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	+1	y ₇
8	+1	+1	-1	-1	-1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	y ₈
9	+1	+1	+1	-1	-1	-1	+1	-1	+1	+1	-1	y ₉
10	-1	+1	+1	+1	-1	-1	-1	+1	-1	+1	+1	y ₁₀
11	+1	-1	+1	+1	+1	-1	-1	-1	+1	-1	+1	y ₁₁
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	y ₁₂

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Cependant le phénomène de confusion dans ces plans n'est pas facilement discerné comme il est avec les dessins classiques 2^{k-p} parce qu'il n'y a pas de contrastes disponibles pour ces plans et les interactions entre trois facteurs ne sont pas équilibrées ce qui peut conduire à des informations incorrectes en ce qui concerne leurs effets.[82]

- Les plans D-optimaux sont les conceptions assistées par ordinateur générées via un algorithme informatique pour l'estimation optimale des effets principaux uniquement.[80,83]

Ils sont utilisés dans deux cas :

- Les plans factoriels standard ou factoriels fractionnaires nécessitent trop d'expériences (Tableau 13) ;
- L'espace de conception est contraint et contient des paramètres de facteurs qui ne sont pas réalisables.

Comme leur nom l'indique, elles sont basées sur un critère d'optimalité choisi afin de minimiser la variance généralisée des estimations de paramètres pour un modèle pré-spécifié. L'expérimentateur commence par spécifier un modèle ensuite l'algorithme D-optimal choisit l'ensemble optimal de cycles de conception à partir d'un ensemble candidat de cycles de traitement qui se compose généralement de toutes les combinaisons possibles de divers niveaux de facteurs que l'on souhaite utiliser dans l'expérience.

Contrairement aux plans classiques standard les matrices de plan D-optimales ne sont généralement pas orthogonales et les estimations des effets sont corrélées.[84,85]

Tableau 13 : Comparaison entre le nombre d'expériences requises pour le plan D-optimal et les autres plans factoriels.[86]

Nombre de facteurs d'entrée	2	3	4	5	6
Nombre d'expériences					
Plan factoriel 2^n	4	8	16	32	64
Plan factoriel 3^n	9	27	81	243	729
Plan D-optimal	6	10	15	21	28

I.4.4.2 : Plans d’optimisation (Response Surface Methodology, RSM)

Une fois le criblage terminé, les facteurs sélectionnés sont étudiés plus en détail à l'aide de plans d’optimisation, pour mieux comprendre les interactions complexes, les effets quadratiques ou d'ordre supérieur des variables de processus et développer l'espace de conception afin d’améliorer simultanément tous les CQAs des produits.[72,74] En d’autres termes ces plans sont utilisés pour trouver la combinaison de facteurs qui prédisent la réponse optimale avec une bonne précision [81], et rendre le processus plus robuste contre les influences externes et non contrôlables.[80]

Habituellement, la DoE d'optimisation est effectuée dans l'espace de la DoE de criblage, mais n’empêche pas d’être réalisée en dehors de la DoE de criblage.[87]

Ces plans, aussi appelés plans de surface de réponse, permettent de modéliser des surfaces de réponse complexes de second ordre (quadratique) en utilisant 3 à 5 niveaux pour chaque facteur (Tableau 14), contrairement aux plans de criblage qui se limitent aux surfaces de réponse de 1er ordre (linéaire).[75]

Tableau 14 : Comparaison des caractéristiques de plans de criblage et d’optimisation.[75]

Applications	Plan expérimental	Expériences	Niveaux	Facteurs
Criblage	Plackett-Burman	N	2	< N-1
	Factoriel fractionnaire	2^{k-p}	2	$k > 4$
	Factoriel complet à deux niveaux	2k	2	$2 < k < 5$
Optimisation	Box-Behnken	$2k(k-1) + C$	3	$3 < k < 5$
	Composites centrés	$2+2k+C$	5	$2 < k < 5$
	Factoriels à trois niveaux	3^k	3	$2 < k < 3$

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Les plans les plus utilisés pour l'optimisation sont :

- Plans factoriels complets à trois niveaux :

Le nombre d'expériences nécessaires pour ces plans est égal à 3^k (Figure 13), où k est le nombre de facteurs à étudier, mais ils ne sont souvent utilisés que pour deux ou trois facteurs, car au-delà le nombre d'expériences nécessaires augmente considérablement et l'efficacité décroît proportionnellement.[75]

Le plan se compose de toutes les combinaisons possibles de 3 niveaux de chaque facteur, codés comme -1, 0 et +1 (Tableau 15) avec une matrice "presque orthogonale" si aucun centre supplémentaire n'est ajouté (Figure 13).[76]

Tableau 15 : Plan factoriel complet 3^3 .[75]

Expérience	Facteurs		
	X ₁	X ₂	X ₃
1	-1	-1	-1
2	-1	-1	0
3	-1	-1	+1
4	-1	0	-1
5	-1	0	0
6	-1	0	+1
7	-1	+1	-1
8	-1	+1	0
9	-1	+1	+1
10	0	-1	-1
11	0	-1	0
12	0	-1	+1
13	0	0	-1
14	0	0	0
15	0	0	+1
16	0	+1	-1
17	0	+1	0
18	0	+1	+1
19	+1	-1	-1
20	+1	-1	0
21	+1	-1	+1
22	+1	0	-1
23	+1	0	0
24	+1	0	+1
25	+1	+1	-1
26	+1	+1	0
27	+1	+1	+1

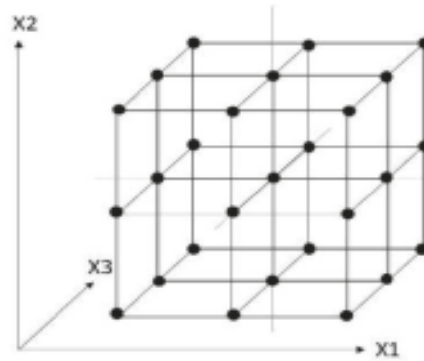


Figure 13 : Représentation de la matrice du plan factoriel complet à trois niveaux 3^3 . [75]

- Plans composites centrés (Central Composite Designs, CCD) : ces plans sont l'un des plans d'optimisation les plus utilisés et les plus utiles pour construire des modèles pour des surfaces de réponse. Ils sont réalisés dans un ordre séquentiel (Tableau 16) en utilisant 5 niveaux de chaque facteur d'entrée avec un nombre réduit d'expériences par rapport à un plan factoriel complet à trois niveaux (Figure 14), ce qui permet d'envisager des modèles de complexité croissante au fur et à mesure que le programme expérimental avance. [75,88]

Le nombre total de points de conception nécessaires (N) est calculé par la formule :

$$N = 2^k + 2k + C_0 \quad (3)$$

où k est le nombre de variables et C_0 est le nombre de points centraux. [89]

Ils se composent des points suivants :

- a) Les points du plan factoriel codés -1 et +1 pour les niveaux bas et élevé des facteurs ;
- b) Les points axiaux ou en étoile, qui sont des conditions d'exécution où un facteur est maintenu au niveau du point central et l'autre facteur à un autre niveau $\pm \alpha$; où $\alpha = 2^{(k-p)/4}$
- c) Un ou plusieurs points centraux qui sont des conditions d'exécution correspondant à la moyenne des niveaux bas et haut de chaque facteur et codé 0 (Tableau 17,18). [75,78,88]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Tableau 16 : Approche séquentielle pour la réalisation d'un plan composite centré à trois facteurs en trois blocs.[88]

X_1	X_2	X_3
Bloc 1 : Réaliser un plan factoriel fractionnaire 2^{3-1} fractions avec 2 points centraux. Estimer les effets principaux des facteurs (effets de premier ordre) et l'effet de courbure global.		
-1	-1	+1
+1	-1	-1
-1	+1	-1
+1	+1	+1
0	0	0
0	0	0
Bloc 2 : Exécuter l'autre moitié du plan 2^{3-1} plus 2 points centraux. Estimer les trois effets d'interaction à deux facteurs, puis réestimez les effets principaux et la courbure globale, ainsi que l'effet de bloc*.		
-1	-1	-1
+1	-1	+1
-1	+1	+1
+1	+1	-1
0	0	0
0	0	0
Bloc 3 : Ajouter les six points étoile plus 2 points centraux, ajuster le modèle complet du second ordre, et estimer les effets de bloc.		
$-\alpha$	0	0
$+\alpha$	0	0
0	$-\alpha$	0
0	$+\alpha$	0
0	0	$-\alpha$
0	0	$+\alpha$
0	0	0
0	0	0

* : L'effet de bloc se détermine par l'accord des deux ensembles de points centraux et renseigne si un décalage s'est produit dans le temps entre les deux ensembles d'expériences.[88]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Tableau 17 : Résumé des plans composites centraux les plus couramment utilisés pour 2-6 facteurs.[76]

Nombre de facteurs : k	2	3	4	5	6
Plan factoriel	2^2	2^3	2^4	2^{5-1} I≡12345	2^{6-1} I≡123456
N_F : nombre de points du plan	4	8	16	16	32
α : espacement des points axiaux	1,414	1,682	2	2	2,378
N_A : nombre de points axiaux du plan	4	6	8	10	12
N_0 : nombre optimal de points centraux pour une précision uniforme	5	6	7	5	9
N_0 : nombre minimum de points centraux	2-3	3	3-4	5	5

Tableau 18 : Matrice du plan composite central.[75]

Expérience	Facteurs		
	X ₁	X ₂	X ₃
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9	-1,68	0	0
10	+1,68	0	0
11	0	-1,68	0
12	0	+1,68	0
13	0	0	-1,68
14	0	0	+1,68
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0
19	0	0	0
20	0	0	0

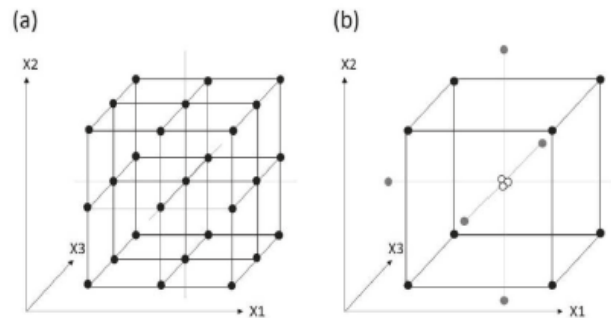


Figure 14 : Représentation de la matrice (a) du plan factoriel complet à trois niveaux 3^3 et (b) de la matrice du plan composite centré pour trois facteurs d'entrée.[75]

- Les plans Box-Behnken (Box-Behnken design, BBD) : sont des types particuliers de plans factoriels fractionnés à trois niveaux, qui permettent de modéliser des surfaces de réponse d'ordre 1 et 2 (Figure15) et sont plus économiques à utiliser que les plans factoriels complets à trois niveaux (Figure 16) (lorsque le nombre de facteurs est supérieur à quatre).[75,88]

En général, les plans de Box-Behnken de k facteurs sont composés de $k(k-1)/2$ plans factoriels 2^2 , où chaque paire de facteurs prend les valeurs $+1$ et -1 , les autres variables maintenues au un niveau codé 0 (Tableau 19) et les points sont situés chacun sur les centres des bords d'un cube.[76]

Le nombre total de points de conception nécessaires (N) est calculé par la formule :

$$N = 2k(k-1) + C_0 \quad (4)$$

où k ($3 \leq k \leq 5$) est le nombre de variables et C_0 est le nombre de points centraux.[90]

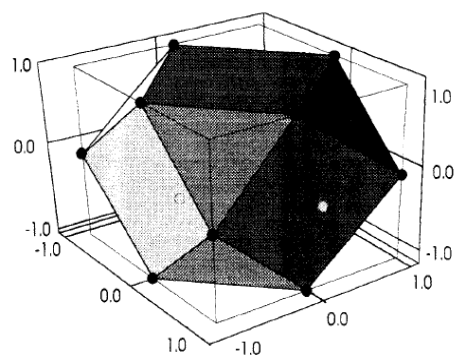


Figure 15 : Plan de Box-Behnken pour trois facteurs.[76]

Tableau 19 : Plan de Box-Behnken pour trois facteurs d'entrée (X_1 , X_2 et X_3).[75]

Expérience	Facteurs		
	X_1	X_2	X_3
1	-1	-1	0
2	+1	-1	0
3	-1	+1	0
4	+1	+1	0
5	-1	0	-1
6	+1	0	-1
7	-1	0	+1
8	+1	0	+1
9	0	-1	-1
10	0	+1	-1
11	0	-1	+1
12	0	+1	+1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

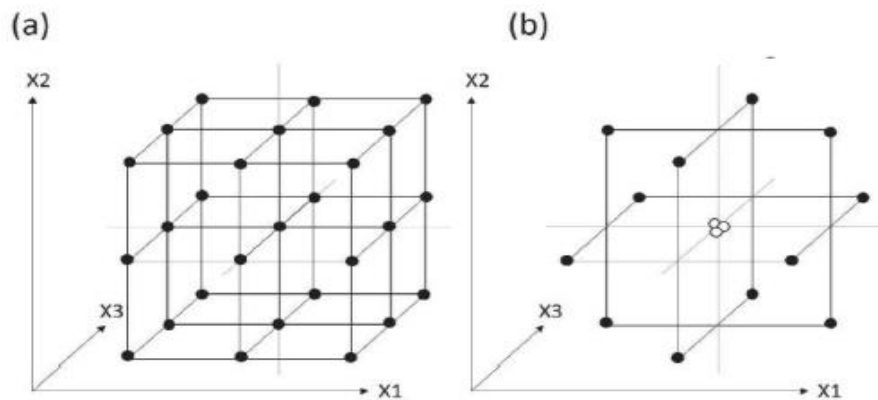


Figure 16 : Représentation de la matrice (a) du plan factoriel complet à trois niveaux 3^3 et (b) de la matrice du plan de Box-Behnken pour trois facteurs d'entrée.[75]

Nous pouvons constater d'après la figure que tous les points utilisés dans les plans de Box-Behnken (Figure 16b) ont été sélectionnés dans le plan factoriel complet 3^3 (Figure 16a).

- Plans de Doehlert (Doehlert matrix, DM) : Ces plans qui sont hautement recommandables comme outils de développement pharmaceutique présentent une alternative très utile pour les modèles du second degré. Ils offrent des avantages par rapport aux conceptions centrales composites et Box-Behnken : moins d'expériences, plus efficaces, et le nombre de niveaux n'est pas le même pour toutes les variables (Tableau20). Le domaine expérimental est un réseau (rhombique) de densité uniforme avec la possibilité d'ajouter des facteurs supplémentaires sans aucun effet négatif sur la qualité de la conception (Figure 17). Le nombre total de points de conception nécessaires (N) est calculé par la formule $N = k^2 + k + C_0$, où k est le nombre de variables et C_0 est le nombre de points centraux, les valeurs codées de cette matrice sont données dans le Tableau 21.[76,89]

Tableau 20 : Propriétés des plans de Doehlert.[76]

Nombre de facteurs	Nombre de points centraux	Nombre total d'expériences	R _{eff}
2	2-3	9	66%
3	3	16	63%
4	3-4	24	63%
5	5	35	60%
6	6	49	57%

$$R_{\text{eff}} = \frac{P}{N} \leq 1 \quad (5)$$

P : Nombre de coefficients dans le modèle

N : nombre d'expériences dans le plan.[91]

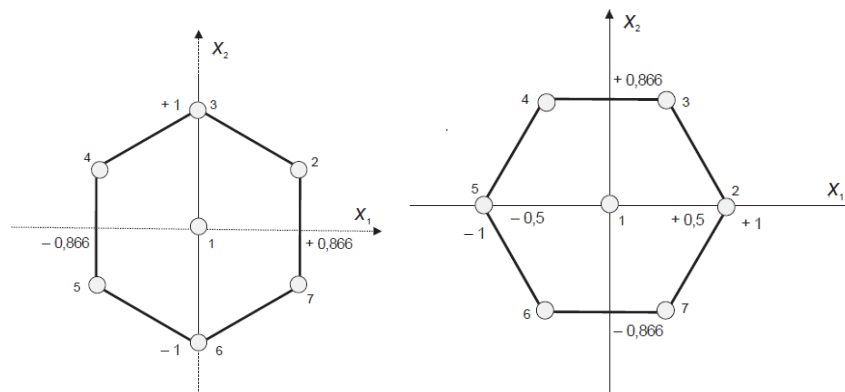


Figure 17 : Plan de Doehlert pour l'étude de deux facteurs, où les points sont régulièrement disposés sur un hexagone et il y a un point central. [92]

Tableau 21 : Plans de Doehlert pour 2 à 3 facteurs.[76]

k	X_1	X_2	X_3
2	0	0	0
	1	0	0
	0,5	0,866	0
	-0,5	-0,866	0
	0,5	-0,866	0
	-0,5	0,866	0
	-1	0	0
3	0,5	0,289	0,816
	-0,5	0,289	0,816
	0	-0,577	0,816
	0,5	-0,289	-0,816
	-0,5	-0,289	-0,816
	0	0,577	-0,816

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Dans le Tableau 22, nous allons comparer l'efficacité des trois cités auparavant : CCD, BBD et DM.

Tableau 22 : Comparaison de l'efficacité du plan composite central (CCD), du plan de Box-Behnken (BBD) et du plan de Doehlert (DM).[89]

Nombre de facteurs (<i>k</i>)	Nombre de coefficients (<i>p</i>)	Nombre d'expériences (<i>f</i>)			Efficacité (<i>p/f</i>)		
		CCD	DM	BBD	CCD	DM	BBD
2	6	9	7	-	0,67	0,86	-
3	10	15	13	13	0,67	0,77	0,77
4	15	25	21	25	0,60	0,71	0,60
5	21	43	31	41	0,49	0,68	0,61
6	28	77	43	61	0,36	0,65	0,46
7	36	143	57	85	0,25	0,63	0,42
8	45	273	73	113	0,16	0,62	0,40

- Plans de mélanges

Ils sont utilisés pour l'optimisation des niveaux des composants d'une formulation lorsque la quantité globale d'une composition est connue afin de rationaliser l'utilisation de chaque constituant et sa proportion dans la formulation.

Ces plans suivent deux contraintes majeures, l'égalité et la non-négativité (Eq 6,7), et les proportions des composants ne sont pas indépendantes les unes des autres.[74,83]

$$\sum_{i=1}^q X_i = X_1 + X_2 + \dots + X_q = 1 \quad (6)$$

$$X_i \geq 0 \quad i = 1, 2, \dots, q \quad (7)$$

Il existe plusieurs plans de mélanges classiques qui diffèrent selon l'emplacement des points représentatifs des compositions :

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

- Les plans en réseaux (Simplex lattice designs) : Les points de composition sont régulièrement repartis dans l'espace d'étude (Figure 18) ;

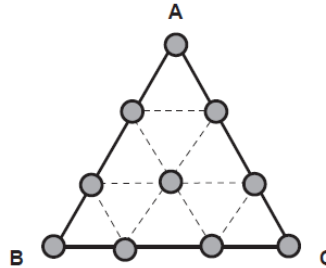


Figure 18 : Plan de mélanges en réseaux pour trois produits purs et leur mélange.[92]

- Les plans de mélanges centrés (Simplex-centroid designs) : se distinguent des précédents par la présence systématique d'un point central représentant la composition équiportionnel de chacun des constituants du mélange (Figure 19) ;

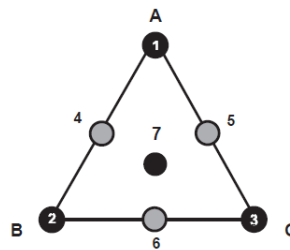


Figure 19 : Plan de mélanges centré.[92]

- Les plans de mélanges centrés augmentés (Augmented Simplex-centroid designs) : se distinguent des précédents par l'ajout de centres de gravité des simplex unitaires (Figure 20) ;

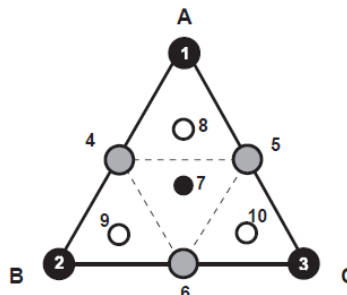


Figure 20 : Plan de mélanges centré augmenté.[92]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

La représentation géométrique des mélanges peut prendre plusieurs formes en rapport avec le nombre de constituants du mélange :

- Mélanges à deux constituants : ils peuvent être représentés par un point de composition dans un système d'axes cartésiens, ou par les par des points d'un segment d'une droite (Figure 21) ;

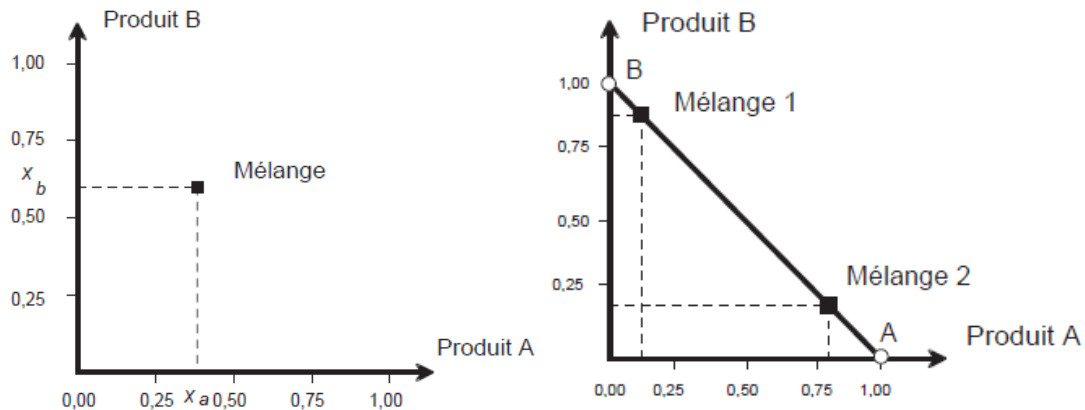


Figure 21 : Représentation géométrique des mélanges à deux constituants.[92]

- Mélanges ternaires : ils peuvent être représentés à l'aide d'un triangle équilatéral (Figure 22) où les produits purs sont aux sommets du triangle et les mélanges binaires sont représentés par les côtés du triangle.

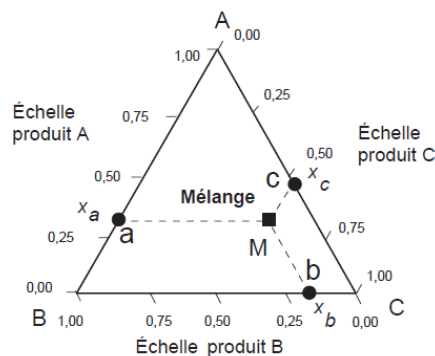


Figure 22 : Représentation géométrique des mélanges ternaires.[92]

- Mélanges à quatre constituants : ils sont représentés par les points du volume intérieur d'un tétraèdre régulier (Figure 23), où les quatre produits purs sont aux sommets du tétraèdre, les mélanges binaires sont représentés par les côtés et les mélanges ternaires par les faces du tétraèdre qui sont des triangles équilatéraux. La composition du mélange est obtenue en projetant le point représentatif du mélange sur les faces et sur les côtés du tétraèdre.[91,92]

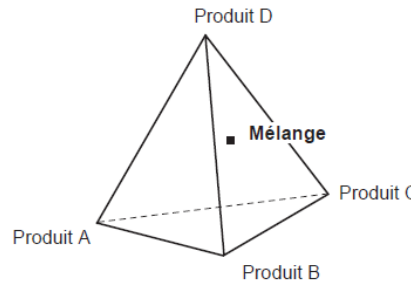


Figure 23 : Représentation géométrique des mélanges quaternaires.[92]

- Plans Taguchi

Les plans factoriels complets nécessitent la réalisation de nombreuses expériences, pour surmonter ce problème, Taguchi a suggéré une méthode basée sur l'utilisation de matrices orthogonales (Orthogonal Array) standards permettant d'étudier le plus de facteurs possibles avec un nombre moindre d'expériences et permet d'ignorer tous les efforts supplémentaires qui auraient pu être nécessaires pour enquêter sur les interactions ce qui réduit le nombre d'essais expérimentaux à un nombre raisonnable.

Taguchi classe les facteurs en deux ensembles :

1. Facteurs de contrôle, qui sont sous notre contrôle. La conception choisie pour ces facteurs est connue sous le nom de tableau interne ;
2. Facteurs de bruit, qui ne sont pas sous notre contrôle, sauf lors d'expérimentations en laboratoire. La conception choisie pour ces facteurs est connue sous le nom de tableau externe.

La combinaison de ces tableaux donne le tableau croisé représenté sous forme d'une matrice croisée (Figure 24), qui représente la liste de tous les échantillons programmés par la méthode, et fournit des informations sur la relation entre les paramètres, ce qui est très important pour la conception d'un système robuste.[93,94]

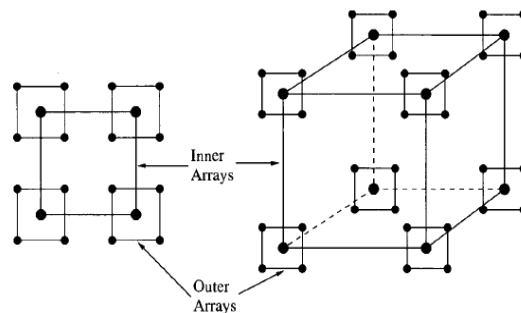


Figure 24 : Plans en réseau croisé utilisés dans la méthode Taguchi.[92]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Ensuite, il est recommandé d'utiliser la fonction de perte de qualité pour mesurer les caractéristiques de performance définie en rapport signal/bruit (S/B) qui mesure la variation de la réponse par rapport à la valeur nominale ou cible dans différentes conditions de bruit.

La méthode Taguchi comporte, dans le processus d'optimisation, les étapes suivantes :

1. Identification des paramètres d'entrée, de leurs niveaux et des paramètres de sortie ;
2. Détermination du réseau orthogonal approprié (Tableau 23) ;
3. Réalisation des expériences selon le tableau choisi ;
4. Analyse du rapport signal/bruit : maximiser le rapport S/B et réduire la variabilité du processus contre les changements indésirables des facteurs de bruit ;
5. Analyse statistique (ANOVA) et détermination du réglage optimal des niveaux de facteur ;
6. Réalisation d'une expérience de confirmation (si nécessaire).[94,95]

Tableau 23 : Sélecteur de tableau orthogonal Taguchi.[94]

Nombre de paramètres	Nombre de niveaux			
	2	3	4	5
2	L4	L9	L16	L25
3	L4	L9	L16	L25
4	L8	L9	L16	L25
5	L8	L18	L16	L25
6	L8	L18	L32	L25
7	L8	L18	L32	L50
8	L12	L18	L32	L50
9	L12	L18	L32	L50
10	L12	L27	L32	L50
11	L12	L27		L50
12	L16	L27		L50
13	L16	L27		
14	L16	L36		
15	L16	L36		
16	L32	L36		
17	L32	L36		
18	L32	L36		
19	L32	L36		
20	L32	L36		
21	L32	L36		
22	L32	L36		
23	L32	L36		
24	L32			
25	L32			
26	L32			
27	L32			
28	L32			
29	L32			
30	L32			
31	L32			

➤ **Modèles mathématiques**

Les relations mathématiques liant les CPPs et les CMAs avec les CQAs définissent l'espace de conception et conduisent à un produit final répondant au QTPP.[74]

Les plans de criblage qui ne possèdent que deux niveaux d'étude par facteur peuvent être modélisé par des modèles mathématiques empiriques du premier degré (avec ou sans interactions) :

$$y = \beta_0 + \sum_i^k \beta_i X_i + \sum_{ij}^k \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (8)$$

y : réponse

X_i, X_j : niveaux des facteurs du plan

β_0 : coefficient constant du modèle, calculé en donnant la valeur 0 (unités codées) aux niveaux des autres facteurs

β_i : effet du facteur X_i ,

β_{ij} : effet de l'interaction ij entre les facteurs X_i et X_j

ε : terme d'erreur aléatoire

La surface de réponse obtenue à l'aide de cette fonction est présentée à la (Figure 25).

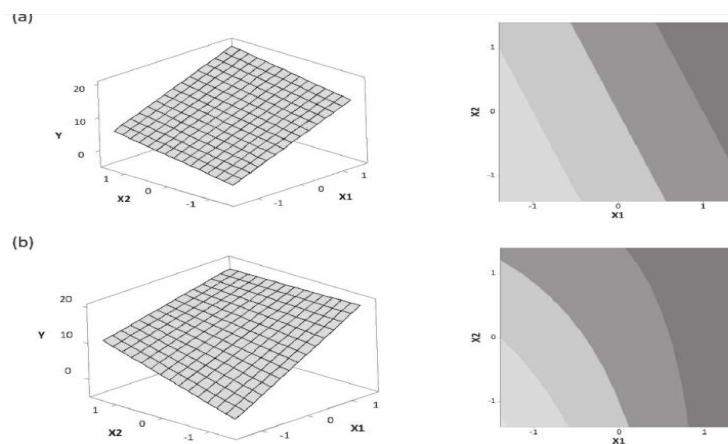


Figure 25 : Surface de réponse et contre-graphiques pour linéaire (a), linéaire + interaction (b).[75]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Les plans pour surfaces de réponse utilisent des modèles polynomiaux empiriques du second degré dont le modèle mathématique postulé est un modèle du second degré avec interactions d'ordre 2 :

$$y = \beta_0 + \sum_i^k \beta_i X_i + \sum_{ij}^k \beta_{ij} X_i X_j + \sum_i^k \beta_{ii} X_i^2 + \varepsilon \quad (9)$$

β_{ii} : effets purs de second ordre ou quadratiques

La réponse de sortie présente une surface de réponse courbée (Figure 26), en raison de la présence de termes quadratiques dans le modèle de régression.[92,96]

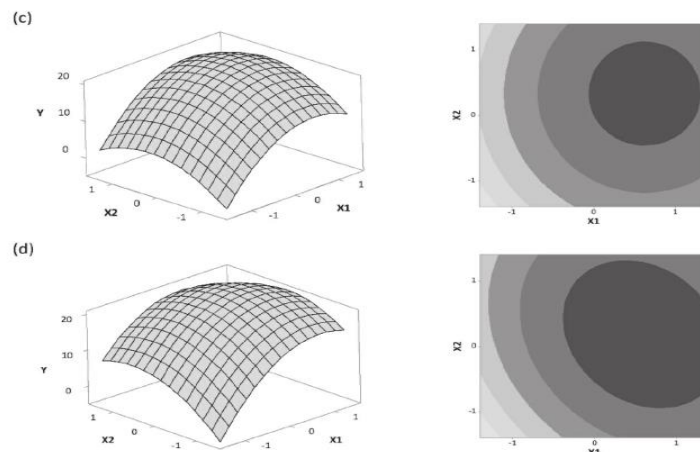


Figure 26 : Surface de réponse et contre-graphiques pour les fonctions linéaires + quadratiques (c) et les fonctions complètes (d) du modèle.[75]

I.4.4.3 : Analyse des résultats

Il existe deux analyses complémentaires :

- 1- L'analyse graphique** : Elle donne une représentation simple des résultats. Elle permet de visualiser l'influence des paramètres et de leurs interactions.

a- Diagramme à barres

Il permet facilement de se rendre compte de l'importance des coefficients ou des aliases (Figure 27) dans le cas des plans fractionnaires.[92]

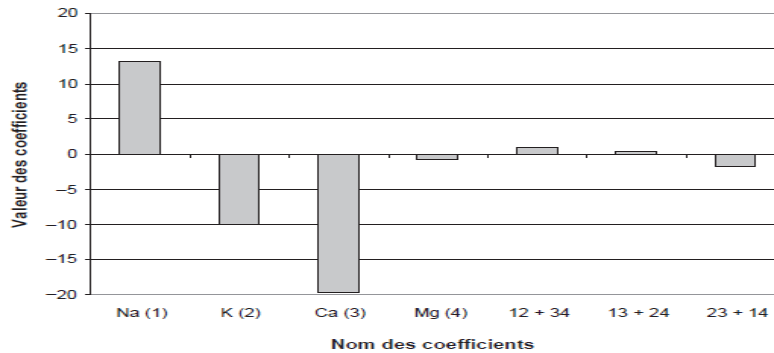


Figure 27 : Diagramme à barres.[92]

b- Diagramme des effets principaux (Main Effects Plot)

C'est un graphique qui trace les moyennes des réponses de toutes les observations à chaque niveau d'un paramètre de conception ou d'une variable de processus et les relie par une ligne (Figure 28).

Le signe et l'ampleur d'un effet principal nous renseigneraient sur les points suivants :

- Le signe d'un effet principal indique si la valeur moyenne de la réponse augmente ou diminue ;
- La magnitude nous renseigne sur la force de l'effet.[97,98]

Il indique les effets principaux des facteurs (les coefficients des termes du premier degré du modèle mathématique) et peut être construit avec les unités codées ou avec les unités normales (plus commodes pour la présentation des résultats).[92]

L'effet d'un facteur peut être calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$E_f = \bar{F}_{(+1)} - \bar{F}_{(-1)} \quad (10)$$

$\bar{F}_{(+1)}$: réponse moyenne à un réglage de haut niveau d'un facteur

$\bar{F}_{(-1)}$: réponse moyenne à un réglage de bas niveau d'un facteur.[97]

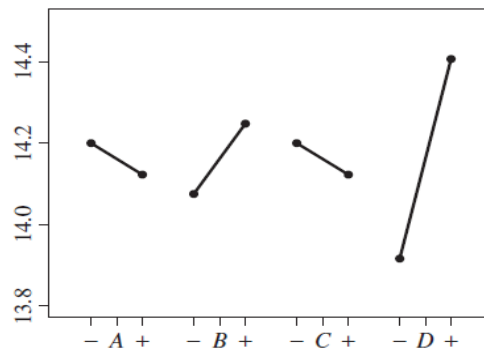


Figure 28 : Diagramme des effets principaux.[98]

c- Diagramme des interactions (Interactions Plots)

Il indique l'importance des interactions en traçant la réponse moyenne de deux facteurs à toutes les combinaisons possibles de leurs paramètres, ce qui permet de déterminer les effets d'un facteur au niveau bas et au niveau haut d'un autre facteur (Figure 29).

Si les droites des effets ne sont pas parallèles, il y a une interaction significative, cependant si elles sont parallèles, il n'y a pas d'interaction entre les paramètres du processus.[92,97]

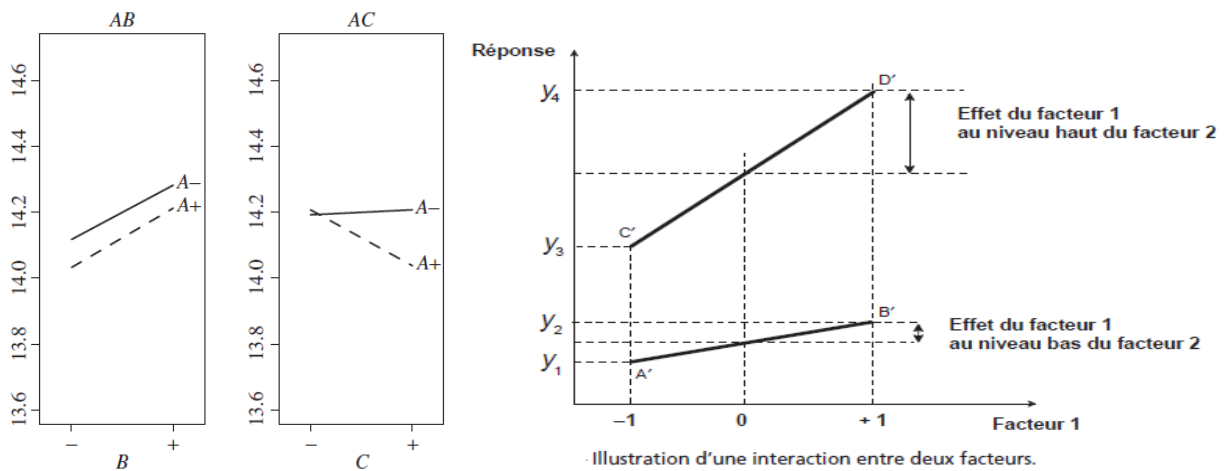


Figure 29 : Diagramme des interactions.[92,98]

d- Graphiques en cube (Cube Plots)

Ils affichent les valeurs de réponse moyennes pour toutes les combinaisons de paramètres de conception pour les plans factoriels à 2 niveaux ou les plans Plackett-Burman (Figure 30), ce qui permet de déterminer les meilleures et les pires combinaisons de niveaux de facteurs pour obtenir la réponse optimale souhaitée.[97,99]

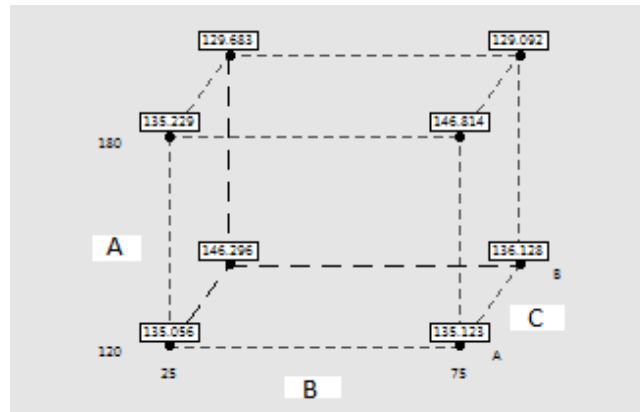


Figure 30 : Graphique en cube avec réponse.[99]

e- Graphique de Pareto des effets des facteurs

Le graphique de Pareto permet de détecter les facteurs et les effets d'interaction les plus importants pour l'étude d'optimisation de processus ou de conception à traiter. Il affiche les valeurs absolues des effets par ordre décroissant et trace une ligne de référence sur le graphique entre les facteurs influents et ceux qui peuvent-être faiblement influents (Figure 31).

Tout effet qui dépasse cette ligne de référence est potentiellement important, les autres sont éliminés.[92,97]

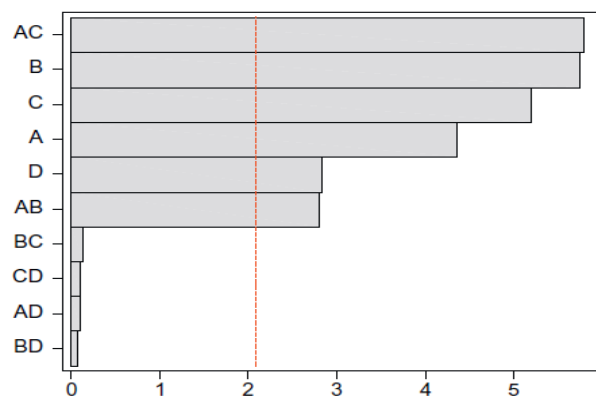


Figure 31 : Graphique de Pareto des effets des facteurs.[97]

f- Diagramme de Daniel (Normal Probability Plot/ half normal probability plot)

Les effets principaux et les effets d'interaction des facteurs doivent être tracés en fonction de la probabilité cumulative (%) (Figure 32). Les effets principaux et d'interaction inactifs ont tendance à tomber approximativement le long d'une ligne droite appelée droite de Henry, car ils suivent une distribution normale et sont assimilés aux erreurs expérimentales. Les effets actifs ont tendance à apparaître comme des points extrêmes tombant de chaque extrémité de cette droite car ils ne suivent pas une distribution normale. Ces effets actifs sont jugés comme étant statistiquement significatifs.[92,97]

Dans le cas de la demi-droite de Henry ce sont les valeurs absolues des effets normalisés qui sont mesurées, en les classant de la plus élevée à la plus faible, et les points sont comparés à une ligne de référence qui représente le cas où tous les effets seraient de 0. Les effets les plus éloignés de 0 sont statistiquement les plus significatifs.[99]

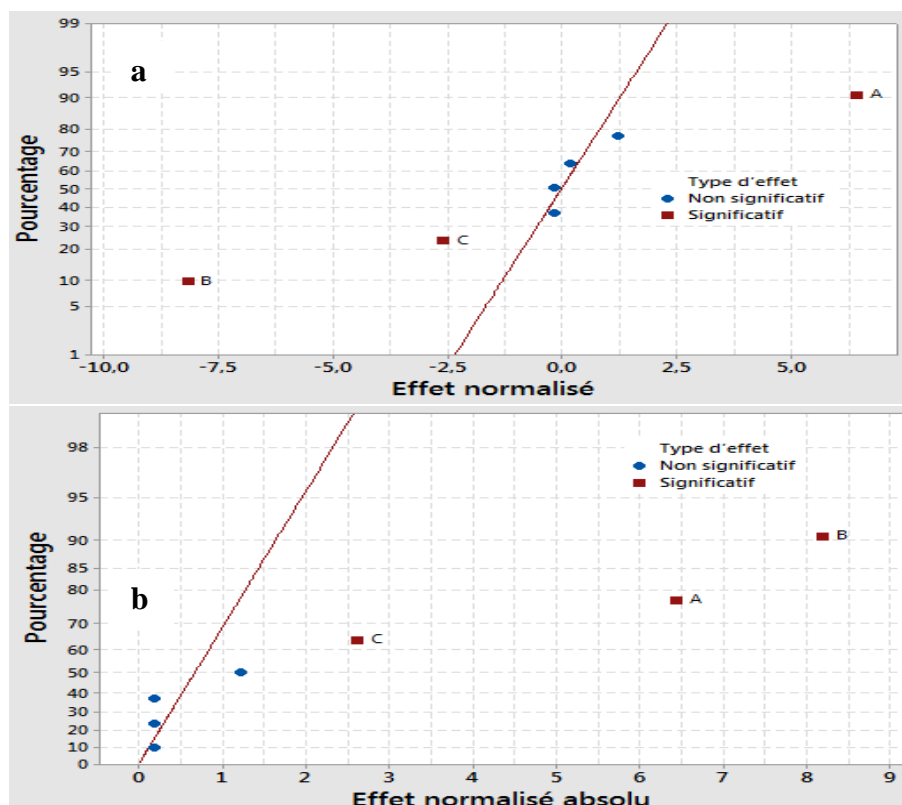


Figure 32 : Diagramme de Daniel : a) Droite de Henry, b) Demi-droite de Henry.[99]

g- Diagramme de Daniel des valeurs résiduelles (Normal Probability Plot of Residuals)

Ces droites sont utiles pour évaluer la normalité d'un ensemble de données en affichant les valeurs résiduelles (la différence moyenne entre la valeur observée et la valeur prédite ou ajustée) en fonction de leurs valeurs attendues (Figure 33). Si les résidus se distribuent approximativement le long d'une ligne droite, ils sont alors normalement distribués, mais dans le cas contraire, ils ne sont pas normalement distribués et les données ne proviennent donc pas d'une population normale.[97]

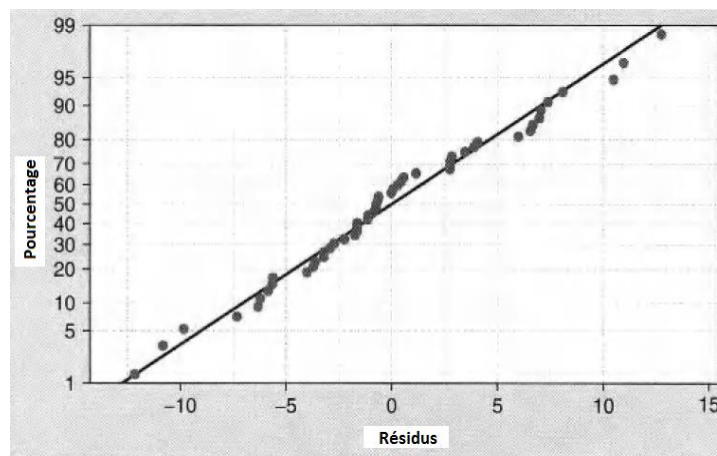


Figure 33 : Diagramme de Daniel des valeurs résiduelles.[93]

On peut aussi tracer un diagramme des valeurs résiduelles sur l'axe des y en fonction des valeurs ajustées sur l'axe des x (Figure 34). Les points doivent être répartis aléatoirement des deux côtés de 0, sans schéma particulier. Cependant dans le cas où les résidus augmentent avec la réponse, l'hypothèse d'homoscédasticité (même erreur expérimentale dans tout le domaine d'étude) n'est pas vérifiée, et dans le cas où les résidus sont négatifs pour les faibles et les fortes valeurs de la réponse et positifs pour les valeurs intermédiaires, l'hypothèse d'un modèle simple du premier degré avec ou sans interactions est à revoir et il faut adopter un modèle du second degré.[92,93]

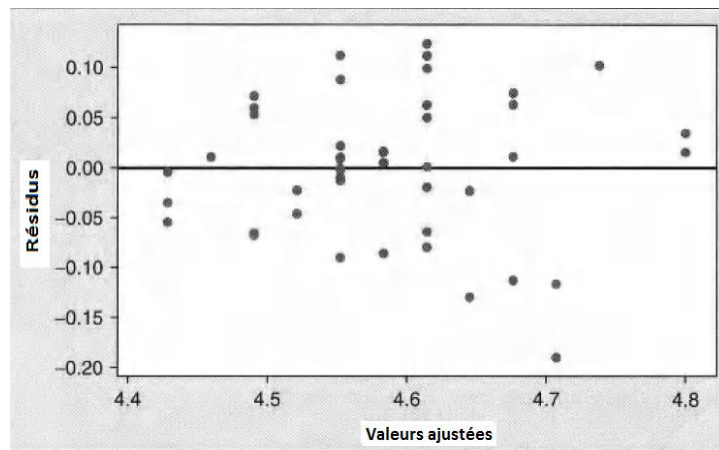


Figure 34 : Diagramme de Daniel des valeurs résiduelles (Résidus en fonction des valeurs ajustées).[93]

h- Courbes d'isoréponses (courbes de niveaux)

Les courbes d'isoréponse ou courbes de niveau sont des représentations bidimensionnelles d'une certaine réponse pour les composants ou les facteurs sélectionnés (Figure 35). Elle ne fait intervenir que 2 facteurs à la fois, les autres devant être fixés à un niveau constant, afin de déterminer la région du domaine où la réponse est optimale.[74,98]

Ces courbes sont un indicateur de la robustesse du produit et un produit robuste doit donner un tracé dans lequel les lignes sont largement séparées.[91]

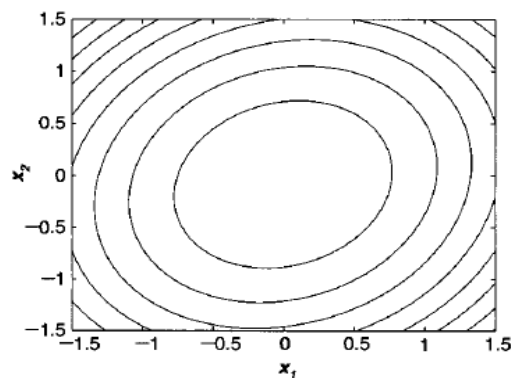


Figure 35 : Courbes d'isoréponses.[93]

i- Désirabilité

La désirabilité est une méthode d'optimisation multicritère qui permet de trouver le meilleur compromis entre plusieurs réponses en transformant chaque réponse prédite \hat{y} en une valeur de désirabilité d . La valeur de la fonction de désirabilité d augmente à mesure que la « désirabilité » de la réponse correspondante augmente, elle varie de 0 qui correspond à un refus complet à 1 qui correspond à une satisfaction maximale.

La forme de la fonction qui permet de passer de 0 à 1 peut prendre toutes les allures possibles, elle peut correspondre à une valeur précise, comme elle peut définir un ensemble de valeurs et présenter un plateau. Dans ce cas la désirabilité globale D qui prend en compte à la fois les exigences sur toutes les réponses, est la moyenne géométrique des désirabilités individuelles :

$$D = \sqrt[n]{d_1 d_2 \dots d_n} \quad (11)$$

D'après cette équation nous pouvons rencontrer plusieurs cas (Figure 36) :

- $D=1$: toutes les désirabilités individuelles sont égales à 1 et tous les objectifs sont atteints ;
- $D=0$: une des désirabilités individuelles au moins est égale à 0 et un des objectifs au moins n'est pas atteint ;
- $0 < D < 1$: aucune désirabilité individuelle n'est égale à 0 et les désirabilités ne sont pas toutes égales à 1, ce qui fait que certains objectifs sont complètement atteints et d'autres partiellement.[92,100]

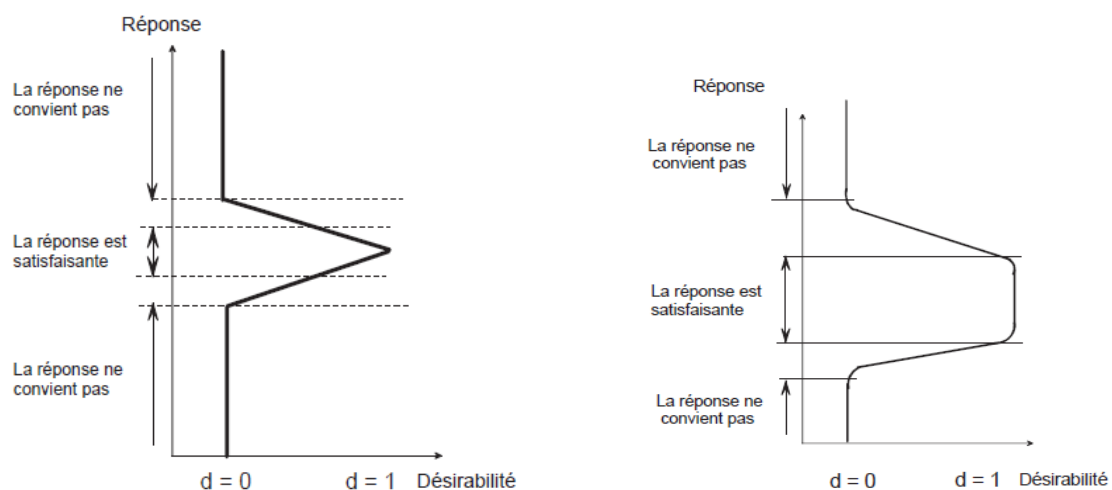


Figure 36 : Fonction de désirabilité avec valeur particulière et plateau.[92]

j- Surfaces de réponse

Elles affichent généralement une vue tridimensionnelle qui peut fournir une image plus claire de la réponse et permet d'établir les valeurs et les conditions de fonctionnement souhaitables.

Il existe plusieurs types de ces surfaces :

- Surfaces de réponse en forme de plan où les lignes de contour sont droites, lorsque le modèle de premier ordre ne contient que les effets principaux et aucun effet d'interaction ;
- Surfaces de réponse en forme de plan où les lignes de contour sont courbées, lorsque le modèle de premier ordre contient des effets d'interaction ;
- Surfaces de réponse où les contours sont de nature elliptique lorsque le modèle est du second ordre (Figure 37).[76,97]

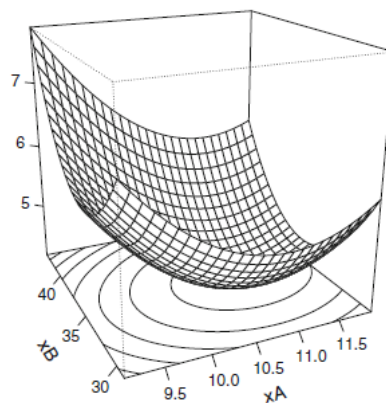


Figure 37 : Tracé de la surface de réponse du modèle de second ordre. [79]

2- L'analyse mathématique et statistique

2-1- L'analyse mathématique

✓ **Calculs des effets principaux et des interactions**

L'effet principal d'un facteur, par exemple A, est calculé par la formule :

$$ME(A) = \bar{Z}(A+) - \bar{Z}(A-) \quad (12)$$

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

$\bar{Z}(A +)$: la moyenne des valeurs Z_i observées au niveau haut de $A(A+)$

$\bar{Z}(A -)$: la moyenne des valeurs Z_i observées au niveau bas de $A(A-)$

Z_i : la moyenne de toutes les observations de l'expérience au niveau haut et bas de A . [98]

Pour le calcul de l'effet d'interaction entre deux facteurs A et B , nous utilisons cette formule :

$$\text{INT}(A, B) = \frac{1}{2} \{ME(B|A+) - ME(B|A-)\} = \frac{1}{2} \{ME(A|B+) - ME(A|B-)\} \quad (13)$$

Ce qui correspond à :

$$\begin{aligned} \text{INT}(A, B) &= \frac{1}{2} \{\bar{Z}(B+|A+) - \bar{Z}(B-|A+)\} - \frac{1}{2} \{\bar{Z}(B+|A-) - \bar{Z}(B-|A-)\} \\ &= \frac{1}{2} \{\bar{Z}(A+|B+) - \bar{Z}(A-|B+)\} - \frac{1}{2} \{\bar{Z}(A+|B-) - \bar{Z}(A-|B-)\} \\ &= \frac{1}{2} \{\bar{Z}(A+|B+) - \bar{Z}(A-|B-)\} - \frac{1}{2} \{\bar{Z}(A+|B-) - \bar{Z}(A-|B+)\} \quad (14) \end{aligned}$$

Où $\bar{Z}(B+|A+)$ désigne la moyenne des valeurs Z_i avec A et B au niveau +, les autres étant définis de manière similaire. [98]

Dans les plans fractionnaires, les effets calculés (contrastes) ne sont plus purs, ils sont mélangés (aliasés) avec les interactions :

$$l_A = A + BD + CE + FG$$

$$l_B = B + AD + CF + EG$$

$$l_C = C + AE + BF + DG$$

$$l_D = D + AB + CG + EF$$

$$l_E = E + AC + BG + DF$$

$$l_F = F + AG + BC + DE$$

$$l_G = G + AF + BE + CD \quad (15) \quad [97]$$

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

✓ Estimation des coefficients de régression

Si nous prenons le modèle de régression :

$$y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \varepsilon \quad (16)$$

Les estimations des paramètres dans ce modèle de régression sont liées aux estimations des effets. β_1 , β_2 et β_{12} sont la moitié de la valeur de l'effet principal correspondant et l'effet d'interaction respectivement, quant à β_0 il est correspond à la moyenne des réponses. Le modèle de régression ajusté est :

$$\hat{y} = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 X_1 + \hat{\beta}_2 X_2 + \hat{\beta}_{12} X_1 X_2 \quad (17)$$

La méthode utilisée pour le calcul de ces coefficients s'appelle la méthode des moindres carrés.[96]

La méthode des moindres carrés est généralement utilisée pour estimer les coefficients de régression dans un modèle de régression linéaire multiple lorsque le nombre d'équations est inférieur au nombre de coefficients.

Si nous prenons ce modèle :

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \dots + \beta_k X_{ik} + \varepsilon = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j X_{ij} + \varepsilon_i \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (18)$$

La méthode des moindres carrés choisit les β dans l'équation de sorte que la somme des carrés des erreurs, ε_i , soit minimisée. La fonction des moindres carrés est :

$$L = \sum_{i=1}^n \varepsilon_i^2 = \sum_{i=1}^n (y_i - \beta_0 - \sum_{j=1}^k \beta_j X_{ij})^2 \quad (19)$$

Le modèle de régression ajusté est :

$$\hat{y}_i = \hat{\beta}_0 + \sum_{j=1}^k \hat{\beta}_j X_{ij} \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (20)$$

Où $\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1, \dots, \hat{\beta}_k$ sont les estimateurs des moindres carrés des coefficients de régression $\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_k$. Ces estimateurs appelés meilleurs estimateurs linéaires sans biais (Best linear

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

unbiased estimator, BLUE) sont les plus précis car leur variance est plus petite que les variances des coefficients obtenues avec le modèle précédent.[95,96,101]

La différence entre l'observation réelle y_i et la valeur ajustée correspondante \hat{y}_i est le résidu,

$$e_i = y_i - \hat{y}_i \quad (21)$$

et l'intervalle de confiance des coefficients est :

$$\hat{\beta}_j - t_{\frac{\alpha}{2}, n-p} se(\hat{\beta}_j) \leq \beta_j \leq \hat{\beta}_j + t_{\frac{\alpha}{2}, n-p} se(\hat{\beta}_j) \quad (22)$$

$p = k + 1$, représente le nombre d'équations normales, une pour chacun des coefficients de régression inconnus.

$se(\hat{\beta}_j)$: erreur standard du coefficient de régression β_j .

La méthode des moindres carrés, citée auparavant est utilisée pour estimer les coefficients des polynômes et l'analyse de la surface de réponse est ensuite effectuée à l'aide de la surface ajustée.

L'analyse d'une surface de réponse de second ordre repose sur le modèle ajusté afin de trouver les conditions de fonctionnement optimales pour les x et caractériser la nature de la surface de réponse.

La première étape de cette analyse commence par la détermination de l'emplacement du point stationnaire (point de réponse maximale, un point de réponse minimale ou un point col)

Ce point est représenté par les niveaux $X_{1s}, X_{2s}, \dots, X_{ks}$ qui représentent les dérivées partielles $\partial \hat{y} / \partial X_1 = \partial \hat{y} / \partial X_2 = \dots = \partial \hat{y} / \partial X_{ks} = 0$, et la réponse prédite au point stationnaire est :

$$\hat{y}_s = \hat{\beta}_0 + 1/2 X' b \quad (23)$$

b : vecteur ($k \times 1$) des coefficients de régression du premier ordre

Ensuite faut caractériser la surface de réponse au voisinage immédiat de ce point (déterminer si le point stationnaire est un point de réponse maximale ou minimale ou un point col) et étudier la sensibilité relative de la réponse aux variables par l'examen direct du tracé de contour du modèle ajusté, ou par une analyse plus formelle, appelée analyse canonique qui aboutit au modèle ajusté exprimé par une équation appelée forme canonique du modèle :

$$\hat{y} = \hat{y}_s + \lambda_1 \omega_1^2 + \lambda_2 \omega_2^2 + \dots + \lambda_k \omega_k^2 \quad (24)$$

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

ω_i : variables indépendantes transformées

λ_i : constantes.

Si les $\{\lambda_i\}$ sont tous positifs, X_s est un point de réponse minimum ; si les $\{\lambda_i\}$ sont tous négatifs, X_s est un point de réponse maximale ; et si les $\{\lambda_i\}$ ont des signes différents, X_s est un point de col.

Dans le cas de réponses multiples à optimiser, une approche simple consiste à superposer les tracés de contour pour chaque réponse et choisir la zone où un certain nombre de combinaisons de niveaux de facteurs permettent d'obtenir un procédé satisfaisant.

Cependant, lorsqu'il y a plus de trois variables de conception, nous utilisons des méthodes d'optimisation plus formelles comme les méthodes de programmation non linéaires réalisées par logiciel ou par l'utilisation des fonctions de désirabilité.[96]

2-2- L'analyse statistique

Les principales hypothèses sur lesquelles nous allons nous baser dans notre étude de l'analyse de régression sont les suivantes :

1. La relation entre la réponse y et les régresseurs est linéaire, au moins approximativement ;
2. Le terme d'erreur a une moyenne nulle ;
3. Le terme d'erreur ε a une variance constante σ^2 ;
4. Les erreurs ne sont pas corrélées ;
5. Les erreurs sont normalement distribuées.

➤ Test de signification de la régression

C'est un test global de l'adéquation du modèle visant à déterminer s'il existe une relation linéaire entre la réponse y et l'une des variables régressives X_1, X_2, \dots, X_k .

Les hypothèses nulles H_0 et alternative H_1 appropriées sont :

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_k = 0 \quad (25)$$

$$H_1: \beta_j \neq 0 \quad \text{pour au moins un } j \quad (26)$$

Le rejet de H_0 implique qu'au moins une des variables X_1, X_2, \dots, X_k contribue de manière significative au modèle.

Ce test repose sur l'analyse de variance (ANOVA) où :

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

$$SS_T = SS_R + SS_E \quad (27)$$

$$\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 = \sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2 + \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (28)$$

SS_T : somme totale des carrés qui mesure la variabilité totale des observations

SS_R : somme des carrés due à la régression (ou au modèle)

SS_E : somme des carrés due au résidu (ou erreur)

La procédure du test pour $H_0 : \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_k = 0$ consiste à calculer :

$$F_0 = \frac{SS_R/k}{SS_E/(n-k-1)} = \frac{MS_R}{MS_E} \quad (29)$$

MS_R : Carré moyen dû à la régression

MS_E : Carré moyen dû à l'erreur

Si $F_0 > F_{\alpha, k, n-k-1}$, H_0 est rejetée.

La procédure décrite ci-dessus peut être résumée dans le (Tableau 24).

Tableau 24 : Analyse de la variance (ANOVA) pour la signification de la régression dans la régression multiple.[102]

Source de variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	F_0
Régression	SS_R	k	MS_R	MS_R/MS_E
Résidu	SS_E	$n - k - 1$	MS_E	
Total	SS_T	$n - 1$		

Alternativement, nous pourrions utiliser l'approche de la valeur P (*P*-value) pour tester les hypothèses. La valeur P est définie comme le plus petit niveau de signification qui conduirait au rejet de l'hypothèse nulle H_0 , ce qui nous amène à rejeter H_0 si la valeur P pour la statistique F_0 est inférieure à α (niveau de signification).

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Deux autres façons d'évaluer l'adéquation globale du modèle sont le calcul du coefficient de détermination multiple R^2 et le R^2 ajusté (R_{adj}^2) définis comme :

$$R^2 = \frac{SS_R}{SS_T} = 1 - \frac{SS_E}{SS_T} \quad (30)$$

$$R_{adj}^2 = 1 - \frac{\frac{SS_E}{n-p}}{\frac{SS_T}{n-p}} = 1 - \left(\frac{n-1}{n-p}\right) (1 - R^2) \quad (31)$$

R^2 est une mesure de la quantité de réduction de la variabilité de y , mais une grande valeur de R^2 ne signifie pas toujours que le modèle est bon car l'ajout d'une variable (statistiquement significative ou non) au modèle augmentera toujours R^2 , ce qui amené certains statisticiens à préférer le R^2 ajustée qui n'augmentera pas toujours à mesure que des variables sont ajoutées au modèle mais diminuera si des termes inutiles sont ajoutés.[93,96,102]

➤ Tests sur les coefficients de régression individuels

Après avoir déterminer qu'au moins un des coefficients de régression est important, l'étape suivante consiste à identifier lequel (s), car l'ajout d'une variable à un modèle de régression entraîne toujours une augmentation de la somme des carrés pour la régression et une diminution de la somme des carrés résiduelle.

Le modèle pourrait être plus efficace avec l'inclusion ou la suppression de variables, et pour déterminer cela nous devons tester les hypothèses pour la signification de tout coefficient de régression individuel, disons β_j , sont

$$H_0: \beta_j = 0 \quad (32)$$

$$H_1: \beta_j \neq 0 \quad (33)$$

La procédure du test pour $H_0 : \beta_j = 0$ consiste à calculer :

$$t_0 = \frac{\hat{\beta}_j}{se(\hat{\beta}_j)} \quad (34)$$

$se(\hat{\beta}_j)$: Erreur standard du coefficient de régression β_j

Si $|t_0| > t_{\frac{\alpha}{2}, n, k-1}$, l'hypothèse nulle $H_0 : \beta_j = 0$ est rejetée, et X_j ne peut être supprimé du modèle.

➤ **Intervalles de confiance**

- **Intervalles de confiance sur les coefficients de régression individuels**

Un intervalle de confiance de $100(1 - \alpha)$ pour cent pour le coefficient de régression $j, j = 0, 1, \dots, k$, est calculé comme suit :

$$\hat{\beta}_j - t_{\frac{\alpha}{2}, n-p} se(\hat{\beta}_j) \leq \beta_j \leq \hat{\beta}_j + t_{\frac{\alpha}{2}, n-p} se(\hat{\beta}_j) \quad (35)$$

- **Intervalle de confiance sur la réponse moyenne**

Nous pouvons calculer un intervalle de confiance sur la réponse moyenne à un point particulier, $X_{01}, X_{02}, \dots, X_{0k}$, où la réponse moyenne est :

$$\mu_{y|x_0} = \beta_0 + \beta_1 X_{01} + \beta_2 X_{02} + \dots + \beta_k X_{0k} \quad (36)$$

Et l'intervalle de confiance de $100(1 - \alpha)$ pour cent sur cette réponse moyenne est :

$$\hat{y}(X_0) - t_{\frac{\alpha}{2}, n-p} \sqrt{\hat{\sigma}^2 X'_0 (X'X)^{-1} X_0} \leq \mu_{y|x_0} \leq \hat{y}(X_0) + t_{\frac{\alpha}{2}, n-p} \sqrt{\hat{\sigma}^2 X'_0 (X'X)^{-1} X_0} \quad (37)$$

$X'X$: matrice

- **Prédiction des nouvelles observations de réponse**

Le modèle de régression peut être utilisé pour prédire les observations futures pour une réponse y_0 au points $X_{01}, X_{02}, \dots, X_{0k}$ à partir de l'équation :

$$\hat{y}(X_0) = X'_0 \hat{\beta} \quad (38)$$

Avec $X'_0 = [1, X_{01}, X_{02}, \dots, X_{0k}]$, et l'intervalle de prédiction de $100(1 - \alpha)$ pour cent pour cette future observation, est calculé comme suit :

$$\hat{y}(X_0) - t_{\frac{\alpha}{2}, n-p} \sqrt{\hat{\sigma}^2 (1 + X'_0 (X'X)^{-1} X_0)} \leq y_0 \leq \hat{y}(X_0) + t_{\frac{\alpha}{2}, n-p} \sqrt{\hat{\sigma}^2 (1 + X'_0 (X'X)^{-1} X_0)} \quad (39)$$

Dans une expérience de confirmation, nous utilisons le modèle développé pour prédire la réponse à un point d'intérêt dans l'espace de conception qui contient les observations originales, car un modèle qui s'adapte bien à la région d'origine peut ne pas s'adapter à l'extérieur de celle-ci, puis nous comparons la réponse prédite avec une observation réelle obtenue avec un autre essai à ce point.

➤ Vérification de l'adéquation du modèle

Les statistiques standard, telles que les statistiques t , F , ou R^2 , sont des propriétés de modèle « globales » qui ne garantissent pas l'adéquation du modèle.

D'autres méthodes sont utilisées pour diagnostiquer les violations des hypothèses de régression de base, et elles reposent principalement sur l'étude des résidus du modèle.

Cependant de nombreux statisticiens préfèrent travailler avec des résidus échelonnés plutôt qu'avec les résidus ordinaires, car ils permettent de trouver des valeurs aberrantes ou des valeurs extrêmes, séparées d'une manière ou d'une autre du reste des données.

- Résidus standardisés

Ils sont calculés comme suit :

$$d_i = \frac{e_i}{\hat{\sigma}} \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (40)$$

$$\hat{\sigma} = \sqrt{MS_E} \quad (41)$$

Ils doivent se situer dans l'intervalle $-3 \leq d_i \leq 3$, et tout résidu en dehors de cet intervalle est potentiellement inhabituel par rapport à sa réponse observée. Ces valeurs aberrantes doivent être soigneusement examinées car elles peuvent survenir d'une erreur d'enregistrement des données ou d'un modèle ajusté qui donne une mauvaise approximation de la véritable surface de réponse.

- Résidus studentisés

En utilisant MS_E comme variance du $i^{\text{ème}}$ résidu, e_i n'est qu'une approximation qui peut être améliorée par la division de e_i par l'écart type exact du $i^{\text{ème}}$ résidu :

$$r_i = \frac{e_i}{\sqrt{\hat{\sigma}^2(1-h_{ii})}} \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (42)$$

h_{ii} : mesure de l'emplacement du $i^{\text{ème}}$ point dans l'espace X

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

L'examen des résidus studentisés est généralement recommandé car tout point présentant un résidu important et un h_{ii} important est potentiellement très influent sur l'ajustement des moindres carrés.

Pour les grands ensembles de données, il y a peu de différence entre les résidus standardisés et studentisés et dans ce cas ils transmettent souvent des informations équivalentes. [79,96,102]

- La somme des carrés de l'erreur de prédiction (The prediction error sum of squares, PRESS)

Une autre approche pour la recherche de valeurs aberrantes est de calculer le PRESS :

$$PRESS = \sum_{i=1}^n e_{(i)}^2 = \sum_{i=1}^n [y_i - \hat{y}_{(i)}]^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{e_i}{1-h_{ii}}\right)^2 \quad (43)$$

Une grande différence entre les résidus ordinaires e_i et les résidus de *PRESS* indiquera un point où le modèle correspond bien aux données, mais un modèle construit sans ce point prédit mal.

Et enfin, nous pouvons calculer un R^2 qui donne une indication de la capacité prédictive du modèle de régression

$$R_{Prédiction}^2 = 1 - \frac{PRESS}{SS_T} \quad (44)$$

- R-Student

Le r_i résiduel studentisé discuté ci-dessus est souvent considéré comme un diagnostic aberrant, et pour cela nous pouvons calculer le R-Student (t_i) :

$$t_i = \frac{e_i}{\sqrt{s_{(i)}^2(1-h_{ii})}} \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (45)$$

$$s_{(i)}^2 = \frac{(n-p)MS_E - e_i^2 / (1-h_{ii})}{n-p-1} \quad (46)$$

Le R-student offre une procédure plus formelle pour la détection des valeurs aberrantes via des tests d'hypothèse, car si la $i^{\text{ème}}$ observation est influente le R-student sera plus sensible à ce point.

➤ Test de manque d'ajustement

En Supposant que nous avons n_i observations sur la réponse au $i^{\text{ème}}$ niveau des régresseurs X_i , $i = 1, 2, \dots, m$ et y_{ij} est la $j^{\text{ème}}$ observation sur la réponse en X_i , $i = 1, 2, \dots, m$ et $j = 1, 2, \dots, n_i$.

$$SS_E = SS_{PE} + SS_{LOF} \quad (47)$$

$$\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2 = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2 + \sum_{i=1}^m n_i (\bar{y}_i - \hat{y}_i)^2 \quad (48)$$

SS_E : somme des carrés résiduelle

SS_{PE} : somme des carrés due à l'erreur pure

SS_{LOF} : somme des carrés due au manque d'ajustement.

Pour tester le manque d'ajustement, nous calculons F_0 :

$$F_0 = \frac{SS_{LOF}/(m-p)}{SS_{PE}/(n-m)} = \frac{MS_{LOF}}{MS_{PE}} \quad (49)$$

Si $F_0 > F_{\alpha, m-p, n-m}$, la fonction de régression n'est pas linéaire, et le modèle provisoire doit être abandonné au profit d'équations plus appropriées, mais si F_0 ne dépasse pas $F_{\alpha, m-p, n-m}$, il n'y a aucune preuve solide d'un manque d'ajustement. [96,102]

➤ L'analyse en composante principale (ACP)

L'ACP est une approche analytique multivariée qui réduit la dimensionnalité d'un ensemble de données composé d'un grand nombre de variables corrélées en quelques indicateurs complets appelés composantes principales (principal component, PC) tout en conservant la variation présente dans l'ensemble de données, permettant ainsi d'identifier les corrélations entre les différentes variables d'entrée et leur effet sur diverses propriétés du produit final, et identifier les valeurs aberrantes et les situations anormales. [103,104]

L'ACP détermine les composants principaux Z_1, Z_2, \dots, Z_n qui sont des combinaisons linéaires des variables originales décrivant chaque échantillon, X_1, X_2, \dots, X_n , sous forme de :

$$Z_1 = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + a_{13}X_3 + \dots + a_{1n} X_n \quad (50)$$

$$Z_2 = a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + a_{23}X_3 + \dots + a_{2n} X_n \quad (51)$$

etc. [105]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Le point de départ de l'ACP est une matrice de données à N lignes (observations) et K colonnes (variables) (Figure 38), générant un tableau de données multivariées sous la forme d'un plan de faible dimension, généralement composé de deux à cinq dimensions (deux à cinq composants principaux), de manière à obtenir une vue d'ensemble des données.[52]

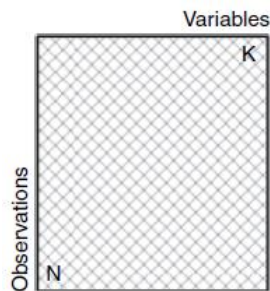


Figure 38 : Matrice de données utilisée dans l'analyse en composantes principales.[52]

Dans l'approche QbD, cet outil chimiométrique puissant peut être utilisé dans la surveillance des processus et le contrôle qualité en gérant une énorme quantité de données interdépendantes afin d'extraire des informations critiques, à l'aide de tracés sous forme de nuage de points (Figure 39) reliant plusieurs composantes principales (PC1, PC2, etc.).[103,104]

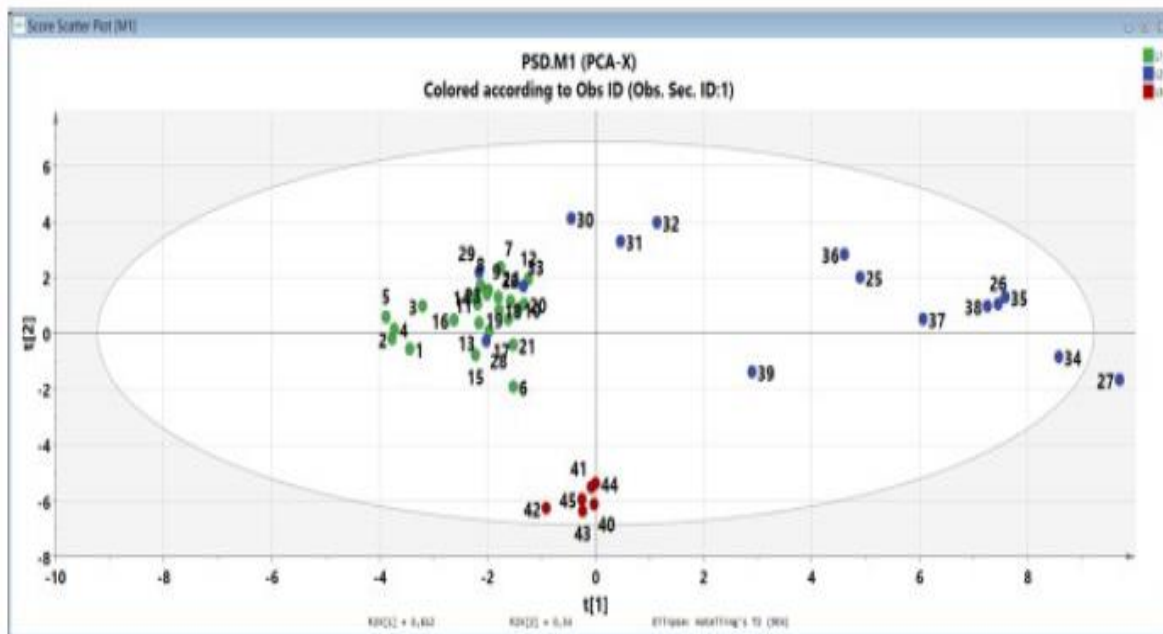


Figure 39 : Diagramme de dispersion de deux principaux composants.[52]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

➤ Les moindres carrés partiels (Partial least squares, PLS)

La PLS utilise des combinaisons linéaires des variables prédictives qui présentent une forte corrélation avec les variables de réponse plutôt que les variables d'origine car elles seront plus efficaces pour la prédiction.

Contrairement à l'ACP où il n'y a qu'une seule matrice (X) à considérer, dans la PLS les variables de réponse unique (y) ou la matrice de réponses (Y) doivent être modélisées et prédites à partir des données X . En d'autres termes, les matrices X et Y sont décomposées en matrices plus petites de telle sorte que de « nouvelles variables X », combinaisons linéaires des anciennes, sont utilisées comme prédicteurs de Y , et seules quelques combinaisons linéaires de ces variables prédictives seront nécessaires pour décrire la majeure partie de la variation.[52,105]

La régression PLS partage avec l'ACP plusieurs points comme les graphiques en forme de nuage de points et des tests statistiques de diagnostic, mais possède aussi des éléments qui lui sont propres utilisées pour fournir une indication de la capacité prédictive du modèle (Tableau 25), ce qui rend la PLS généralement plus robuste que les autres techniques d'analyse multivariée, c'est-à-dire que les paramètres du modèle ne changent pas de manière significative lorsque de nouveaux échantillons sont ajoutés.[106]

Tableau 25 : Désignation et signification des principaux résultats de l'ACP.[99,106]

Désignation	Interprétation
Variance expliquée	Elle permet de mesurer l'adéquation du modèle aux données en mesurant la variance totale incluse dans l'ensemble de données qui doit être comprise entre 0 et 1 ou sous forme d'un pourcentage.
Diagramme des scores	Ce graphique est le plus souvent présenté comme un nuage de points des scores des échantillons sur deux composants et permet d'analyser les échantillons en examinant leurs positions relatives dans le nuage et identifier des grappes (groupements), des observations atypiques et des tendances.
Diagramme des contributions	<p>Représente les coefficients de chaque variable pour la première composante par rapport à ceux associés à la deuxième composante.</p> <p>Permet de déterminer les variables qui ont la plus grande incidence sur chaque composante :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Proche de -1 et 1 : la variable influence fortement la composante. - Proche de 0 : la variable influence faiblement la composante. <p>Pour une meilleure compréhension des mesures les diagrammes des scores et des contributions doivent être examinés conjointement superposés dans un biplot.</p>
Le T^2 de Hotelling	Mesure la distance entre l'échantillon et le centre du modèle. Les échantillons avec un T^2 de Hotelling élevé sont différents de tous les autres échantillons et peuvent avoir une grande influence dans le modèle obtenu.
Résidus	Mesure le manque d'ajustement du modèle à chaque échantillon. Les échantillons avec des résidus élevés sont mal expliqués par le modèle

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

(Suite)

Variance expliquée (R^2) en Y	<p>Cette valeur indique dans quelle mesure la variance totale incluse dans la variable dépendante (Y) est expliquée par le modèle :</p> <ul style="list-style-type: none"> - $R^2= 0\%$: le modèle n'explique aucunement la variabilité des données de réponse autour de sa moyenne. - $R^2=100\%$: le modèle explique toute la variabilité des données de réponse autour de sa moyenne.
Variance prédite (Q^2) en Y	Fournit une évaluation plus réaliste de la capacité prédictive du modèle lorsqu'il est appliqué à de nouveaux échantillons.
Racine de l'erreur quadratique moyenne (Root Mean Square Error, RMSE)	Compare les valeurs prédites et mesurées (pour la variable dépendante) et donne une mesure de la capacité du modèle à expliquer/prédire la variable dépendante (erreur plus élevée, modèle médiocre).
Coefficients de régression	Les coefficients de régression reflètent l'importance relative des variables pour le modèle et peuvent être utilisés pour évaluer quelles sont les variables d'origine ayant une relation plus forte avec la variable dépendante (Y).
Importance variable pour la projection (Variable Importance for the Projection, VIP)	Le graphique VIP résume l'importance de chaque variable d'origine dans le modèle de régression.

I.4.5 : La stratégie de contrôle (Control Strategy)

La stratégie de contrôle est un : « *Un ensemble planifié de contrôles, dérivé de la compréhension actuelle du produit et du processus, qui assure la performance du processus et la qualité du produit. Les contrôles peuvent inclure des paramètres et des attributs liés aux matériaux et aux composants de la substance médicamenteuse et du produit médicamenteux, aux conditions d'exploitation de l'installation et de l'équipement, aux contrôles en cours de fabrication, aux spécifications du produit fini, ainsi qu'aux méthodes et à la fréquence de surveillance et de contrôle associées.* ». [21]

Une stratégie de contrôle peut se résumer dans les éléments suivants :

- Contrôles sur les attributs des matériaux (y compris les matières premières, les intermédiaires, les réactifs, les matériaux d'emballage primaire pour la substance médicamenteuse, etc.) ;
- Contrôles implicites dans la conception du processus de production (par exemple l'ordre d'ajout de réactifs) ;
- Contrôles en cours (y compris les tests en cours et les paramètres de processus) ;
- Contrôles de la substance médicamenteuse, Exemple : tests de libération. [29]

Elle peut être développée grâce à une combinaison d'approches (Figure 40) :

- Une approche traditionnelle minimaliste qui met l'accent d'avantage sur les produits intermédiaires, les produits finis, les attributs des matières et du processus, en définissant les points et les intervalles de fonctionnement à contrôler pour assurer la cohérence de la fabrication. Cette approche offre une flexibilité limitée car elle ne permet pas de correction à mi-parcours pour tenir compte de la variation des matériaux de départ ou des perturbations du processus, et ne permet pas non plus une flexibilité au sein d'une même série de production ou entre séries pour utiliser le concept d'espace de conception. [52,107]
- Une approche améliorée (Tableau 27), développée en plusieurs itérations, à mesure que le niveau de compréhension du processus augmente au cours du cycle de vie ce qui offre une flexibilité pour traiter la variabilité. Les contrôles ici sont déplacés en amont permettant des tests réduits sur les produits finis, des attributs de matières surveillés et des paramètres de processus automatiquement ajustés pour garantir que les CQAs répondent systématiquement aux critères d'acceptation. [29,52]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

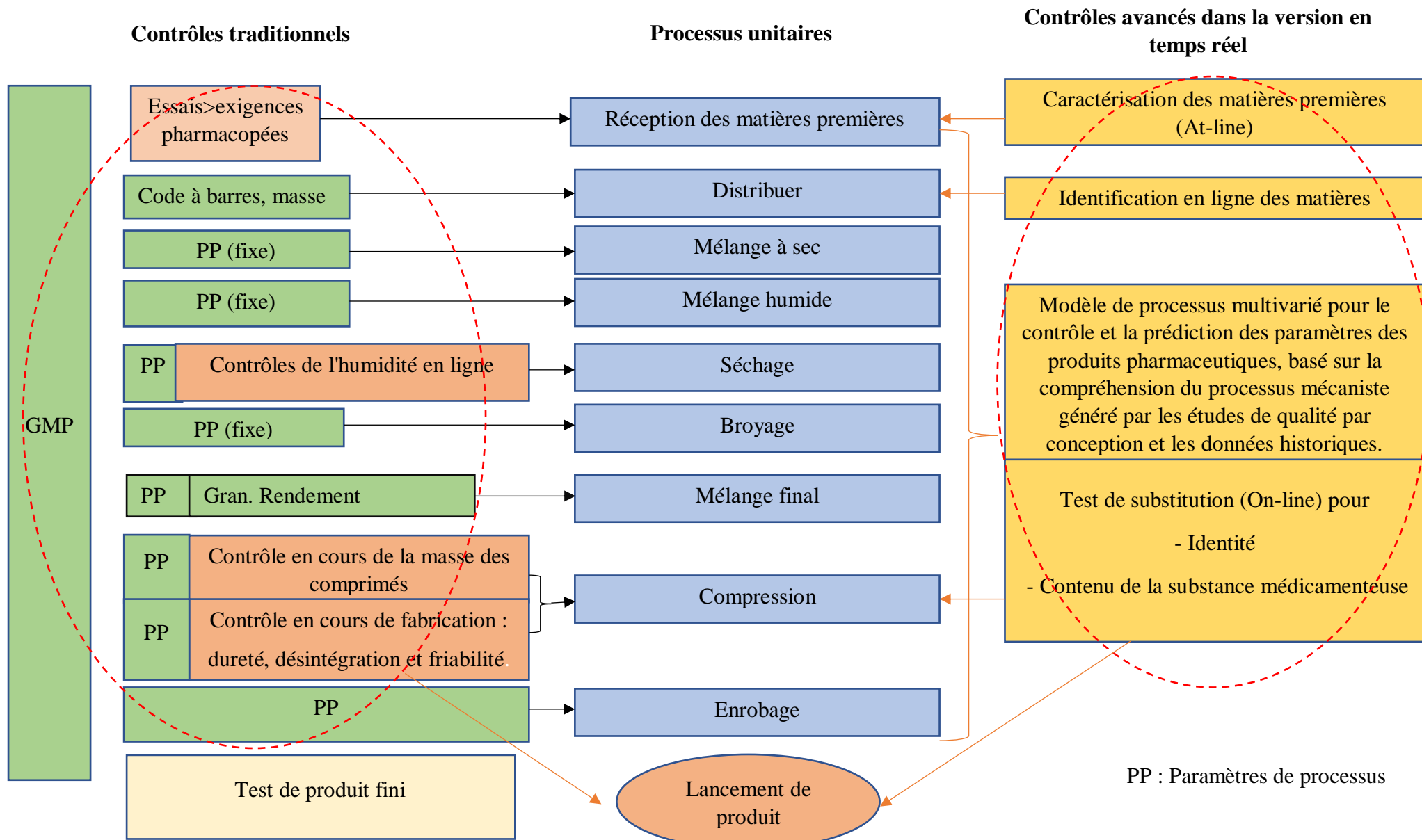


Figure 40 : Comparaison de contrôles traditionnels avec des contrôles avancés pour la libération en temps réel d'une forme posologique solide orale.[52]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Les paramètres du procédé qui doivent être contrôlés pour garantir la production d'un produit de qualité requise sont des conditions établies (ECs).[34] Dans ce but, l'utilisation d'outils comme la PAT avec des contrôles d'anticipation et de rétroaction du contrôle avancé du processus (Advanced Process Control, APC) devrait être appliquée pour une approche QbD améliorée et une stratégie de contrôle holistique basée sur une évaluation rapide et raisonnable de l'espace de conception.

L'APC est une approche qui permet de résoudre des problèmes de contrôle multivariés et/ou complexes en utilisant un modèle qui décrit les relations entre les entrées de processus, les CPPs et les CQAs qui doivent être maintenus dans l'espace de conception (Figure 41).

Les logiciels de modélisation de processus sont basés sur des algorithmes de contrôle mathématiquement avancés qui utilisent des techniques prédictives, adaptatives et d'optimisation, et comparent les données en temps réel à un profil de lot idéal, identifient les paramètres qui doivent être modifiés pour atteindre l'idéal et les renvoient au système de contrôle.[52,107,108]

La PAT est « *un système de conception, d'analyse et de contrôle de la fabrication au moyen de mesures opportunes (c.-à-d. pendant le traitement) des attributs critiques de la qualité et du rendement des matières premières et des procédés en cours de fabrication, dans le but d'assurer la qualité du produit final.* »[16]

La PAT offre une « version en temps réel » où les attributs des matériaux sont mesurés et contrôlés avec les paramètres de processus à l'aide de méthodes d'analyse de processus variées fournissant ainsi un processus robuste.[109,110]

Dans ce cadre, ces méthodes d'analyse peuvent être classées comme suit :

- Outils multivariés pour la conception, l'acquisition et l'analyse de données (méthodologies de surface de réponse, simulation de processus, etc) ;
- Analyseurs de processus (at-line, on-line et in-line) ;
- Outils de contrôle de processus (Contrôles statistiques multivariés) ;
- Outils d'amélioration continue et de gestion des connaissances.[111]

L'utilisation des deux stratégies citées ci-dessus peut surmonter les limites des stratégies de contrôle traditionnelle et permet :

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

- La surveillance en temps réel des entrées et sorties du processus ;
- La prédiction et la détermination de tout écart potentiel par rapport à l'intervalle souhaitée ;
- Le calcul du changement nécessaire dans les entrées du processus pour minimiser la déviation potentielle des sorties du processus.[107]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Tableau 26 : Quelques éléments de la stratégie de contrôle améliorée.[112]

Thèmes	Approche traditionnelle	Approche améliorée (état actuel ou futur)	Avantages de l'approche améliorée
Procédures analytiques	Les procédures analytiques sont fixes (Technique unique, avec des critères de performance de la méthode associés)	La performance de la méthode est définie par la technique (Chromatographie, spectroscopie, etc.) des critères spécifiques (par exemple, l'adéquation du système) ou par un profil cible analytique (Analytical Target Profile, ATP) indépendant de la technique	Facilite les changements/améliorations de l'analyse tout au long du cycle de vie, en soutenant l'amélioration continue
Contrôle des impuretés	Les spécifications (tests et limites) pour les impuretés dans les matières premières, les produits intermédiaires et les API sont fondées sur ce qui a été observé dans les lots	Les tests et les limites sont basés sur la sécurité, l'efficacité et la compréhension du processus de formation des impuretés potentielles	Se concentre sur la définition de limites sûres et liées au processus de fabrication défini. La stratégie de contrôle est axée sur ce qui doit être contrôlé en fonction de la science et des risques

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

(Suite)

	<p>La stratégie de contrôle est basée principalement sur des tests de spécification et toutes les impuretés sont contrôlées dans la spécification API</p> <p>Les impuretés ayant une incidence sur les API sont contrôlées en plusieurs points (p. ex., matières premières et produits intermédiaires)</p> <p>les contrôles paramétriques et les attributs ne sont pas liés</p>	<p>La stratégie de contrôle est basée sur une évaluation scientifique des impuretés potentielles</p> <p>Une stratégie de contrôle holistique est développée, basée sur la compréhension des processus</p> <p>Les contrôles en cours de processus (Par exemple paramétriques ou PAT) sont pris en compte dans l'évaluation des contrôles nécessaires dans les produits intermédiaires ou les API</p> <p>Un seul point de contrôle lorsque cela est justifié pour les impuretés considérées comme CQAs (Par exemple l'ICHM7 Option 4)</p> <p>Les spécifications pour les produits intermédiaires et le produit final sont simplifiées</p>	<p>La Fréquence des tests redondants est réduite et la complexité des procédures analytiques est amoindrie</p> <p>Diminution du besoin de maintenir et/ou de transférer des méthodes analytiques redondantes tout au long du cycle de vie du produit</p> <p>Facilite les changements/améliorations de l'analyse au cours du cycle de vie</p> <p>Prend en charge l'amélioration continue des processus</p>
--	---	---	---

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

(Suite)

	L'étude de la purge des impuretés réelles et potentielles nécessite une synthèse et une analyse chimique	L'évaluation des impuretés potentielles comprend la prise en compte et la modélisation de la purge	Fournit une évaluation et une compréhension plus complètes des impuretés potentielles, ce qui permet un développement et une introduction plus rapides des changements
	Les tests pour les produits intermédiaires et les API sont fixés au point de validation et maintenus tout au long du cycle de vie	Les tests pour les API et les produits intermédiaires varient au cours du cycle de vie en fonction des connaissances et des risques (Par exemple, des tests plus rigoureux dans le cadre du contrôle des changements)	Les tests sont alignés sur les connaissances, l'expérience et le risque Contrôle des changements plus rigoureux Prend en charge l'amélioration continue des processus

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

(Suite)

Descriptions des processus de fabrication	Paramètres décrits par des points de consigne fixes ou des plages étroites Interactions entre paramètres non évalués	Les interactions sont comprises Les Paramètres sont décrits par une bonne compréhension des espaces de conception Possède un potentiel pour justifier des intervalles unilatéraux. Contrôle par différents types d'espaces de conception	Les pratiques de contrôle des changements sont moins restrictives et réduisent les coûts et la complexité de l'amélioration continue Permet le développement d'une stratégie de contrôle qui est robuste aux changements d'équipement, d'échelle et de site de fabrication Réduit le risque de changement de processus Incidence sur la robustesse ou la qualité du processus
	Les paramètres critiques du procédé (CPPs) sont non connus et/ou non identifiés Mise à jour réglementaire pour toutes les modifications des intervalles de paramètres avec généralement une approbation préalable	Les CPPs et les non CPPs sont identifiés. Les modifications des non-CPP se font uniquement par notification	Soutient les changements apportés aux processus et à la chaîne d'approvisionnement et réduit la probabilité d'écarts imprévus Permet d'utiliser plus de zones d'espace d'exploitation et potentiellement améliore la qualité Fournit une compréhension supplémentaire du processus

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

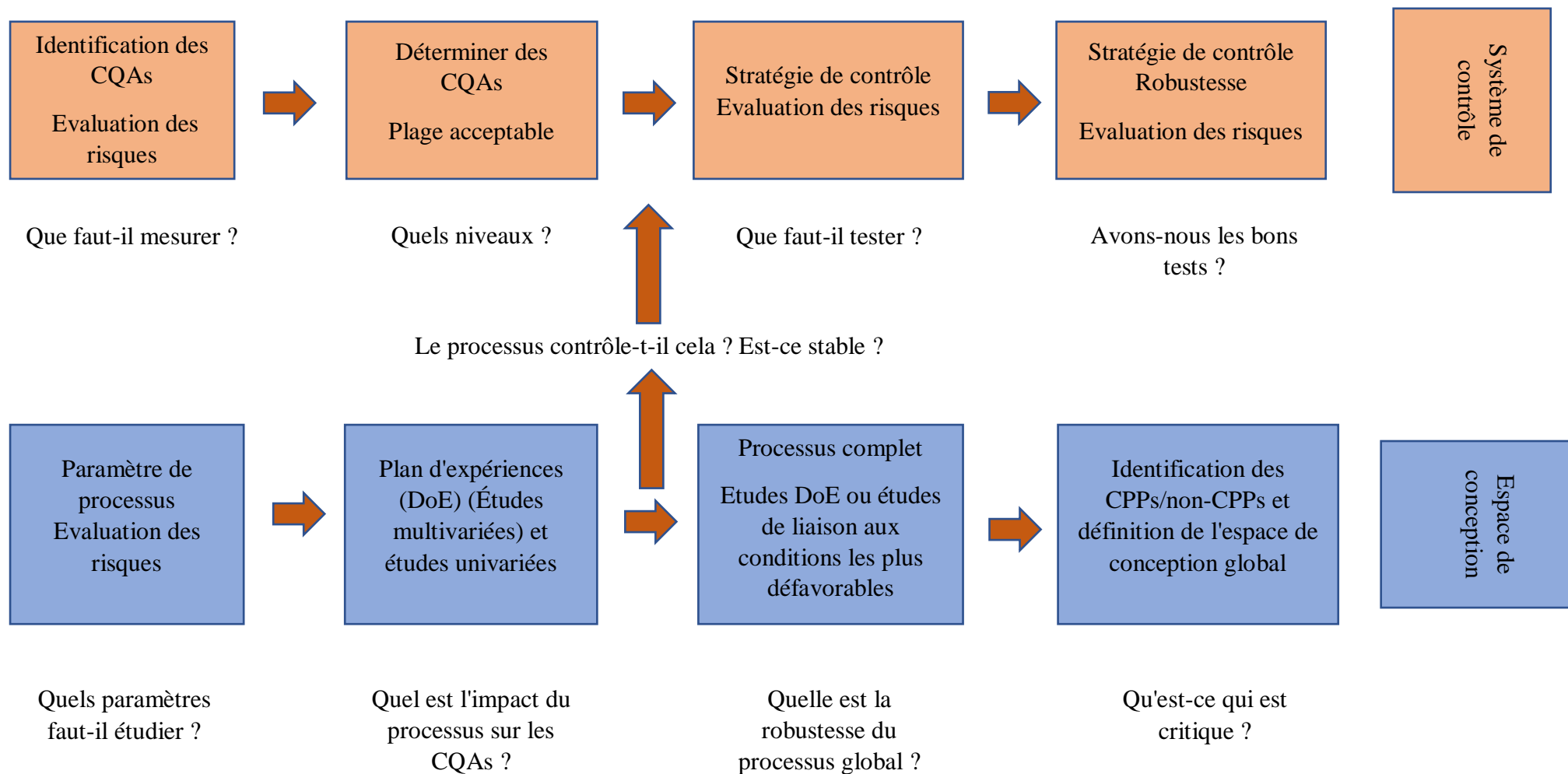


Figure 41 : Interrelation entre la stratégie de contrôle et l'espace de conception.[109]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

Il faut souligner aussi que :

- Différentes stratégies de contrôle peuvent être utilisées pour le même produit ;
- Différentes stratégies de contrôle peuvent être appliquées sur différents sites ou lors de l'utilisation de différentes technologies pour le même produit sur le même site.

Cela est dû à l'équipement, aux installations, aux systèmes, aux exigences commerciales ou aux résultats des évaluations/inspections réglementaires.[113]

I.4.6 : La gestion du cycle de vie des produits et l'amélioration continue (Product Lifecycle Management and Continual Improvement)

La gestion du cycle de vie des produits repose en grande partie sur des données qualitatives et quantitatives, qui peuvent être utilisées pour mettre en évidence les problèmes potentiels de qualité (Attributs des matériaux, paramètres de processus, etc.) et implique la mise en œuvre de mesures pour maintenir, améliorer et contrôler la qualité des produits.[114]

L'amélioration continue en ce qui concerne la cohérence et le débit des processus est propice à l'amélioration de la flexibilité de la production et à la réduction du fardeau réglementaire (moins de soumissions après approbation), il est donc recommandé de collecter en continu de nouvelles données de processus pendant la production quotidienne, améliorer continuellement le modèle en fonction des données, et mettre à jour et maintenir régulièrement l'espace de conception pour améliorer sa fiabilité et permettre une évaluation des risques plus éclairée conformément à la norme ICH Q9 concernant les effets des changements de processus et des écarts de fabrication sur la qualité du produit.[115,116]

Les performances du processus peuvent être surveillées pour s'assurer qu'il fonctionne comme prévu et fournit les attributs de qualité du produit prévus par l'espace de conception en s'appuyant sur des expériences supplémentaires acquises lors de la fabrication de routine.

Pour certains espaces de conception basés sur des modèles mathématiques, une maintenance périodique pourrait être utile pour assurer les performances du modèle à condition que l'espace de conception reste inchangé.[16,117]

Des approches statistiques pour évaluer la capacité d'un processus ont été développées et utilisées pour favoriser l'amélioration continue. Les deux principaux indices de capabilité les plus couramment utilisés sont le C_p (pour les processus centrés à la moyenne des limites de

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement galénique

spécification) et le C_{pk} (pour les processus qui ne sont pas centrés à la moyenne de la limite de spécification) :

$$C_p = [USL - LSL]/6\sigma \quad (52)$$

$$C_{pk} = \min \left[\frac{(USL - \mu)}{3\sigma}, \frac{\mu - LSL}{3\sigma} \right] \quad (53)$$

USL et LSL : limites de spécification inférieure et supérieure du procédé (lower and upper specification limits of the process) ;

μ et σ : moyenne et l'écart type du processus.

Les processus avec des indices de capacité supérieurs à 1 sont considérés comme capables (parfois nous prenons les valeurs supérieures à 1,33) et sont réputés fonctionner à une variation élevée si les indices sont inférieurs ou proche de zéro.[37,118]

II. Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

II.1 : Définition et aspects réglementaires du QbD analytique

L'approche QbD peut être étendue au développement, à l'amélioration continue de la robustesse et à la compréhension des méthodes analytiques, car l'échec de ces méthodes est de plus en plus fréquent, en particulier lors de leur transfert ainsi que lors du contrôle qualité.

Dans ce cadre, l'ICH Q10 a inclus les méthodes analytiques dans le cadre de la stratégie de contrôle dès 2008, car les facteurs analytiques critiques sont identifiés dans une approche parallèle à ce qui est décrit pour le développement de processus dans ICH Q8, Q9 et Q11.

En 2010, la Pharmaceutical Research and Manufactures of America (PhRMA), l'Analytical Technical group (ATG) et l'European Federation of Pharmaceutical Industries and Association (EFPIA) ont aussi donné des idées claires sur la mise en œuvre parallèle du QbD aux méthodes analytiques comme l'HPLC (High Performance Liquid Chromatography), l'UHPLC (Ultra High Performance Liquid Chromatography), la LC-MS (Liquid Chromatography–Mass Spectrometry), etc. [119,120]

Vers la fin de 2013 et au début de 2014, l'USFDA organisa quelques conférences scientifiques pour insister sur la mise en œuvre du concept existant du QbD dans le développement de méthodes analytiques, et en 2015, cette agence a publié une nouvelle directive à l'intention de l'industrie concernant les procédures analytiques et la validation des méthodes pour les médicaments et les produits biologiques en adoptant une approche systématique, commençant par une évaluation initiale des risques et suivie d'expériences multivariées sur les paramètres de la méthode.[7,121,122]

En 2017, l'US Pharmacopeial Convention's Chemical Analysis Expert Committee a proposé un nouveau chapitre général pour la United States Pharmacopeia (USP) : « The Analytical Procedure Lifecycle (1220) », qui décrit le cycle de vie complet de la procédure analytique tout en étant cohérent avec les principes ICH Q8(R2), Q9, Q10 et Q11.[122,123]

En 2018, l'ICH a commencé à préparer une nouvelle directive Q14/ Q2(R1) pour le développement et la validation des procédures analytiques afin de réviser la directive Q2(R1) concernant la validation des procédures analytiques en introduisant un nouveau concept appelé QbD analytique (Analytical Quality by Design, AQbD).[122,124]

L'AQbD est défini comme une procédure méthodologique de développement de méthodes analytiques fondée sur la science et le risque, qui commence par des objectifs prédéfinis

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

d'amélioration des performances, de la robustesse, de la rentabilité et de la flexibilité en vue d'une amélioration continue et aboutissant à des méthodes applicables tout au long du cycle de vie du produit.[125,126]

Toutes les directives citées ci-dessus ont permis l'introduction de plus en plus du concept AQbD dans les différents travaux scientifiques (Figure 42).

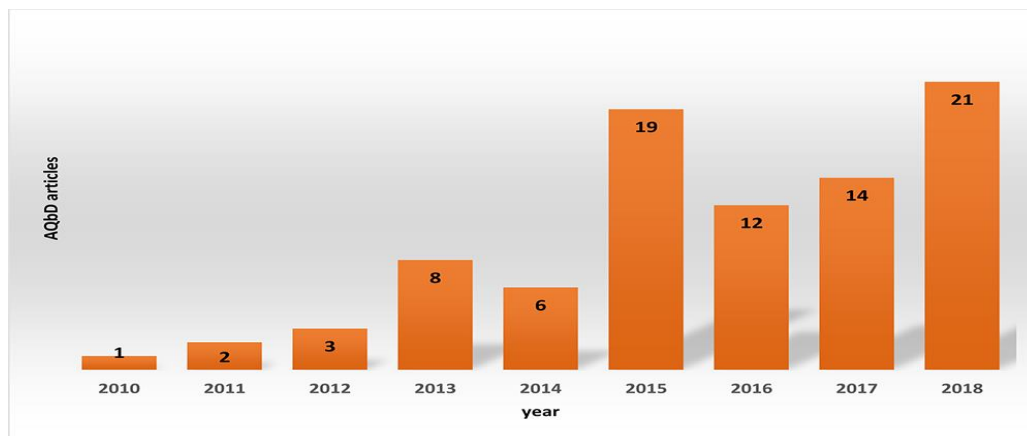


Figure 42 : Nombre de publications scientifiques sur l'AQbD de 2010 à 2018.[122]

II.2 : Comparaison entre l'approche AQbD et le QbD

Les principes QbD lorsqu'ils sont appliqués au développement de méthodes analytiques sont appelés « AQbD », cependant quelques différences existent entre les deux approches (Tableau 28), mais le résultat est une méthode robuste qui fournit les performances attendues tout au long de son cycle de vie.[7]

Tableau 27 : Comparaison entre l'approche QbD et AQbD.[7,121]

QbD	AQbD
Le profil cible de qualité du produit (QTPP) est soigneusement établi : type d'administration du médicament, forme posologique, pharmacocinétique, etc.	L'objectif du profil cible analytique (ATP) est décrit après un examen attentif : définir ce qu'il faut quantifier et comment quantifier
Les attributs de qualité critiques (CQAs) définissent les : attributs physiques, identification, dosage, dissolution, Impuretés, etc.	Les attributs de qualité critiques (CQAs) concernent les exigences de séparation, d'identification, d'exactitude, de précision, de robustesse, etc.
Les Paramètres de processus critiques (CPPs) concernent les paramètres de processus qui pourraient avoir un impact sur la qualité tels que : le niveau d'agitation, la température, le pH, etc.	Les attributs critiques de méthode (Critical Method Attributes, CMAs) permettent d'identifier les paramètres de la méthode qui pourraient avoir un impact sur les performances de la méthode, tels que : le pH du tampon, la température de la colonne, le volume d'injection, la concentration de solvant organique, etc.
Les attributs de matériaux critiques (CMAs) permettent d'évaluer la criticité, le type et la qualité des matières premières utilisées dans la formulation	Contrôles des matières critiques (Critical Material Controls, CMCs) permettent d'évaluer les réactifs, leurs grades et les concentrations utilisés dans l'analyse
La conception d'expériences (DoE) permet de créer un espace de conception (DS) où des changements dans le processus peuvent être facilement effectués	La conception d'expériences (DoE) permet de créer une région de conception opérationnelle de la méthode (Method Operable Design Region, MODR) flexible permettant facilement des changements
La validation du processus permet d'établir la preuve pratique qu'un processus apporte de manière fiable des produits de qualité	La validation de la méthode permet d'établir la preuve pratique que la méthode apporte de manière fiable des résultats de qualité

(Suite)

La stratégie de contrôle et la gestion des risques permet la production du produit avec la qualité souhaitée et des améliorations continues	La stratégie de contrôle et la gestion des risques permet d'obtenir une méthode avec des performances, des résultats acceptés et des améliorations continues
Processus prospectif et rentable	Processus prospectif et rentable

II.3 : Les avantages de l'AQbD

- Compréhension scientifique et contrôle accru des méthodes permettant une amélioration continue tout au long du cycle de vie ;
- Réduction de la variabilité des attributs de qualité critiques améliorant ainsi la robustesse de la méthode ;
- Flexibilité dans l'analyse des APIs, des impuretés dans les formes posologiques, des échantillons de stabilité et des métabolites dans les échantillons biologiques ;
- Maintient des valeurs des attributs analytiques conformes aux pharmacopées et à l'écart des limites OOS, OOT et OOC ;
- Facilité de transfert des méthodes au niveau de la production ;
- Absence d'exigence de revalidation au sein du MODR, assurant une plus grande flexibilité réglementaire.[13,14]

II.4 : Les éléments de l'AQbD

Les éléments de l'approche AQbD peuvent être résumés en plusieurs étapes (Figure 43).

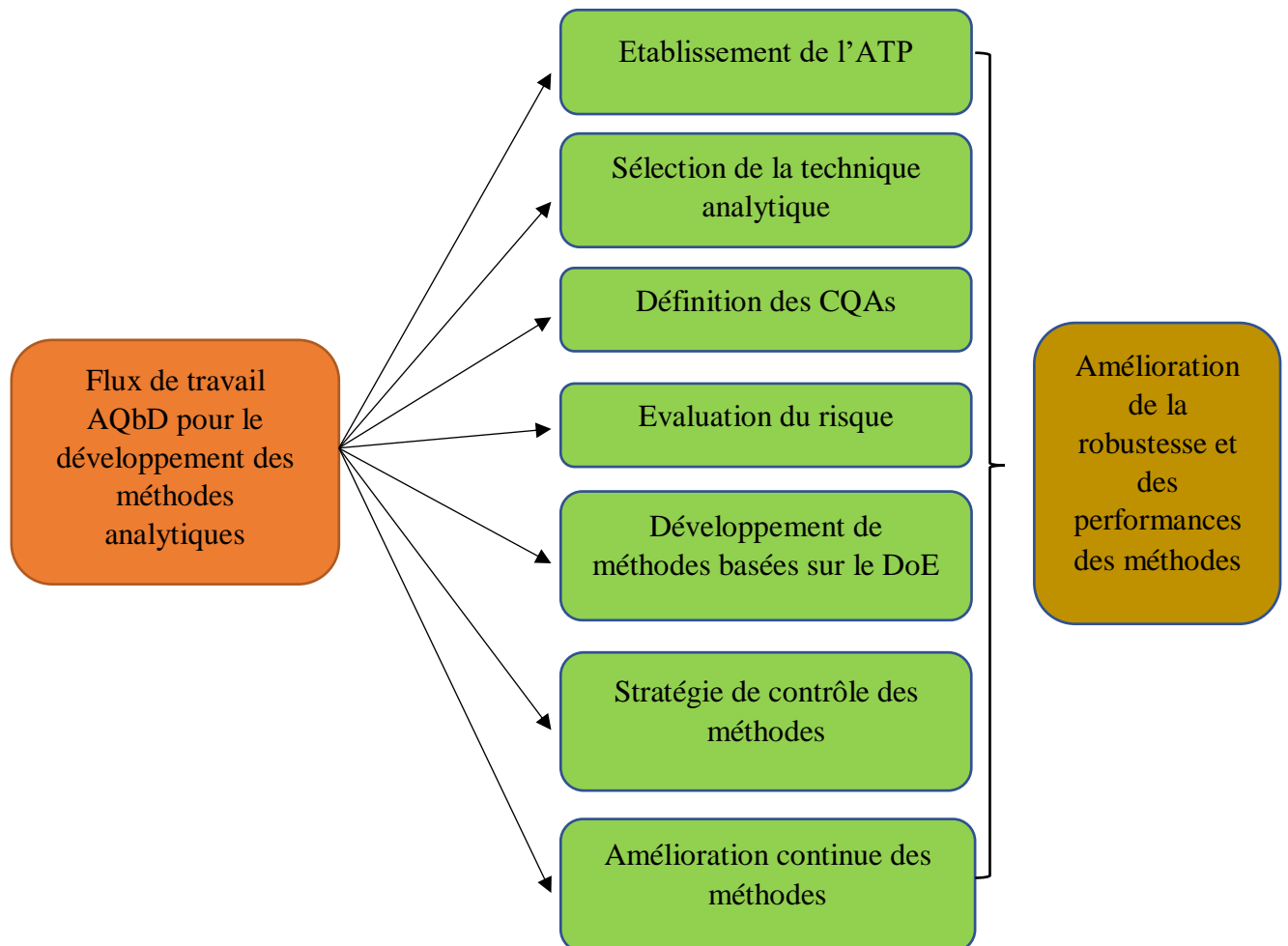


Figure 43 : Flux de travail AQbD pour le développement des méthodes analytiques.[127]

II.4.1 : Le profil cible analytique (Analytical Target Profile, ATP)

Une procédure analytique doit être adaptée à son objectif tout au long de son cycle de vie (Figure 44).[128] Pour l'atteindre, l'approche AQbD est un outil efficace, elle débute avec un point de référence appelé profil cible analytique qui regroupe les spécifications ou l'utilisation prévue de la procédure [129,130], et constitue la base pour le développement de la stratégie de contrôle analytique (Analytical control strategy, ACS) conformément à ICH Q10.[131]

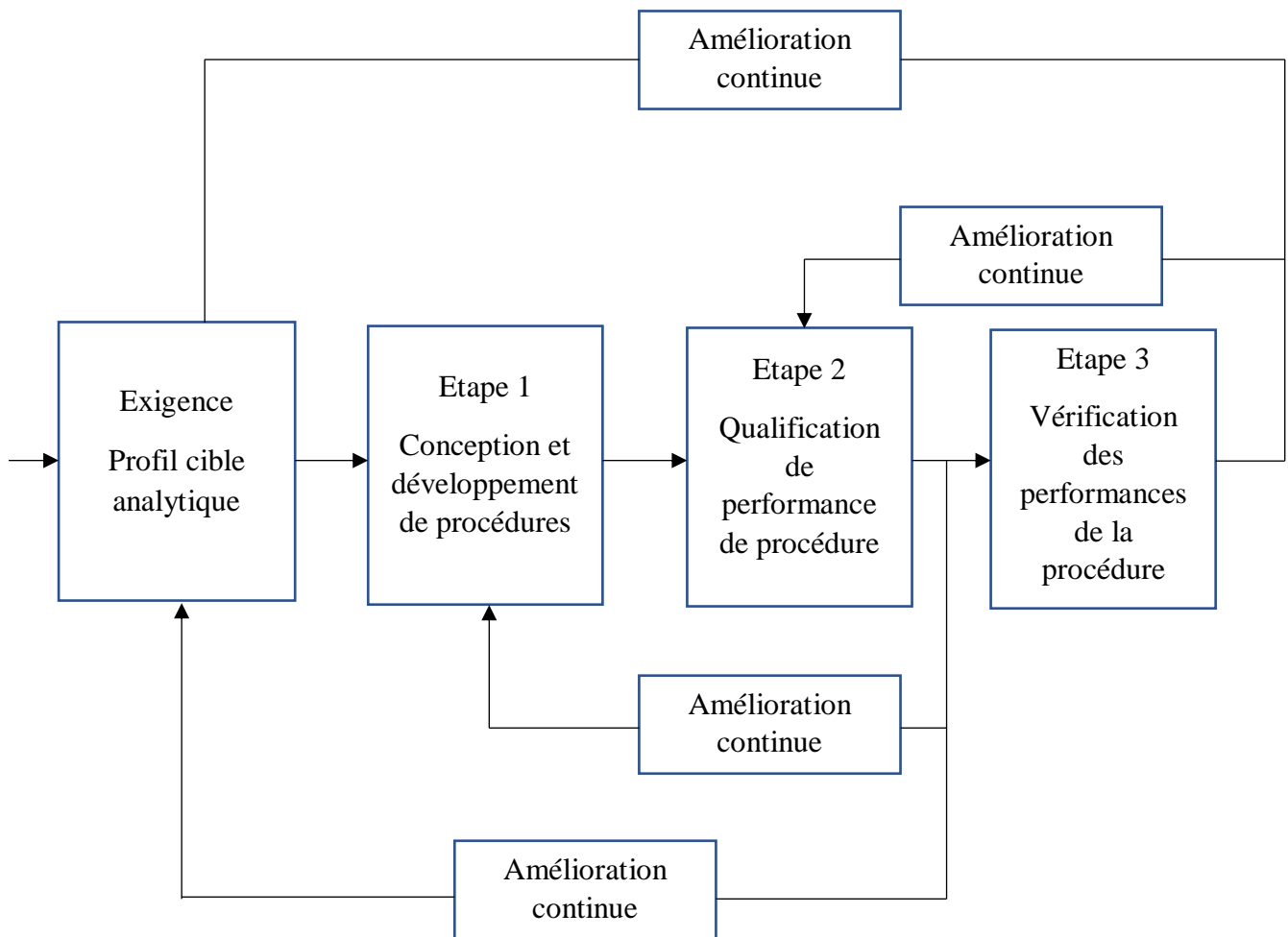


Figure 44 : Cycle de vie d'une procédure analytique.[130]

Ce terme analogue au QTPP a été développé par l'EFPIA et la PhRMA et illustré dans le nouveau chapitre général de l'USP proposé <1220> .[130,132,133]

L'élaboration de l'ATP passe par l'identification des variables de la procédure analytique potentiellement influentes sur la valeur à déclarer (exactitude et précision) et la compréhension de leur rôle dans l'affectation de ces résultats.[131,133] Il doit spécifier l'utilisation prévue de la méthode analytique, respecter les spécifications du client et suivre les exigences des directives réglementaires. En l'absence d'exigences externes, le laboratoire doit développer ses procédures en se référant à l'ISO /IEC 17025 (International Organization for Standardization/International Electrotechnical Commission 17025).[129,134,135]

L'ATP est essentiellement indépendant de la technique analytique employée car il définit les caractéristiques de la méthode permettant de mesurer les attributs de qualité critiques du produit et de ce fait toute méthode est applicable à condition que ces attributs satisfassent à l'ATP.[136]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

D'un point de vue général l'ATP regroupe les éléments suivants (Tableau 29), par exemple :

- Types d'échantillons à tester et leur préparation ;
- Analyte (s) à mesurer (APIs et impuretés) ;
- Matrice contenant l'analyte ;
- Intervalle sur laquelle le ou les analytes doivent être mesurés pour le résultat ;
- Préparations des standards ;
- La méthode analytique et son application (HPLC, GC (Gaz Chromatography), HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography), HPLC chirale, ionique, etc.) ;
- Caractéristiques de l'appareillage ;
- Attributs de qualité tels que la sélectivité et la précision / exactitude.[130,137–139]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

Tableau 28: Exemple d'éléments constituant un ATP.[138,140]

Eléments de l'ATP	Cible	Justification
Échantillon cible	Ingrédient actif (API), produit pharmaceutique fini (PF), etc.	Développer une méthode analytique pour la quantification de certaines molécules dans l'API, PF, etc.
Type de méthode	Phase inverse, phase normale, etc.	Sur la base de la polarité de la molécule, le type de méthode doit être ciblé
Exigence relative aux instruments	HPLC, GC, potentiomètre, etc.	Sur la base de la présence de chromophores, de la volatilité et d'autres spécificités structurales et moléculaires de la fraction, la méthode doit être expliquée
Caractéristiques de l'échantillon	Solide, liquide, poudre pour suspension buvable, suppositoires, comprimés à libération prolongée, etc.	La technique d'extraction des échantillons doit être ciblée, la nécessité d'un sonicateur, d'un agitateur mécanique, d'une centrifugeuse et de filtres pourrait être définie
Préparation de l'étalon et de l'échantillon	Pesée et choix du solvant approprié pour la dilution	Justifié par la solubilité et le pKa du médicament
Application de la méthode	Dosage des échantillons : API/PF/Produits en cours de production	Le profilage commence par la cible de la méthode commune de quantification : API, PF, produits en cours de production, échantillons de stabilité, uniformité de teneur, etc.

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

Spécificité	Aucune interférence entre le blanc, le placebo et les impuretés ne doit être observée	Exigences de la ligne directrice ICH Q2 (R1)
Précision de la méthode, Répétabilité/Reproductibilité	Méthode précise avec un RSD inférieur à 2,0%	Exigences de la ligne directrice ICH Q2 (R1)
Précision	Le taux de recouvrement doit être compris entre 98 et 102%	Exigences des lignes directrices de l'ICH Q2 (R1)
Linéarité	La linéarité à différents niveaux de concentration doit être obtenue	Le coefficient de corrélation ne doit pas être inférieur à 0,99 et conformément aux exigences des lignes directrices de l'ICH
Robustesse	Les résultats du test ne doivent pas être affectés par de petits changements des paramètres de la méthode	Les résultats ne devraient pas être affectés par les variabilités perçues lors de la préparation
Stabilité	Le pic principal doit être pur même après dégradation forcée	Exigences des lignes directrices ICH Q 1A-Q1F
Chromatographie verte	Utiliser un minimum de pourcentage de phase organique possible	La méthode développée doit être respectueuse de l'environnement

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

Cependant il existe une démarche statistique plus rigoureuse pour déterminer l'ATP basée sur l'incertitude de mesure totale ou incertitude de mesure cible (Target Measurement Uncertainty, TMU), qui est l'incertitude maximale acceptable du résultat à déclarer mesurant la différence entre la valeur réelle et la valeur mesurée, et permettant de prendre des décisions tout en restant adapté à l'objectif de la procédure analytique.[129,141,142]

Dans le Vocabulaire International de Métrologie (VIM), le TMU est défini comme «*l'incertitude de mesure spécifiée comme une limite supérieure et décidée sur la base de l'utilisation prévue des résultats de mesure*». [143]

Le TMU est directement lié aux résultats générés par la procédure et est représenté sous forme de TMU ($\pm C\%$) où C décrit le TMU acceptable [141], par exemple un ATP pour une méthode de dosage se présente ainsi:

Dosage : La procédure doit être en mesure de quantifier avec précision le principe actif X dans des comprimés pelliculés sur un intervalle de 80 à 120% de la concentration nominale avec une exactitude et une précision telles que les mesures se situent à $\pm 3,0\%$ de la valeur réelle avec une probabilité d'au moins 95% (Figure 45).[144,145]

Les erreurs aléatoires (précision) et le biais ou erreurs systématiques (exactitude) examinées d'une manière globale représentent le TMU associée à la valeur à déclarer générée par la procédure[141,146], qui donnant un résultat avec une incertitude standard de 1,0% ou moins, sera adaptée à l'utilisation prévue.[147]

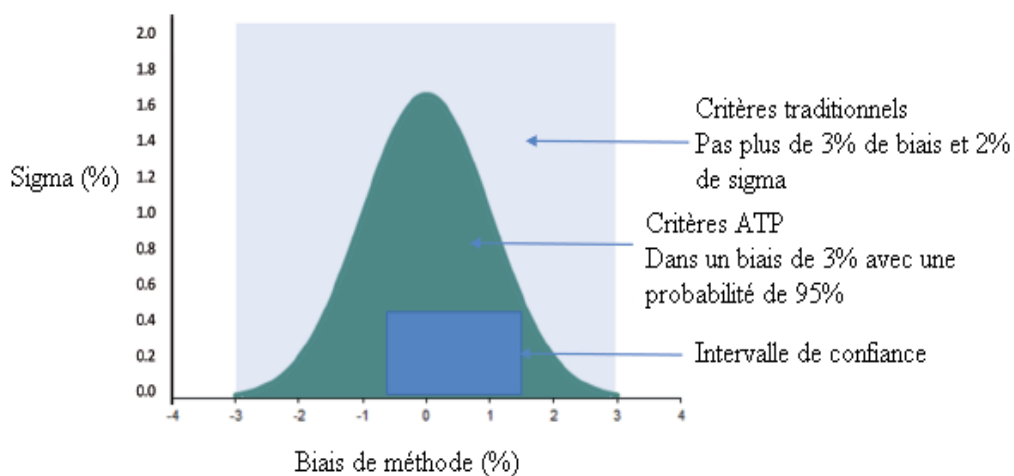


Figure 45 : Représentation graphique de l'ATP.[148]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

Cependant, comme l'industrie pharmaceutique travaille encore avec des évaluations séparées de la précision et de l'exactitude, le TMU n'est pas réellement utilisé, car l'exactitude (biais) et la précision sont souvent basés sur des critères par défaut, mais dans l'approche QbD, ces critères sont alignés sur les spécifications du produit et du processus, et les critères se concentrent sur la valeur à déclarer.[130]

II.4.2 : Les attributs de qualité critiques et l'évaluation initiale des risques (Critical Quality Attributes and Initial Risk Assessment)

Les attributs de qualité critiques (Critical Quality Attributes, CQAs) pour les méthodes analytiques (Figure 46) incluent les attributs critiques des matériaux (Critical Material Attributes, CMAs) et les paramètres critiques de la méthode (Critical Method Parameters, CMPs). [149–151]

Les CMAs sont des attributs des substances utilisées pendant l'analyse (Réactifs, solvants, standards, etc.).[140,146]

Les CMPs sont des paramètres instrumentaux influençant la performance des méthodes (Température de la colonne, débit, pH de la phase mobile, etc.) dont les variations affectent une ou plusieurs CQAs et doivent être contrôlées et évaluées afin de répondre aux exigences de qualité souhaitée.[152–155]

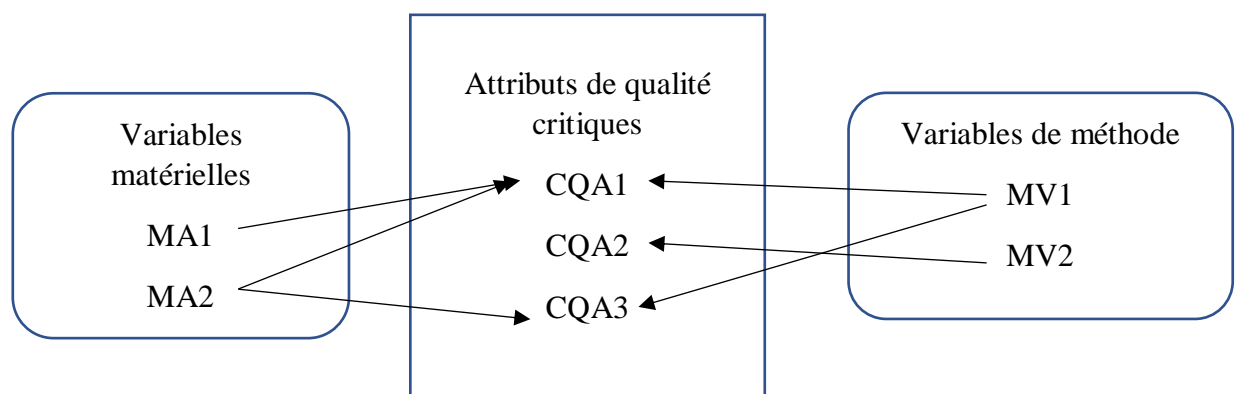


Figure 46 : Relation entre les attributs de la méthode, des matériaux et les CQAs.[140]

La nature des substances médicamenteuses et des impuretés (solubilité, pH, point d'ébullition, etc.) peut déterminer les CQAs pour le développement de méthodes analytiques, cependant chaque technique analytique a des CQAs différents (Tableau 30,31) :

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

- HPLC : Tampon de phase mobile, pH, type de colonne, modificateur organique, etc.
- GC : Débit de gaz, température et programme du four, température d'injection, etc.
- HPTLC : Plaques , phase mobile, concentration et volume d'injection, temps de développement de la plaque, méthode de détection, etc.[150]

Tableau 29 : Choix des méthodes analytiques pour les attributs de qualité critiques du produit.[126]

CQAs	Performance de la méthode selon ICH	Méthode analytique acceptable
Dosage	<ul style="list-style-type: none"> - Spécificité : aucune interférence avec les impuretés - Linéarité : 80% - 120% de la vraie valeur - Exactitude : 98% - 102% - Précision : $\pm 2,0$ % (RSD) 	<p>HPLC UHPLC LC-MS HPTLC</p>
Impuretés	<ul style="list-style-type: none"> - Spécificité (pas d'interférence entre eux) Linéarité : 50 % - 150 % de la valeur réelle - Exactitude : 98% - 102% - Précision : <ul style="list-style-type: none"> ➤ $\text{imp.} \leq 0.15\%$: $\pm 20\%$ de la vraie valeur, 80% de probabilité ➤ $\text{imp.} > 0.15\%$: $\pm 15\%$ de la valeur réelle, 90% de probabilité 	<p>HPLC UHPLC LC-MS HPTLC</p>

Tableau 30 : CMPs et CQAs couramment rencontrés lors de divers développements de méthodes analytiques.[126]

Technique(s)	CMPs	CQAs
HPLC/UHPLC/ LC-MS	Ratio de phases mobiles, modificateurs organiques, pH, force du tampon, débit, volume d'injection, type de colonne, dimension de la colonne, temps de sonication, température du four de la colonne	Aire du pic, temps de rétention, nombre de plateaux théorique, facteur d'asymétrie, facteur de capacité, résolution, temps de rétention relatif, pourcentage de dosage
HPTLC	Ratio de phases mobiles, temps de saturation, volume chargé, vitesse de balayage, dimension de la fente, distance entre les pistes, distance de migration, diamètre du spot, phase stationnaire, dimension de la plaque	Aire du pic, facteur de retard, facteur d'asymétrie, facteur de capacité, résolution, pourcentage de dosage
CPG	Volume d'injection, débit, vitesse du gaz vecteur, type de gaz vecteur, split ratio, type de colonne, durée du thermostat, température de l'injecteur, température du détecteur, température du four, température de l'aiguille, température initiale, température finale	Temps de rétention, pourcentage de dosage, facteur de traînée, résolution, aire du pic

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

Les facteurs qui peuvent affecter les CQAs sont nombreux, mais ils peuvent être affinés par des connaissances préalables de la technique utilisée, de l'échantillon et des études d'évaluation initiale des risques et de criblage (Quality Risk Assessment ,QRA/ Quality Risk Management, QRM), qui est un processus scientifique permettant l'identification et le classement des CMPs, affectant les CMAs, suivi par l'étude des interactions possibles entre elles.[152,153,156,157]

Il existe de nombreux outils pour l'évaluation qualitative des risques :

- Cartographie des processus (Process mapping) : elle permet de définir les risques en exposant les différentes étapes de la méthode (préparation d'échantillons, analyse chromatographique, etc.) et en identifiant les risques associés à chaque étape.[9,156]
- Diagramme Ishikawa ou en arête de poisson : il établit des relations de cause à effet potentielles entre les CMPs de la méthode et les CMAs affectant les traits de qualité de la méthode analytique en les classant en groupes et permet de visualiser et de sélectionner les éléments les plus influents à étudier plus avant au moyen de conception d'expériences (Design of experiences, DoE).[150,154,156,158]

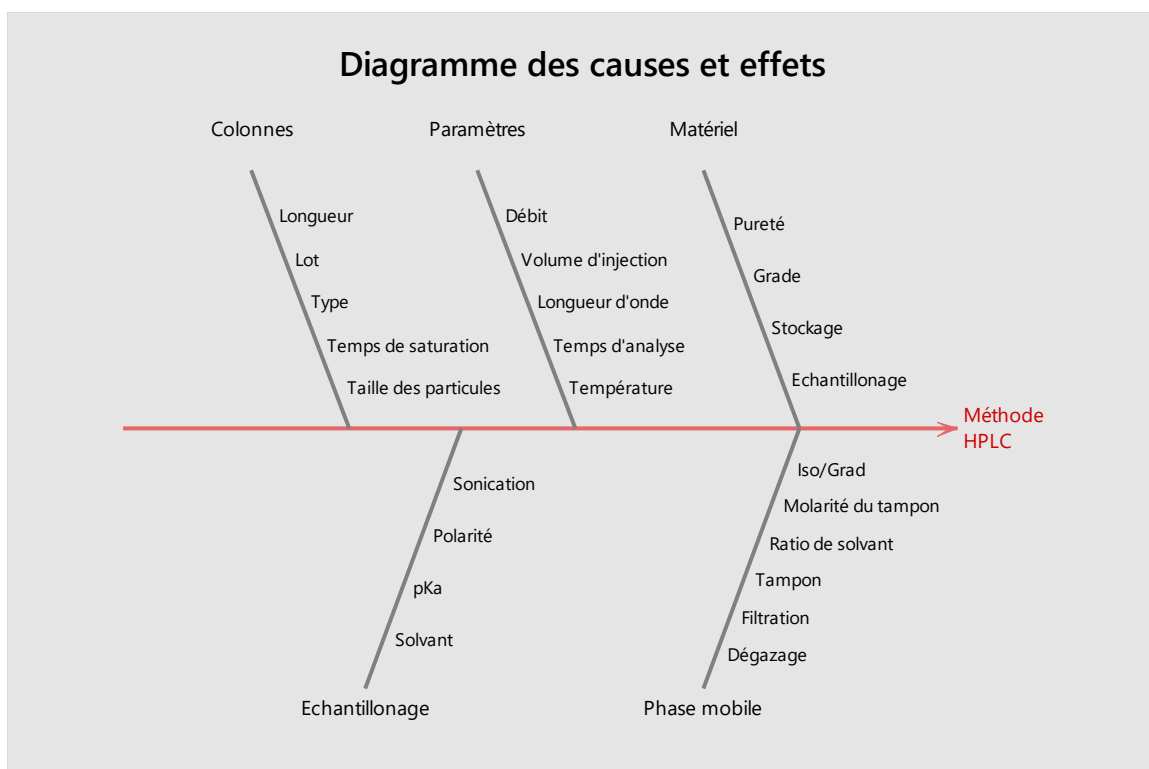


Figure 47: Diagramme d'Ishikawa (cause à effet) pour le développement d'une méthode de chromatographie liquide.[159]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

- Matrice de priorisation pour l'évaluation initiale des risques (Tableau 31) :

Tableau 31: Matrice de priorisation pour l'évaluation initiale des risques pour l'optimisation d'une méthode HPLC.[160]

CQAs CMPs		Plateaux théoriques	Temps de rétention	Facteur de trainée	Résolution	Sensibilité
Echantillon	Solubilité	Bas	Moyen	Bas	Moyen	Bas
	Pureté	Bas	Bas	Bas	Moyen	Bas
Conditions chromatographiques	Phase mobile	Bas	Elevé	Moyen	Elevé	Moyen
	Débit	Moyen	Elevé	Moyen	Moyen	Moyen
	Température	Bas	Moyen	Bas	Bas	Bas
	Type de colonne	Elevé	Elevé	Elevé	Moyen	Elevé
	Longueur d'onde de détection	Bas	Bas	Bas	Bas	Elevé
	Volume d'injection	Bas	Bas	Moyen	Bas	Elevé
	Elution isocratique	Moyen	Bas	Moyen	Moyen	Bas

II.4.3 : L'évaluation quantitative des risques

Après le tri qualitatif initial des facteurs de risque, les paramètres restants sont évalués quantitativement pour leur criticité relative et classés selon une probabilité numérique.[156,161] Un facteur susceptible d'entraîner des données erronées non facilement identifiables comme étant erronées serait considéré comme un risque élevé, tandis qu'un facteur dans lequel l'erreur peut facilement être détectée serait considéré comme un risque plus faible.[156]

Cette étape s'appuie sur des méthodes spécifiques, par exemple :

- **II.4.3.1 : Analyse des modes de défaillance et des effets /Analyse des effets du mode de défaillance et de la criticité (AMDE/AMDEC) (Failure mode effects analysis/Failure mode effects and criticality analysis, FMEA/FMECA)**

Les modes de défaillance potentiels pour chaque étape de la procédure analytique font l'objet d'un brainstorming et chacune de ces variables est notée pour son impact sur les critères définis dans l'ATP ce qui permet de les classer selon le degré de gravité des conséquences sur les résultats analytiques.[162,163]

A cette fin un RPN est attribué permettant de contrôler ou d'éliminer les risques élevés.[164,165]. Il est défini comme le produit de la gravité (S), de l'occurrence (O) et de la détectabilité (D)[166] :

$$\text{RPN} = \text{S} \times \text{O} \times \text{D} \quad (54)$$

Où :

- S : Effet de gravité, représente la conséquence de l'échec en cas de survenue sur l'efficacité de la procédure ;
- O : Probabilité ou fréquence de la défaillance, liée à la qualité et à l'étendue des connaissances et des contrôles de la procédure ;
- D : Probabilité que la défaillance ne soit pas détectée / probabilité que la défaillance soit détectée avant que l'impact de l'effet ne se concrétise.[167,168]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

La mise en place d'un processus FMEA se fait par une équipe et passe par les étapes suivantes :

1. Décrire les étapes de la procédure ;
2. Lister les modes de défaillance potentiels, leurs causes et leurs effets sur la procédure ;
3. Attribuez des valeurs discrètes à chacun des éléments (S, O, D) sur une échelle prédéfinie, par exemple de 1 à 3, 1 à 5 ou 1 à 10 de sorte que les valeurs les plus élevés sont associés à des risques plus élevés (Tableau 32) ;
4. Calculer le RPN ;
5. Développer un plan d'action avec des mesures définies par l'équipe ;
6. Recalculer le RPN (Tableau 33a, 33b) ;
7. Comparer les RPN avant et après la mise en œuvre des actions et réévaluer chacune des défaillances potentielles une fois que des améliorations ont été apportées et déterminer leur impact [165,169,170] ;
8. Les modes de défaillance de haut rang sont ensuite traités par des plans d'expérimentation ou d'autres moyens afin de réduire le risque. [162]

Bien qu'il s'agisse de la méthodologie la plus utilisée, la FMEA présente des inconvénients comme le manque de standardisation des échelles de notation, la subjectivité lors de l'attribution de valeurs à chaque facteur de risque et l'absence de critères unifiés pour évaluer la valeur RPN obtenue. Il est donc important de connaître la cohérence d'une FMEA afin de comprendre la valeur de son résultat et ne pas le surinterpréter.[164,165]

Tableau 32 : Evaluation des risques typiques utilisé lors du développement d'une méthode analytique basée sur l'AQbD impliquant une estimation basée sur la FMEA.[126]

Score	Gravité	Occurrence	DéTECTABILITÉ
1-3	Faible	Faible	Faible
4-6	Moyen	Moyen	Moyen
7-10	Elevé	Elevé	Elevé

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

Tableau 33a : FMEA typique pour une méthode de dosage RP- HPLC.[140]

Méthode	Type d'échec	Impact potentiel	Gravité	Causes potentielles	Occurrence	Mode de détection	DéTECTABILITÉ	RPN
Décrire la procédure de la méthode, l'étape ou le produit en cours d'analyse	La définition pourrait devenir incorrecte (basée sur le paramètre de méthode critique et l'évaluation des attributs de matériau critiques)	Evaluer l'impact sur les variables de sortie cruciales	Évaluer la gravité du résultat ? (1 = faible, 10 = élevé)	Quelles sont les raisons pour lesquelles les données clés sont erronées ?	Fréquence d'occurrence (1 = faible, 10 = élevée)	Contrôle existant pour éviter les défaillances	Facilité de DéTECTABILITÉ (1 = faible, 10 = élevé)	RPN = S x O x D
Méthode de dosage pour quantifier la teneur en API dans le produit médicamenteux par la méthode RP- HPLC	Pic de placebo et pic d'analyte fusionnés	La résolution entre le pic du placebo et l'analyte principal réduira	10	pH du tampon (attribut de méthode critique)	5	pH mentionné dans la procédure	2	100

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

(Suite)

Méthode de dosage pour quantifier la teneur en API dans le produit médicamenteux par la méthode RP- HPLC	Mauvaise forme du pic avec une trainée	Elévation de la ligne de base au temps de rétention du pic principal sera observée	5	Grade du réactif, par exemple l'acétate d'ammonium utilisé pour la phase mobile	4	Qualité du réactif mentionnée dans la procédure	2	40
--	--	--	---	---	---	---	---	----

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

Tableau 33b : FMEA typique pour une méthode de dosage RP- HPLC.[140]

Actions recommandées	Responsabilité	Date cible	Action prise	Gravité	Occurrence	DéTECTABILITÉ	RPN
Mesures prises ou à prendre pour diminuer l'occurrence de la cause ou faciliter la détection ?	Personne responsable de l'action recommandée ?	Date cible d'exécution de l'action recommandée ?	Actions concrètes mises en œuvre	Quelle est la gravité de l'effet sur le résultat ? (1 = faible, 10 = élevé)	À quelle fréquence cela risque-t-il de se produire ? (1 = faible, 10 = élevé)	Est-il facile à détecter ? (1 = faible, 10 = élevé)	$RPN = S \times O \times D$
Effectuer la DoE en considérant le pH comme attribut critique de la méthode et créer un espace de conception.	Analyste	10 jours	Gamme de pH clairement définie dans la procédure	2	2	3	12
Effectuer la DoE en considérant différentes qualités de réactifs comme attribut de matériau critique et créer un espace de conception.	Analyste	10 jours	Ensemble de grades de réactifs appropriés identifiés et clairement mentionnés dans la procédure	2	3	4	24

- II.4.3.2 : Matrice des causes et des effets (Cause and effects matrix, C&E)

Une matrice C&E est une extension semi-quantitative d'un diagramme d'Ishikawa permettant de classer les paramètres en utilisant une approche C-N-X (Tableau 34), où C, N, X sont définis comme suit :

- Facteurs de risque élevés (Controlled Factors, C) : doivent être contrôlés à des niveaux uniques et corrigés pendant le processus de développement de la méthode afin de rester fixes. Ils ne nécessitent pas d'expérimentation pour les optimiser et doivent être clairement énoncés.
- Facteurs de bruit potentiels (Noise Factors, N) : ce sont des variables de bruit difficiles à contrôler (lots de colonnes) qui peuvent varier de manière aléatoire. Ils sont identifiés comme potentiellement critiques et soumis à des tests de robustesse.
- Facteurs qui doivent être expérimentés (Experimental Factors, X) : font partie de la définition de la méthode et peuvent être modifiés en continu (température de la séparation ou le pH de la phase mobile). Ils seront soumis à une enquête DoE afin d'optimiser la région de conception opérationnelle de la méthode, d'améliorer sa robustesse, et de minimiser l'incidence de tout risque sur ses performances. Les niveaux de risque attribués aux différents facteurs pour chacune des CQAs sont additionnés pour obtenir un score C-N-X final.[61,162,163]

La première étape de la mise au point de l'approche C&E consiste à identifier les attributs importants de la méthode (résolution, temps de rétention, facteur de trainée, etc.) conditionnant sa performance et les noter en fonction de leur impact attendu sur le résultat final. Ensuite, chaque paire facteur de méthode – attribut de méthode est notée en fonction de la force attendue de leur relation. Par exemple, l'équipe peut attribuer un score de «10 » pour la paire « pH de la phase mobile - résolution » qui présente une relation forte

Le « score total » pour chaque facteur de la méthode est la somme de la relation entre ce facteur et chacun des attributs de la méthode. Plus ce score est élevé, plus ce facteur est influent sur les performances de la méthode.[144,157,171]

La combinaison de l'approche FMEA et C-N-X (Tableau 35) présente le double avantage de la conformité avec les directives QRM ainsi que l'approche du cycle de vie basée sur l'AQbD.

De plus, la classification C-N-X joue un rôle essentiel dans l'obtention d'un score RPN précis au cours de l'étude FMEA et permet de sélectionner efficacement les variables considérées comme des variables de méthode critiques (Critical Method Variables, CMV) nécessitant une analyse par la DoE.[162,172,173]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

Tableau 34 : Matrice d'évaluation des risques basée sur l'approche C-N-X pour une séparation chromatographique.[174]

Paramètre parent	Nom du paramètre	Attributs de composant				Score final	C, N, X	Stratégie expérimentale
		Selon l'exactitude		Selon la précision				
		Résolution	Temps de rétention	Signal /Bruit	Trainée			
	Note attribuée	10	10	10	10			
Auto-échantillonneur	Volume d'injection	10	10	10	10	400	C	Contrôlé
Pompe	Paramètres du gradient	10	10	10	10	400	X	DoE pour la robustesse et établissement d'un MODR initial
Colonne	Age de la colonne et nombre d'injections	10	10	10	10	400	N	Analyse d'un facteur à la fois (OFAT)
Colonne	Type de la phase stationnaire	5	10	10	10	350	C	Phase stationnaire C18 choisie

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

(Suite)

Phase mobile	Précision du pH	10	1	5	10	260	X	DoE pour la robustesse et établissement d'un MODR initial
Four	Température de la colonne	10	10	1	5	260	X	DoE pour la robustesse et établissement d'un MODR initial
Colonne	Taille des particules	10	1	10	1	220	X	Moins de 2 microns inacceptable
Colonne	Histoire de la colonne	5	5	5	5	200	X	Colonne dédiée
Pompe	Débit	1	10	5	1	170	X	Contrôlé
Colonne	Lot/ Numéro de série	5	1	1	5	120	N	Evaluer plusieurs lots

Score : 1 : Risque négligeable, 5 : Risque faible (Impact potentiel), 10 : Risque élevé (Impact prouvé)

Le score final est la somme du score de chaque attribut de composant multiplié par le score du paramètre.

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

Tableau 35 : Analyse C-N-X combinée à l'approche FMEA pour une analyse HPLC.[172]

Source	Cause de la défaillance	C-N-X	Effet	S	O	D	RPN
Méthode	Phase organique (%)	X	Multiple	7	5	7	245
	Débit	X	Multiple	8	6	5	240
	pH	X	Multiple	7	6	5	210
	Phase stationnaire	C	Rétention prolongée	5	5	3	75
	Equilibrage de la colonne	C	Dérive de la ligne de base	4	4	3	48
Matériel	Grade des solvants	C	Pic étranger	3	3	2	18
	Pureté de l'échantillon	C	Pic étranger	4	3	3	36
	Pureté des réactifs	C	Pic étranger	3	3	3	27
	Solubilité	C	Colmatage de la colonne	3	2	2	12
Milieu	Humidité	N	Pesée inexacte	4	3	2	24
	Température	N	Résolution variable	3	3	2	18
	Photosensibilité	N	Echantillon instable	2	2	2	8
Mesure	Fréquence d'échantillonnage	C	Variation de la précision	3	2	2	12
	Intégration du pic	C	Réponse variée	2	2	2	8
	Pureté du pic	C	Pics co-élués	2	3	3	18
Appareillage	Sonicateur	C	Variation de la pression	2	2	2	8
	Balance de pesée	N	Précision incorrecte	4	2	2	16
	Détecteur	C	Variation de la limite de détection (Limit of detection, LOD) et de quantification (Limit of quantitation, LOQ)	3	2	3	18
Personnel	Etiquetage erroné	C	Identification des pics incorrecte	2	2	2	8
	Erreur de calcul	C	Pureté incorrecte	3	2	3	18
	Erreur de verrerie	C	Facteur de dilution incorrecte	2	2	2	8
	Erreur de dilution	N	Pureté incorrecte	2	2	2	8

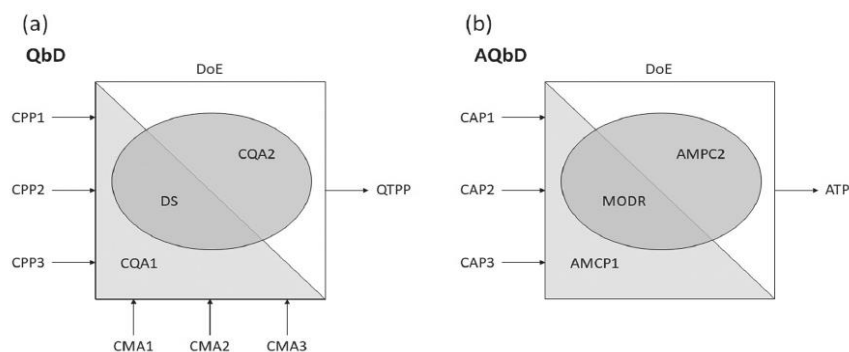
II.4.4 : La conception d'expériences (Design of Experiments, DoE)

La conception d'expériences (Design of Experiments, DoE) représente une partie importante dans le développement et l'optimisation de méthodes analytiques. L'USFDA et l'ICH (Q8, Q9 et Q10) recommandent l'utilisation de cette approche afin de diminuer le nombre total d'essais à effectuer, contrairement aux approches traditionnelles qui consistent à faire varier un facteur à la fois et à examiner ses effets nécessitant un grand nombre d'essais expérimentaux et une durée plus importante pour réaliser ces expériences.[175,176]

De plus, la DoE s'appuie sur un modèle statistique qui permet de découvrir les facteurs importants affectant les réponses, d'apprécier la signification et l'acceptation statistique des différents effets et interactions de ces facteurs sur les réponses examinées suivie par l'optimisation de celles-ci en ajustant ces facteurs.[176,177]

Conformément à l'ICHQ8(R2), il est recommandé d'utiliser une DoE dans la phase de développement de la méthode pour identifier une région de conception opérationnelle (Method Operable Design Region, MODR) validée (Figure 48) , comparable à l'espace de conception (Design Space, DS) dans le développement de produits pour un degré élevé de compréhension processus-produit-méthode analytique robuste et rentable.[125,178]

Le MODR est basée sur une approche scientifique multivariée, représentant un intervalle où une série systématique d'expériences, dans laquelle des changements ciblés sont apportés aux facteurs d'entrée de méthode critiques (similaire aux CQAs) pour identifier les causes de changements significatifs dans les réponses de sortie qui répondent systématiquement aux objectifs fixés dans l'ATP et déterminer l'impact et les interactions entre les facteurs et les réponses.[125,178,179]



CAP = Paramètre analytique critique (Critical Analytical Parameter), AMPC = caractéristique de performance de la méthode analytique (Analytical Method Performance Characteristic)

Figure 48 : Schéma des étapes de mise en œuvre du QbD (a) et de l'AQbD (b).[75]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

L'USFDA recommande d'établir le MODR avec la validation de la méthode car une méthode analytique doit être conçue et validée non seulement dans une condition fixe, mais dans une gamme de conditions. En plus, le MODR permet une flexibilité dans divers paramètres de méthode d'entrée et cela est dû au fait que les changements au sein de l'espace de conception ne sont pas considérés comme des changements de méthode et ne nécessitent aucune autre approbation réglementaire.[125,180,181]

L'approche DoE dans l'AQbD comprend d'une manière générale les éléments suivants (Figure 49) :

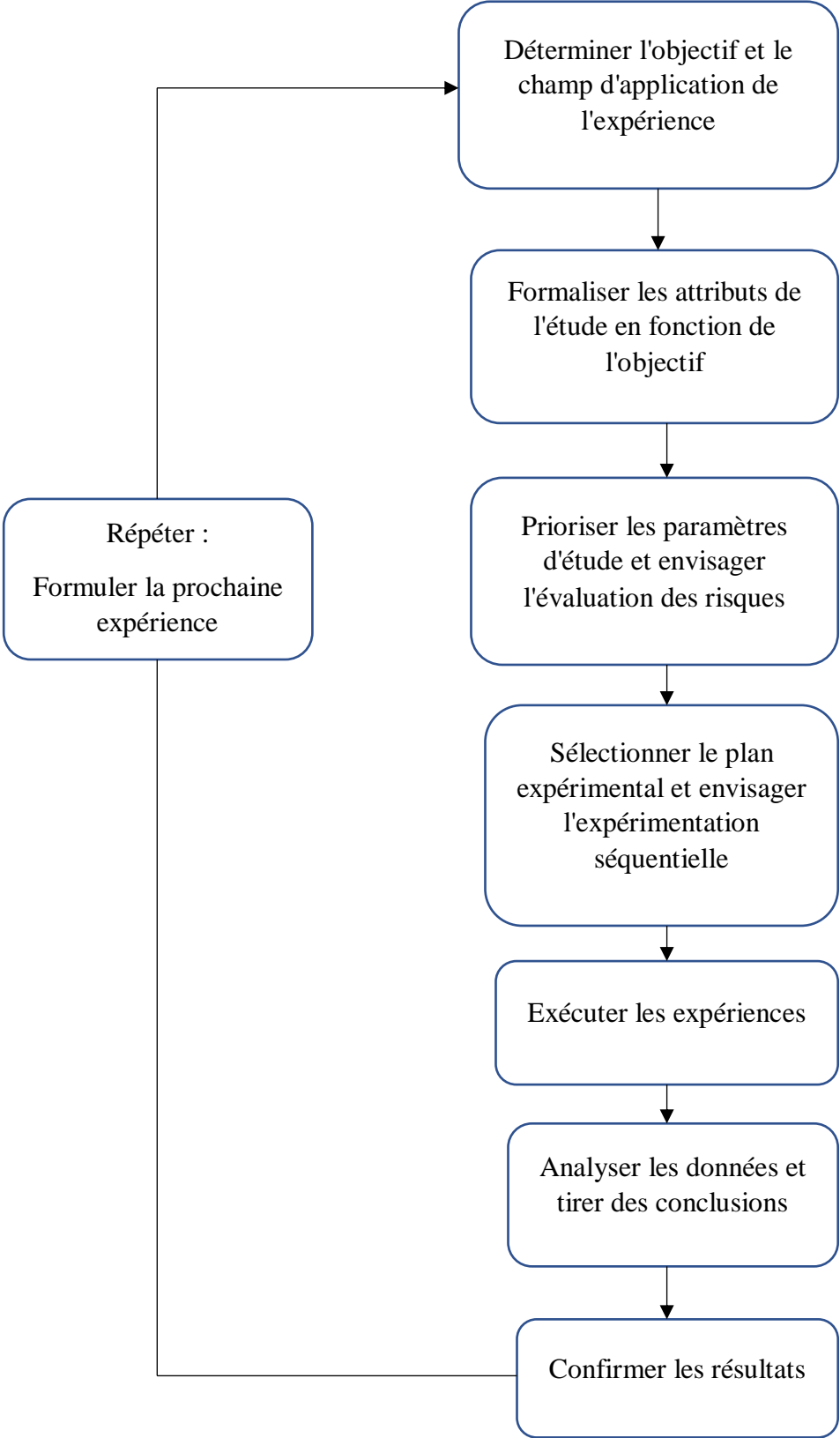


Figure 49 : Organigramme de conception expérimentale.[182]

II.4.4.1 : Sélection des plans

Si les facteurs sont supérieurs à 4, les facteurs critiques doivent d'abord être sélectionnés par les plans de criblage, puis optimisés par les plans d'optimisation (Figure 50). Si le nombre de facteurs est inférieur à 4, il peut être directement optimisé par les plans d'optimisation.[177,178]

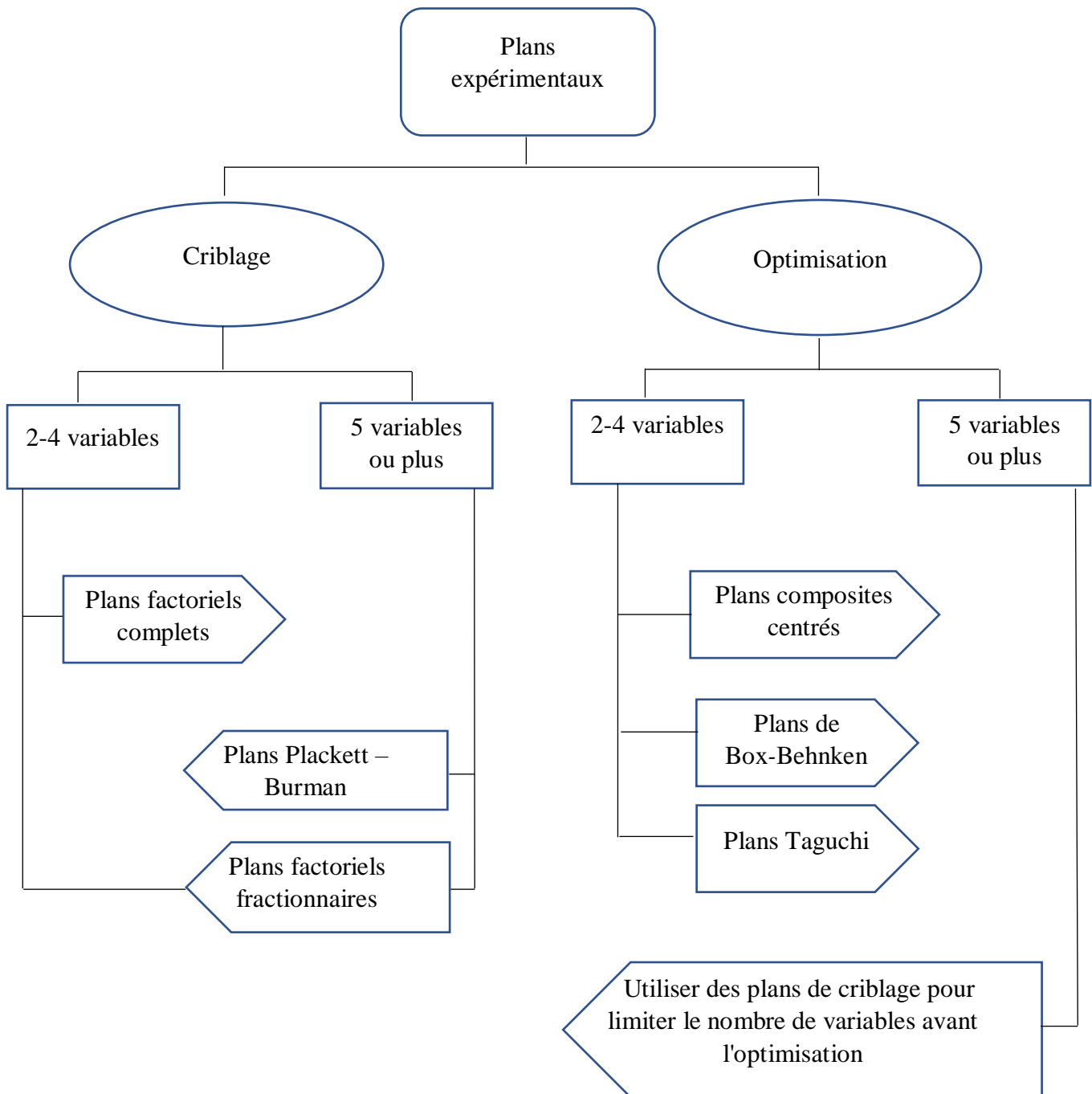


Figure 50 : Classification des plans expérimentaux utilisés en AQbD.[183]

1- Plans de criblage

Ces plans permettent d'identifier les facteurs les plus importants (qualitatifs et quantitatifs) et leurs interactions à partir de tous les facteurs potentiels.[183]

Ils permettent de sélectionner les différents CMPs à prendre en compte dans les expériences d'optimisation ou peuvent être utilisés comme un outil de semi-optimisation pour indiquer les niveaux requis des CMAs et la sélection des CMPs qui doivent être contrôlés ou soumis aux techniques du DoE dans l'optimisation du MODR.[125,171,178]

Si les facteurs sont plus de quatre mais moins de six, alors les plans factoriels complets et les plans factoriels fractionnaires peuvent être choisis et lorsque les facteurs sont plus de six, alors les plans Plackett –Burman peuvent être utilisés (Tableau 36), suivis d'une analyse statistique tel que l'analyse de variance (ANOVA) ou l'analyse de régression pour le calcul de l'effet des facteurs étudiés sur la réponse.[178,183]

Tableau 36 : Sélection des outils du DoE en AQbD.[184]

Plans expérimentaux	Nombre de facteurs	Niveaux	Modèle	Usage	Applications/ Avantages
Plan Plackett – Burman	7 à 32	2	Modèle linéaire et d'interaction	Criblage	Utilisé lorsqu'un grand nombre de facteurs doivent être étudiés et que les plans factoriels fractionnaires ne sont pas applicables
Plans factoriels fractionnaires	3 à 6	2 ou 3	Modèle linéaire et d'interaction	Criblage et/ou optimisation	Utilisé lorsqu'un grand nombre de facteurs doivent être étudiés
Plans factoriels complets	≤6	2 ou 3	Modèle linéaire et d'interaction	Criblage et/ou optimisation	Utilisés pour examiner les effets principaux et d'interaction
Plans composites centrés	2 à 6	3 ou 5	Modèle quadratique et d'interaction	Optimisation	Utilisés pour examiner les effets principaux et d'interaction avec moins d'expériences que les plans factoriels complets et fractionnaires
Plans de Box-Behnken	3 à 5	3 à 5	Modèle quadratique et d'interaction	Optimisation	Les effets non linéaires peuvent être étudiés
Plans de mélanges en réseaux	2 à 4	3	Modèle mixte	Optimisation	Utilisés pour l'étude de multiples composants ou facteurs ou attributs matériels

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

(Suite)

Plans de mélanges en réseaux	3 à 5	3	Modèle mixte	Optimisation	Utilisés pour l'étude de multiples composants ou facteurs ou attributs matériels
Plans de mélanges avec contraintes	2 à 6	3	Modèle mixte	Optimisation	Utilisés pour l'étude de multiples composants ou facteurs ou attributs matériels
Plans D-Optimaux	≥ 3	≥ 3	Modèle personnalisé	Optimisation de produits ou de processus à grande échelle	Utilisés pour minimiser la variance des paramètres

2- Plans d'optimisation

Ces plans fournissent une base scientifique pour la compréhension de la relation entre les facteurs provenant du criblage ou directement de l'évaluation des risques et la réponse de sortie qui mettra en évidence un effet considérable sur les performances de la méthode et l'ATP.[125,178]

Lorsque l'objectif est d'évaluer les effets principaux et les interactions entre les facteurs et que les facteurs sont supérieurs à 2 et inférieurs à 5, les plans factoriels complets à trois niveaux peuvent être utilisés. Lorsque l'objectif est l'optimisation des facteurs critiques individuels connus et que les facteurs sont limités à 2 ou à 4, les plans de surface de réponse tels que les plans de Box-Behnken [175,185], les plans Taguchi, les plans composites centrés, les plans D-optimaux et les plans de Doehlert sont sélectionnés.[183,185,186]

Lorsque l'objectif est l'optimisation du rapport entre les composants du mélange et que les facteurs sont des composants d'un mélange, alors les plans de mélange (Plans de mélanges en réseaux, plans de mélanges avec contraintes) sont sélectionnés.[176,178]

L'analyse statistique pour les plans d'optimisation repose sur :

- L'analyse de l'intervalle afin de déterminer l'effet de chaque facteur et le niveau optimal des différents facteurs ;
- L'analyse ANOVA, en utilisant le test Fisher (Test F) afin de déterminer l'influence des facteurs ;
- L'analyse de régression qui permet d'estimer les relations entre les variables via une fonction de régression. Les modèles linéaires du premier et du second ordre sont assez courants ;[183,187]
- Le rapport signal/bruit (S/B) dans un plan de Taguchi : ces plans proposent la combinaison optimale des facteurs de contrôle maximisant la robustesse et réduisant la variabilité de la méthode en limitant les effets des facteurs incontrôlables (facteurs de bruit) ;[96,183,187]
- La fonction de désirabilité qui permet de trouver les conditions expérimentales (niveaux de facteurs) pour atteindre, simultanément, la valeur optimale pour toutes les variables évaluées.[188]

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

Les niveaux des facteurs sont définis symétriquement autour du niveau nominal défini dans le mode opératoire, en fonction de l'opinion personnelle de l'analyste ou en fonction de la précision ou l'incertitude avec laquelle un facteur peut être réglé et réinitialisé.[180]

Ils prennent différentes valeurs tels que -1, -2, +1 et +2 dans les deux axes représentent le niveau codé des variables utilisées.[125]

Après la sélection des plans expérimentaux, les réponses sont évaluées pour tous les essais qui sont réalisés dans un ordre aléatoire avec différentes combinaisons des facteurs étudiés.[178,180]

3- La robustesse

« La robustesse d'une méthode d'analyse est une mesure de sa capacité à supporter sans conséquence de petites variations apportées délibérément aux paramètres de la méthode ; elle donne une idée de la fiabilité de la méthode dans les conditions normales d'utilisation. »

Les variations apportées varient selon la méthode et peuvent inclure :

- La Stabilité des solutions d'analyse ;
- Le temps d'extraction ;
- Les variations du pH et de la composition de la phase mobile ;
- Des colonnes différentes (provenant de lots ou de fournisseurs différents) ;
- La température ;
- Le débit, etc.[189]

Dans le QbT, la robustesse de la méthode était évaluée lors de la validation, mais cette approche conduisait souvent à des résultats ambigus et la méthode devait être redéveloppées et réoptimisée.

Dans l'approche AQbD, la robustesse peut être évaluée lors du développement du MODR et des intervalles de travail avec des tolérances connues, ainsi le MODR lui-même pourra être considéré comme une zone de robustesse théorique et la modification des conditions analytiques n'affectera pas de manière significative la qualité souhaitée.[181,190]

Différentes approches peuvent être utilisées pour évaluer la robustesse : DoE avec simulation Monte-Carlo, réalisation d'un nouveau DoE autour du point de travail avec des plans Plackett-Burman, plans factoriels fractionnaires à deux niveaux, etc.[126,181]

L'efficacité d'un test de robustesse est assurée si les critères suivants sont respectés lors du développement des expérimentations :

- Tous les effets principaux et d'interaction des facteurs ne sont pas significatifs pour les domaines expérimentaux établis ;

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

- Les modèles générés ne présentent pas de manque d'ajustement ;
- Le test de courbure lorsque le plan factoriel complet à deux niveaux est effectué. Dans ce cas, si les facteurs sont robustes, la courbure obtenue dans le modèle linéaire généré n'est pas significative. La courbure est calculée à l'aide de l'équation :

$$\text{Courbure} = R_{\text{FD}} - R_{\text{CP}} \quad (55)$$

R_{FD} : La moyenne des réponses obtenues à partir des expériences réalisées par le plan factoriel

R_{CP} : La moyenne des réponses obtenues pour le point central.

La courbure ne peut être calculée que si ces moyennes exprimées en intervalle de confiance à 95% sont différentes. Si ces moyennes sont statistiquement égales, alors la courbure est nulle et la méthode est robuste compte tenu des domaines expérimentaux établis.[191]

Il existe aussi un test fiable pour évaluer la robustesse des méthodes au moyen d'un plan d'expérience de Plackett-Burman 2^{7-4} appelé test de Youden qui s'effectue selon ces étapes :

- Identifier les facteurs d'influence ;
- Définir, pour chaque facteur, les valeurs nominales et extrêmes attendues dans l'utilisation de routine et les coder comme suit : valeur nominale = 0, valeur élevée = +1 et valeur faible = -1 ;
- Organiser le plan expérimental de Plackett-Burman 2^{7-4} (7 facteurs et 8 expériences) ;
- Réaliser les expériences dans un ordre aléatoire sur un échantillon témoin dont la concentration de l'analyte se situe à mi-chemin de la plage de concentration du champ d'application de la méthode ;
- Estimation de l'effet de chaque facteur comme la différence entre le résultat moyen obtenu au niveau +1 et celui obtenu au niveau -1 ;
- Utiliser un test de Student (Test t) de significativité afin de déterminer si les variations ont un effet significatif sur le résultat. La valeur t est comparée à la valeur tabulée bilatérale du niveau de confiance de 95% avec les degrés de liberté provenant de l'étude de précision pour chaque concentration.

Ce test qui s'effectue au sein du même laboratoire, étudie plusieurs modifications à la fois afin d'évaluer l'influence de chaque paramètre analytique dans les résultats finaux et constater les effets des modifications individuelles.

Les mesures qui sont sensibles à des variations des conditions analytiques doivent être convenablement contrôlées.[192,193]

II.4.5 : La validation de la méthode

Le processus de validation de la méthode est une partie essentielle de son développement dans un environnement réglementé pour confirmer que la procédure employée pour un essai spécifique répond aux exigences prévues.[194,195]

Il existe plusieurs définitions de la validation des méthodes analytiques. Selon l'ICH Q2(R1) « *L'objectif de la validation des méthodes d'analyse est de démontrer qu'elles conviennent aux usages auxquels on les destine* ». [189] Selon l'USFDA « *La validation des méthodes est le processus consistant à démontrer que les procédures analytiques sont adaptées à l'usage auquel elles sont destinées. Le processus de validation des méthodes pour les procédures analytiques commence par la collecte planifiée et systématique par le demandeur des données de validation pour soutenir les procédures analytiques.* »

L'USP subdivise la validation en quatre catégories :

Catégorie I. Validation des méthodes analytiques de dosage

Catégorie II. Validation des méthodes d'analyse des impuretés et produits de dégradation

Catégorie III. Validation des méthodes analytiques de dissolution

Catégorie IV. Validation des méthodes analytiques pour l'identification.

Cependant la validation peut englober plus d'une catégorie simultanément, par exemple, une méthode peut être validée pour le dosage et pour les impuretés car un bon nombre de caractéristiques de validation testées sont communs pour le dosage et les impuretés.[196]

Les procédures de validation sont imposées par les organismes réglementaires par des directives décrivant les paramètres requis pour les analyses pharmaceutiques :

1. Les exigences CGMP de l'USFDA dans la section 211.165 (e) ;
2. Les documents ISO 5725 (Afnor X06-041) ;
3. ISO/IEC 17025, Sect. 4.4 ;
4. Les guides de la Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques (SFSTP)
5. La procédure de validation de l'ICH ;
6. La décision 2002/657/CEE (Sanco) de la Commission européenne ;
7. Les articles relatifs à la conférence de Washington ;
8. Développement et validation de méthodes pour la loi sur la conservation et la récupération des ressources (Resource Conservation and Recovery Act, RCRA) par l'Agence de protection de l'environnement (Environmental Protection Agency, EPA) .[197–199]

Selon l'ICH Q2R1 les paramètres requis lors de la validation sont énumérés dans le Tableau 37.

Tableau 37 : Les caractéristiques de validation à considérer selon le type de méthode à valider.[189]

Type d'analyse		Identification	Analyse des impuretés	Dosage - dissolution (Mesure seulement) - teneur/activité
Caractéristiques	Définition		Teneur limite	
Exactitude	L'exactitude correspond au degré de concordance entre la valeur de la méthode obtenue et la valeur de référence ou la valeur considérée comme véritable par convention	-	+ -	+
Précision - Répétabilité Précision intermédiaire	La précision 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 précision peut s'évaluer à trois niveaux : répétabilité, précision intermédiaire et reproductibilité	- -	+ - + (1) -	+ + (1)

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

(Suite)

	<p>Répétabilité</p> <p>La répétabilité est une expression de la précision 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 « précision intra-analyse ».</p> <p>Précision intermédiaire</p> <p>La précision intermédiaire correspond aux variations survenant dans un même laboratoire : analyses effectuées à des jours différents, par des personnes différentes, au moyen d'appareils différents, etc.</p> <p>Reproductibilité</p> <p>La reproductibilité correspond à la concordance entre laboratoires (travaux de collaboration visant généralement l'uniformisation de la méthodologie)</p>			
--	--	--	--	--

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

(Suite)

<p>Spécificité (2)</p>	<p>La spécificité est la propriété qui fait qu'une méthode d'analyse rend compte sans ambiguïté de la substance analysée en présence d'autres composantes normalement présentes. Ces dernières peuvent inclure des impuretés, des produits de dégradation, la matrice, etc.</p>	<p>+</p>	<p>+ +</p>	<p>+</p>
<p>Limite de détection</p>	<p>La limite de détection d'une méthode d'analyse individuelle correspond à la plus faible quantité de la substance analysée que la méthode permet de détecter, sans nécessairement fournir la valeur exacte</p>	<p>-</p>	<p>-(3) +</p>	<p>-</p>

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

(Suite)

<p>Limite de dosage</p>	<p>La limite de dosage d'une méthode d'analyse individuelle correspond à la plus faible quantité de substance analysée que la méthode permet de doser avec un degré acceptable de précision et d'exactitude. La limite de dosage est un paramètre des analyses quantitatives des composés présents en faibles quantités dans les matrices d'échantillon ; elle est plus particulièrement utilisée dans le dosage des impuretés et (ou) des produits de dégradation.</p>	<p>-</p>	<p>+ -</p>	<p>-</p>
<p>Linéarité</p>	<p>La linéarité d'une méthode d'analyse est sa capacité de donner des résultats qui sont directement (à l'intérieur de certaines limites) proportionnels à la concentration (quantité) de la substance analysée dans un échantillon</p>	<p>-</p>	<p>+ -</p>	<p>+</p>

Revue bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

(Suite)

<p>Écart d'utilisation</p>	<p>L'écart d'utilisation d'une méthode d'analyse est l'intervalle entre la concentration la plus élevée et la concentration la plus faible (quantités) de la substance analysée dont on a démontré qu'elles pouvaient être déterminées avec un degré acceptable de précision, d'exactitude et de linéarité.</p>	<p>-</p>	<p>+ -</p>	<p>+</p>
-----------------------------------	---	----------	------------	----------

- caractéristique qui n'est normalement pas évaluée

+ caractéristique normalement évaluée

(1) Si la reproductibilité (voir le glossaire) est évaluée, il n'est pas nécessaire de déterminer la précision intermédiaire.

(2) Si la méthode est insuffisamment spécifique, cette déficience peut être compensée par la spécificité d'une ou de plusieurs autres épreuves complémentaires auxquelles l'échantillon est soumis.

(3) Parfois nécessaire.[189]

Partie bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

Cependant cette approche présente des faiblesses (Conclusions des tests réalisés et l'aide à la prise de décision au regard de limites d'acceptation définies pour l'usage d'une procédure analytique). Dans ce contexte, un guide a été rédigé par la SFSTP reposant sur une approche plus cohérente et plus opérationnelle basée sur un outil unique : le profil d'exactitude. Cette démarche est basée sur la notion d'erreur totale (biais + écart type) qui permet de simplifier l'approche de la validation d'une procédure analytique tout en contrôlant le risque associé à son utilisation.[200,201]

Il existe plusieurs étapes pour valider une méthode avec le profil d'exactitude :

1. Disposer du mode opératoire et définir la quantité mesurée ;
2. Définir le domaine de validation (gamme de concentrations) et l'objectif attendu de la méthode sous la forme d'un intervalle d'acceptabilité $\pm\lambda$;
3. Sélectionner des échantillons de validation (choisir la ou les matrices et établir les valeurs de référence des échantillons) ;
4. Choisir un plan d'expérience de validation (Tableau 38) en prévoyant :
 - I séries de mesures ($1 \leq i \leq I$) ;
 - Pour chaque série, effectuer J répétitions ($1 \leq j \leq J$) ;
 - K niveaux de concentration ($1 \leq k \leq K$) couvrant le domaine d'application de la méthode.

Tableau 38 : Organisation des mesures du plan de validation.[202]

Niveaux	Séries (Jours)	Concentrations des échantillons de validation (valeurs de référence) X	Mesurages (Réponses instrumentales) Y			
			1	2	...	J
1	1	x_{11}	y_{111}	y_{121}	...	y_{1J1}
	...					
	I					
2	1					
	...					
	I					
...	...					
K	1					
	...					
	I	x_{IK}				y_{IJK}

Partie bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

5. Organiser les essais d'étalonnage pour les méthodes indirectes (Tableau 39) ;

Tableau 39 : Organisation des essais du plan d'étalonnage.[202]

Niveaux	Séries (Jours)	Concentrations des échantillons de validation (valeurs de référence) X	Mesurages (Réponses instrumentales) Y			
			1	2	...	J'
1	1	x_{11}	y_{111}	y_{121}	...	$y_{1J'1}$
	...					
	I					
2	1					
	...					
	I					
...	...					
K'	1					
	...					
	I	$x_{IK'}$				$y_{IJ'K'}$

6. Collecter les données ;

7. Pour les méthodes indirectes, calculer les concentrations retrouvées par étalonnage inverse (Tableau 40,41) ;

Tableau 40 : Principales fonctions de réponse utilisables pour un étalonnage.[202]

Type	Equation	Souhaitable pour K'	Minimum pour K'
Droite passant par l'origine	$Y = a_1 x$	2	1
Droite	$Y = a_0 + a_1 x$	3	2
Fonction quadratique	$Y = a_0 + a_1 x + a_2 x^2$	4	3
Fonction logistique à 4 paramètres	$Y = a_0 + \frac{a_3 - a_0}{1 + \left(\frac{a_2}{x}\right)^{a_1}}$	5	5

Tableau 41 : Equations de prédiction inverse selon le type de la fonction de réponse.[202]

Fonction de réponse	Fonction inverse de calcul de la concentration retrouvée
Droite passant par l'origine	$z = \frac{Y}{a_1}$
Droite	$z = \frac{Y - a_0}{a_1}$
Fonction quadratique	$z = \frac{-a_1 + \sqrt{a_1^2 - 4a_2(a_0 - Y)}}{2a_2}$
Logistique à 4 paramètres	$z = \frac{a_2}{\left(\frac{a_3 - a_0}{Y - a_0} - 1\right)^{\frac{1}{a_1}}}$

9. Calculer les critères de validation à partir des concentrations retrouvées (Tableau 42), principalement les écarts-types de fidélité, de fidélité intermédiaire et des biais de justesse ;

Tableau 42 : Critères de fidélité et de justesse par niveau.[202]

Critères	Symbole	Niveaux		
		1	...	K
Valeur de référence moyenne	$\overline{\overline{x_k}}$			
Concentration retrouvée moyenne	$\overline{\overline{z_k}}$			
Écart-type de répétabilité	S_{kr}			
Écart-type inter-séries	S_{kB}			
Écart-type de fidélité intermédiaire	$S_{kFI} = \sqrt{S_{kr}^2 + S_{kB}^2}$			
Coefficient de variation de la fidélité intermédiaire	$\frac{S_{kFI}}{\overline{\overline{x_k}}} * 100$			
Biais moyen absolu	$\overline{\overline{z_k}} - \overline{\overline{x_k}}$			
Biais moyen relatif	$\left(\frac{\overline{\overline{z_k}} - \overline{\overline{x_k}}}{\overline{\overline{x_k}}}\right) * 100$			
Taux de recouvrement moyen	$\left(\frac{\overline{\overline{z_k}}}{\overline{\overline{x_k}}}\right) * 100$			

Partie bibliographique : Approche QbD dans le développement des méthodes analytiques

10. Calculer les intervalles de tolérance (Tableau 43) et construire le profil d'exactitude ;

Tableau 43 : Résumé des différents éléments qui serviront au profil d'exactitude, incluant les limites des intervalles de tolérance par niveau.[202]

Critères	Symbole	Niveaux		
		1	...	K
Valeur de référence moyenne	$\bar{\bar{x}}$			
Limite de tolérance basse	$\bar{\bar{z}} - k_{tol} \cdot S_{IT}$			
Limite de tolérance haute	$\bar{\bar{z}} + k_{tol} \cdot S_{IT}$			
Limite de tolérance basse relative	$\left(\frac{\bar{\bar{z}} - k_{tol} \cdot S_{IT}}{\bar{\bar{x}}} \right) * 100$			
Limite de tolérance haute relative	$\left(\frac{\bar{\bar{z}} + k_{tol} \cdot S_{IT}}{\bar{\bar{x}}} \right) * 100$			
Limite d'acceptabilité basse relative	$(1 - \lambda) \cdot 100$			
Limite d'acceptabilité haute relative	$(1 + \lambda) \cdot 100$			

k_{tol} : Facteur de couverture de l'intervalle de tolérance

S_{IT} : Ecart-type de l'intervalle de tolérance

Le profil d'exactitude (Figure 51) issu du Tableau 43 se dessine à partir des incertitudes totales calculées précédemment et des limites d'acceptation prédéfinies, et se présente comme suit :

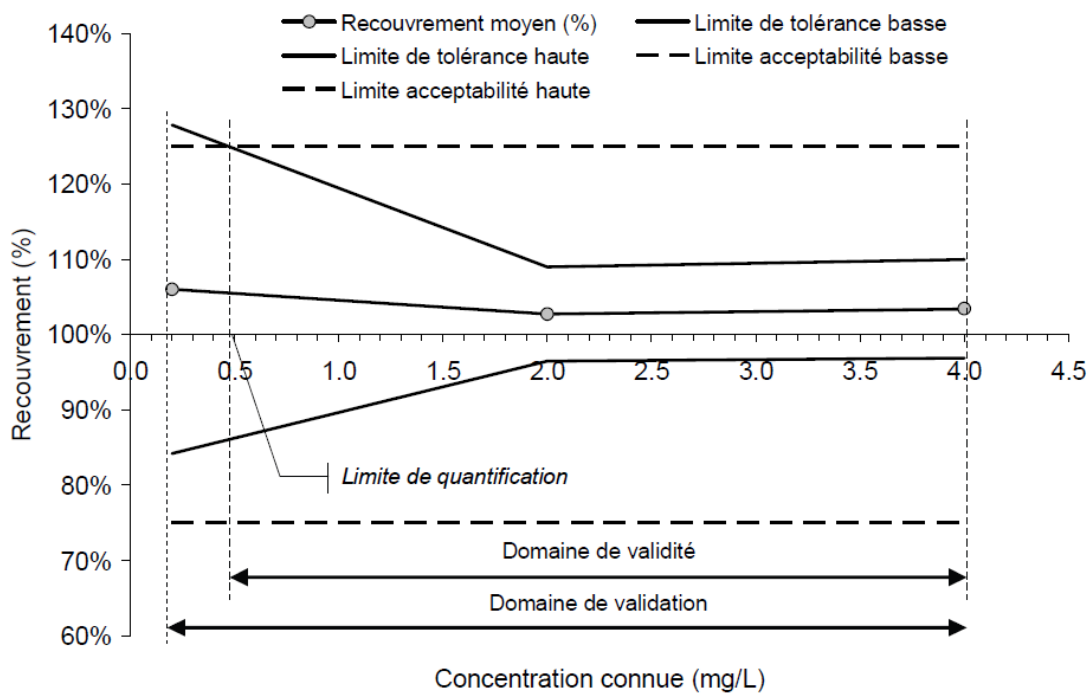


Figure 51 : Profil d'exactitude établi avec 3 niveaux de concentration.[202]

10. Interpréter les résultats et décider si la méthode est valide ou non selon les critères de décision suivants :

- **Les limites d'acceptabilité $\pm\lambda$** : Elles représentent l'intervalle autour de la valeur de référence, et s'exprime comme un pourcentage, en général, autour de la valeur de référence, par exemple $\pm 10\%$. Leur choix se base sur les limites réglementaires ou les attentes des utilisateurs finaux ;

- **L'intervalle de tolérance (β - IT)** : Elle délimite un intervalle dans lequel se trouvera une proportion moyenne $\beta\%$ de futures mesures. Notons que plus β est petit, plus la méthode risque de produire des résultats en dehors des spécifications annoncées, c'est pourquoi, il faut la fixer à 80 %, au moins.

En se basant sur les deux critères cités, l'analyse visuelle directe du graphique permet de définir la validité de la méthode. Dès que l'intervalle de tolérance sort de l'intervalle d'acceptabilité, nous pouvons conclure que la méthode n'est plus valide.[201,202]

II.4.6 : La vérification continue des performances des procédures / La gestion du cycle de vie

Dans l'AQbD la stratégie de contrôle est dérivée des données collectées lors du développement et de la validation de la méthode, et joue un rôle clé dans la gestion des risques. Elle permet de prédire la capacité de la méthode à répondre à l'ATP et de détecter, d'identifier et de traiter les performances hors tendance afin que celle-ci soit conforme à l'utilisation de routine.[75,126,203]

Selon l'ICH l'évaluation des risques et le MODR identifient les facteurs pris en compte lors de la mise en œuvre de la stratégie de contrôle de la méthode qui ne sera définie que si les risques sont faibles et facilement gérables, mais si les risques sont élevés et difficilement gérables, une méthode plus adaptée sera nécessaire.[126,204]

Pour une technique analytique, la stratégie de contrôle consiste à contrôler les CMAs et les CMPs (Préparation des échantillons, étalons, réactifs, conditions de fonctionnement des installations et des équipements, etc.) nécessaires pour respecter les exigences d'adéquation du système et les caractéristiques de performance.[126,205]

Les réponses qui seront contrôlées à chaque cycle d'analyse sont connues sous le nom de tests d'adéquation du système ou tests de validité (Résolution minimale, nombre de plateaux théoriques, facteur de trainée, etc.). Ils sont fortement corrélés aux CQAs et permettent de garantir la performance de la méthode, de reconnaître les modes de défaillance, de prévenir la production d'erreurs et peuvent être complétés par des contrôles supplémentaires (vérification de l'humidité relative, de la température et de la lumière disponibles dans le laboratoire, etc.). [206–208]

Une autre méthodologie qui s'appuie sur les statistiques peut être utilisée, c'est les cartes de contrôle $\bar{x} - s$, où \bar{x} est la moyenne, s est la moyenne de l'écart type, la limite de contrôle inférieure (Lower Control Limit, LCL) et la limite de contrôle supérieure (Upper Control Limit, UCL). Ces cartes (Figure 52) qui sont générées à l'aide de logiciels tel que le Minitab, sont utilisées pour les variables de méthode critiques issues des DoE (Débit, pourcentage de la phase aqueuse, etc.).[127,206,209]

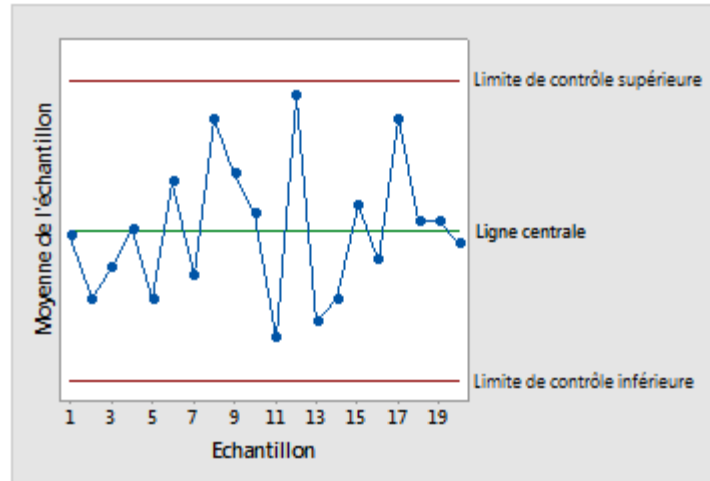


Figure 52 : Cartes de contrôle. [99]

Elles permettent de suivre les performances de la méthode dans le temps et de détecter si les paramètres de qualité choisis s'écartent des spécifications, engendrant des méthodes hors contrôle.[203]

Les contrôles mis en œuvre pour toutes les variations possibles garantissent aussi que les exigences en ATP seront satisfaites lors du transfert de la méthode analytique et permettent son amélioration continue en la mettant à jour au besoin à mesure que la technologie analytique évolue.[7,126]

PARTIE PRATIQUE

Chapitre I
MATERIEL ET
METHODES

Chapitre I : Matériel et Méthodes

Le QbD est une approche moderne du développement des médicaments axée sur la qualité. Elle commence par des objectifs prédéfinis et se base sur des méthodes scientifiques et de gestion des risques qui permettent une meilleure compréhension des produits et une mise en place de processus robustes et flexibles.

Ce concept peut être étendu aux méthodes analytiques permettant à celles-ci d'être robustes, rentables, et applicables tout au long du cycle de vie du produit, afin de faciliter leur flexibilité réglementaire.

Ce travail a été réalisé dans sa totalité au sein de l'unité de production Al Dar Al Arabia, SPA, Hikma Pharma Algeria, 78A, Zone d'activité El Boustene, Sidi Abdallah, Rahmania, Alger

Les objectifs de ce travail peuvent être résumés en deux points :

- Application de la démarche QbD au processus de production de l'Amoclan[®]8 :1, afin de le rendre plus flexible vis-à-vis des autorités réglementaires, et aboutir à une meilleure conception du produit diminuant ainsi les problèmes lors de la production.
- Application de la démarche AQbD dans le développement l'optimisation de méthodes analytiques de contrôle de l'Amoclan[®]8 :1. Ces méthodes doivent être robustes afin de faciliter leur transfert au niveau de la production et avoir une plus grande conformité avec les autorités réglementaires.

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I. Matériel et Méthodes

I.1. Matériel

I.1.1 : Conception du produit

Les matières premières, leurs spécifications et les équipements utilisés sont résumées dans le Tableau 44.

Tableau 44 : Matières premières et équipements utilisés pendant la conception du produit

Matières premières	Fabricant	Lot	Fabrication	Expiration
Arôme fraise	Givaudan Schweiz AG, Suisse	2003513	21/01/2021	21/01/2024
Aspartame	HYET Sweet S.A.S, France	2003852	10/12/2020	11/12/2025
Dioxyde de silicium	Grace GmbH, Allemagne	2004524	27/05/2022	26/05/2024
Amoxicilline trihydratée (Figure 53) : PURIMOX® POWDER EXTRA DRY	DSM Sinochem Pharmaceuticals, Pays-Bas	2003513	01/08/2020	31/07/2025
Clavulanate de potassium (Figure 54)/dioxyde de silicium (1 :1)	SINOPHARM WEIQIDA PHARMACEUTICAL CO, LTD, Chine	2004405	17/12/2021	16/12/2025
Crospovidone	BASF SE, Allemagne	2993	16/08/2022	16/11/2022
Equipements	Marque	Modèle	Qualification	Requalification
Balance analytique	METLER TOLEDO	MS204S	15/09/2022	14/09/2023
Four	BINDER	VD 53	15/06/2022	14/06/2023
Titrateur Karl Fisher	Metrohm	915KF Ti-Touch	03/10/2022	02/10/2023

Chapitre I : Matériel et Méthodes

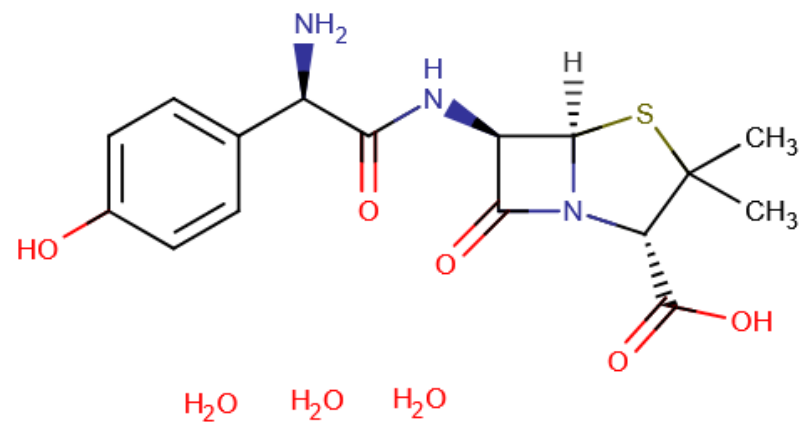


Figure 53 : Structure de l'Amoxicilline trihydratée.[210]

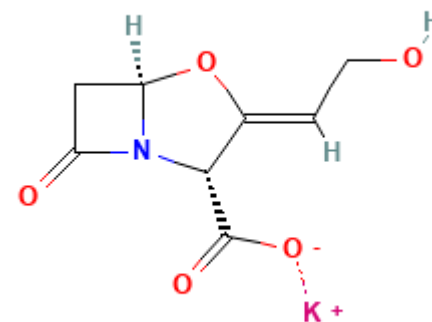


Figure 54 : Structure du clavulanate de potassium.[211]

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I.1.2 : Développement de la procédure analytique pour la détermination qualitative et quantitative des analytes

Les matières et les équipements utilisés sont résumées dans le Tableau 45.

Tableau 45 : Matières et équipements utilisés pendant le développement de la procédure analytique

Réactifs et matières premières	Lot	Numéro CAS	Fabricant	Date d'expiration
Dihydrogénophosphate de sodium dihydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) Grade analytique	STBJ6036	13472-35-0	Sigma-Aldrich®	07/2023
Méthanol (CH_3OH) CHROMASOLV™ for HPLC	L114OS	67-56-1	Honeywell Riedel-de-Haën™	30/09/2025
Acide orthophosphorique (H_3PO_4), Réactif de laboratoire	116041000-0118-011	7664-38-2	Biochem Chemopharma	01/2023
Hydroxyde de sodium (NaOH), Grade analytique	L0400	1310-73-2	Honeywell Riedel-de-Haën™	23/07/2024
Acétonitrile (CH_3CN), LiChrosolv®	I1136230 106	75-05-8	Supelco®	29/09/2024

Chapitre I : Matériel et Méthodes
(Suite)

Working standards (WS)	Lot	Pureté	Ouverture	Requalification
Amoxicilline trihydratée (C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₅ S.3H ₂ O)	2003890	86,7% d'amoxicilline	10/03/2022	27/07/2022
Amoxicilline trihydratée	200447	87% d'amoxicilline	27/08/2022	26/09/2022
Clavulanate de potassium (C ₈ H ₈ KNO ₅)	CK22901-S	85,3% d'acide clavulanique	03/07/2022	03/05/2023
Echantillons	Lot		Date de fabrication	Date d'expiration
Amoclan [®] 8 :1 1g/125mg	02921		07 /2022	07 /2024
Excipients	Lot		Date de fabrication	Date d'expiration
Crospovidone ((C ₆ H ₉ NO) _n)	2004460		17/03/2022	16/03/2025
Aspartame (C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₅)	2004426		24/01/2022	23/01/2027
Arome fraise	2004458		21/01/2022	21/01/2024
Dioxyde de silicium (SiO ₂)	2004524		27/05/2022	26/05/2024
Equipements et consommable	Marque	Modèle	Qualification	Requalification
Centrale d'eau ultrapure	Elix	Millipore Elix Advantage 5	13/06/2021	13/06/2022
Agitateur à mouvement Va et Vient	GFL	3016	/	/
Agitateur à plaque chauffante	ISOLAB	613.01.001	/	/
Balance analytique	Mettler Toledo	MS105	08/09/2021	07/09/2022
Balance analytique	Mettler Toledo	MS204S	08/09/2021	07/09/2022

Chapitre I : Matériel et Méthodes
(Suite)

pH-mètre	Mettler Toledo	S47-K	15/06/2022	15/06/2023
Four	BINDER	VD 53	15/06/2022	14/06/2023
Sonicateur	Elma	S900H	24/02/2022	23/02/2023
Colonne ACE 5 C18 (250x4,6 mm) 5 µm	Avantor® ACE®	DV20-4023	/	/
Colonne X SELECT® HSS T3 (100mmx2,1mm) 2,5 µm	Waters	0140310541	/	/
Filtre 0,45 µm PTFE 47mm	Merck Milipore Ltd.	Lot : R1HB01323	/	/
Filtre à seringue 0,45 µm PVDF hydrophile	Millipore Millex-HV	/	/	/
Filtre à membrane 0,2 µm	Merck Milipore Ltd.	Lot : R6AA99015	/	/
Filtre à seringue 0,2 µm Cellulose régénérée	Sartorius	/	/	/
HPLC (UHPLC) modulaire	SHIMADZU	Pompe : LC-40Dx3	05/08/2021	04/08/2022
		Dégazeur : DGU-405	05/08/2021	04/08/2022
		Contrôleur système tactile : SCL-40	05/08/2021	04/08/2022
		Auto-injecteur : SIL-40CX3	05/08/2021	04/08/2022
		Four : CTO-40C	05/08/2021	04/08/2022
		Détecteur UV-Visible : SPD- 40V	03/08/2021	04/08/2022

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I.1.3 : Préparation des sachets pour l'établissement du design space

La composition unitaire par sachet pour Amoclan[®] 8 :1 1g/125mg était la suivante :

- Amoxicilline : 1154,27mg ;
- Acide clavulanique :308,70mg ;
- Aspartame : 35mg ;
- Crospovidone :50mg ;
- Dioxyde de silicium :116,40mg ;
- Arome fraise :35mg.

I.1.4 : Préparation des solutions pour l'établissement du design space et du MODR

1- Solution de NaOH 1N

Dissoudre 4g de NaOH dans 100 mL d'eau purifiée.

2- Solution de NaOH 0,01N

Diluer la solution précédente au 1/100.

3- Solutions tampons phosphate (HPLC)

- Dissoudre 10,4 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 900 mL d'eau ultrapure ;
- Vérifier le pH à $4,4 \pm 0,1$ de cette solution (Solution A) ;
- Préparer à partir de la solution A une autre solution dont le pH est ajusté à $3,4 \pm 0,1$ avec H_3PO_4 (Solution B) ;
- Préparer à partir de la solution A une autre solution dont le pH est ajusté à $5,4 \pm 0,1$ avec NaOH 0,1 N (Solution C) ;
- Compléter chaque solution à 1000 mL avec l'eau ultrapure.

4- Phase mobile (HPLC) :

- Mélanger les solutions tampons phosphate et le méthanol aux proportions nécessaires pour les différents tests ;
- Filtrer à travers un filtre à membrane de 0,45 μm .

5- Solution standard (HPLC)

- Peser l'équivalent de 31,25mg d'acide clavulanique à partir du clavulanate de potassium (WS) et l'équivalent de 250 mg d'amoxicilline à partir l'amoxicilline trihydratée (WS) ;
- Diluer avec 300mL d'eau purifiée dans une fiole de 500mL ;
- Dissoudre dans un bain à ultrasons pendant 15 minutes ;

Chapitre I : Matériel et Méthodes

- Compléter avec l'eau purifiée au volume et bien mélanger ;
- Filtrer à travers un filtre à seringue de 0,45 µm.

6- Phase mobile A (UHPLC)

- Dissoudre 2,6 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 1000 mL d'eau ultrapure ;
- Vérifier le pH à $4,6 \pm 0,05$ de cette solution (Solution D) ;
- Ajuster le pH à $5,6 \pm 0,05$ de cette solution avec NaOH 1N (Solution E) ;
- Ajuster le pH à $6,6 \pm 0,05$ de cette solution avec NaOH 1N (Solution F) ;
- Dégazer et filtrer à travers un filtre à membrane de 0,2 µm.

7- Phase mobile B (UHPLC)

Acétonitrile.

8- Solutions de résolution (UHPLC)

- Peser l'équivalent de 120 mg d'amoxicilline à partir l'amoxicilline trihydratée (WS) ;
- Transférer dans une fiole de 50 mL et ajouter 2,5 mL de NaOH 0,01N ;
- Chauffer à 50°C pendant 30 minutes (solution G) ;
- Chauffer à 50°C pendant 1heure (solution H) ;
- Chauffer à 50°C pendant 1heure30minutes (solution I) ;
- Chauffer à 60°C pendant 30 minutes (solution J) ;
- Chauffer à 60°C pendant 1heure (solution K) ;
- Chauffer à 60°C pendant 1heure30minutes (solution L) ;
- Chauffer à 70°C pendant 30 minutes (solution M) ;
- Chauffer à 70°C pendant 1heure (solution N) ;
- Chauffer à 70°C pendant 1heure30minutes (solution O) ;
- Ajouter à chaque solution 31,25mg d'acide clavulanique à partir du clavulanate de potassium (WS) ;
- Diluer chaque solution avec 35mL de phase mobile A et dissoudre dans un bain à ultrasons pendant 10 minutes ;
- Compléter chaque solution avec la phase mobile A au volume et bien mélanger ;
- Filtrer chaque solution à travers un filtre à seringue de 0,2 µm.

9- Solution standard (UHPLC)

- Peser l'équivalent de 17 mg d'acide clavulanique à partir du clavulanate de potassium (WS) et l'équivalent de 240 mg d'amoxicilline à partir de l'amoxicilline trihydratée (WS) ;

Chapitre I : Matériel et Méthodes

- Diluer avec 70mL de phase mobile A dans une fiole de 100mL ;
- Dissoudre dans un bain à ultrasons pendant 10 minutes ;
- Transférer 1 mL de la solution résultante dans une fiole de 100mL ;
- Compléter avec la phase mobile A au volume et bien mélanger ;
- Filtrer à travers un filtre à seringue de 0,2 µm.

10- Solution échantillon (UHPLC)

- Peser l'équivalent de 240 mg d'amoxicilline à partir de l'échantillon sachet ;
- Diluer avec 70mL de phase mobile A dans une fiole de 100mL ;
- Dissoudre dans un bain à ultrasons pendant 10 minutes ;
- Compléter avec la phase mobile A au volume et bien mélanger ;
- Filtrer à travers un filtre à seringue de 0,2 µm.

I.1.5 : Préparation des solutions pour la validation de la méthode

1- Solution placebo

- Peser 50 mg de crospovidone, 35 mg d'aspartame, 35 mg d'arome fraise et 118 mg de dioxyde de silicium ;
- Transférer dans une fiole de 2000mL à l'aide de 1500 mL d'eau purifiée ;
- Dissoudre dans un bain à ultrasons pendant 15 minutes ;
- Compléter avec l'eau ultrapure au volume et bien mélanger pendant 3 minutes ;
- Filtrer à travers un filtre à seringue de 0,45 µm.

2- Solutions standards

2-1- Solution standard 60%

- Peser l'équivalent de 10,99mg d'acide clavulanique à partir du clavulanate de potassium (WS) et l'équivalent de 86,2 mg d'amoxicilline à partir l'amoxicilline trihydratée (WS) ;
- Diluer avec 150 mL d'eau purifiée dans une fiole de 250 mL ;
- Dissoudre dans un bain à ultrasons pendant 15 minutes ;
- Compléter avec l'eau purifiée au volume et bien mélanger ;
- Filtrer à travers un filtre à seringue de 0,45 µm.

Chapitre I : Matériel et Méthodes

2-2- Solution standard 80%

- Peser l'équivalent de 14,65 mg d'acide clavulanique à partir du clavulanate de potassium (WS) et l'équivalent de 114,94 mg d'amoxicilline à partir l'amoxicilline trihydratée (WS) ;
- Diluer avec 150 mL d'eau purifiée dans une fiole de 250 mL ;
- Dissoudre dans un bain à ultrasons pendant 15 minutes ;
- Compléter avec l'eau désionisée au volume et bien mélanger ;
- Filtrer à travers un filtre à seringue de 0,45 µm.

2-3- Solution standard 100%

- Peser l'équivalent de 18,32 mg d'acide clavulanique à partir du clavulanate de potassium (WS) et l'équivalent de 143,68 mg d'amoxicilline à partir l'amoxicilline trihydratée (WS) ;
- Diluer avec 150 mL d'eau purifiée dans une fiole de 250 mL ;
- Dissoudre dans un bain à ultrasons pendant 15 minutes ;
- Compléter avec l'eau purifiée au volume et bien mélanger ;
- Filtrer à travers un filtre à seringue de 0,45 µm.

- 2-4- Solution standard 120%

- Peser l'équivalent de 21,98 mg d'acide clavulanique à partir du clavulanate de potassium (WS) et l'équivalent de 172,41 mg d'amoxicilline à partir l'amoxicilline trihydratée (WS) ;
- Diluer avec 150 mL d'eau purifiée dans une fiole de 250 mL ;
- Dissoudre dans un bain à ultrasons pendant 15 minutes ;
- Compléter avec l'eau purifiée au volume et bien mélanger ;
- Filtrer à travers un filtre à seringue de 0,45 µm.

2-5- Solution standard 140%

- Peser l'équivalent de 25,64 mg d'acide clavulanique à partir du clavulanate de potassium (WS) et l'équivalent de 201,15 mg d'amoxicilline à partir l'amoxicilline trihydratée (WS) ;
- Diluer avec 150 mL d'eau purifiée dans une fiole de 250 mL ;
- Dissoudre dans un bain à ultrasons pendant 15 minutes ;
- Compléter avec l'eau purifiée au volume et bien mélanger ;
- Filtrer à travers un filtre à seringue de 0,45 µm.

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I.1.6 : Logiciels utilisés

- XMind 11.1.2 (Copyright 2007-2016 Evernote Corporation) : réalisation du Diagramme d'Ishikawa ;
- JMP® Pro 16.2.0 (570548) (Copyright®2020-2021 SAS Institute Inc.) : réalisation des plans d'expérience et des cartes de contrôle ;
- Excel (Microsoft Office Professionnel 2016) : traitement des résultats de la validation de la méthode analytique.

II. Méthodes

II.1 : Conception du produit

II.1.1 : Définition du profil cible de qualité du produit (QTPP)

Initialement le QTPP pour l'Amoclan® 8 :1 500mg/62,5mg sachets et l'Amoclan® 8 :1 1g/125mg sachets a été défini lors d'un brainstorming regroupant le personnel participant au processus de production. Le QTPP choisi s'est basé sur les propriétés physicochimiques de la substance médicamenteuse, les caractéristiques du princeps, les recommandations de l'USP, de la British Pharmacopoeia (BP) et de l'ICH, les connaissances acquises lors du développement de la formulation et la population de patients visée.

II.1.2 : Identification des attributs de qualité critiques (CQAs)

Après la définition du QTPP, l'étape suivante a concerné l'identification des CQAs du produit. Ces attributs représentent les caractéristiques qui influencent la qualité du produit final et qui peuvent être affectés par un changement de la formulation ou du processus de production. Le choix a pris en compte aussi la gravité du préjudice subi par le patient (innocuité et efficacité) résultant du non-respect de ces attributs.

II.1.3 : Evaluation des risques

Pour garantir la qualité, la sécurité et l'efficacité souhaitées du produit, une évaluation des risques selon l'ICH Q9 a été entreprise afin d'identifier les attributs des matériaux et du processus critiques qui possèdent un haut risque d'impact sur les CQAs.

L'évaluation initiale était basée sur une analyse préliminaire des risques (PHA). Cette analyse qualitative a relié les attributs des différents matériaux et les attributs du processus au CQAs

Chapitre I : Matériel et Méthodes

choisis. Chaque relation entre les attributs et les CQAs a été classée en risque élevé, moyen et faible en fonction du degré d'impact afin d'identifier les attributs des matériaux critiques potentiels (Potential Critical Materials Attributes, p-CMAs) et les attributs du processus critiques potentiels (Potential Critical Process Attributes p-CPPs).

Ensuite, une analyse des effets du mode de défaillance et de la criticité (FMECA) a été utilisée en association avec un diagramme d'Ishikawa. Ce diagramme en arête de poisson a permis de relier les p-CMAs et les p-CPPs aux CQAs par des relations de cause à effet potentielles.

La dernière étape de cette évaluation a consisté à réaliser une FMECA pour une évaluation quantitative des risques par le calcul d'un RPN, en prenant en considération les modes de défaillances potentiels, leurs causes, et leurs effets possibles sur les CQAs. Une échelle de 1 à 5 a été utilisée pour classer la gravité (G) de la défaillance, son occurrence (O) et sa détectabilité (D). Nous avons étudié l'impact des p-CMAs et des p-CPPs sur les CQAs, où chaque p-CMAs et p-CPPs avec un RPN supérieur ou égal à 4 a été considéré comme CMAs et CPPs.

II.1.4 : Conception d'expériences et développement d'un design space

Une fois que les CMAs et les CPPs ont été établies, nous avons réalisé une étude expérimentale en incorporant ces variables dans une DoE afin de mettre au point un design space.

Les plans sélectionnés pour cette étude étaient les plans de criblage définitifs (Definitive screening designs, DSDs), proposés par Jones et Nachtsheim en 2011.

Ces plans de criblage sont des plans de résolution IV où les effets principaux ne sont pas aliasés avec les interactions à deux facteurs, ce qui les rend aptes à déterminer de manière concluante lequel de plusieurs facteurs affecte la réponse, à détecter les interactions actives entre deux facteurs et à identifier tout facteur ayant des effets non linéaires importants sur la réponse.

Les facteurs sélectionnés étaient la teneur en eau de l'amoxicilline, de l'acide clavulanique, de l'aspartame, de la crospovidone et du dioxyde de silicium.

Chaque facteur possédait deux niveaux -1 et +1, qui correspondait à leur teneur en eau après séchage à 60°C pendant 4 heures et exposition à l'air libre pendant 4 heures respectivement.

Les niveaux de la teneur en eau des facteurs étudiés sont représentés dans le Tableau 46.

Chapitre I : Matériel et Méthodes

Tableau 46 : Teneur en eau des matières premières pour Amoclan[®] 8 :1 1g/125mg et niveaux des facteurs correspondants

Composés	Teneur en eau à T0 (%)	Teneur en eau après 4h de séchage à 60°C (%)	Teneur en eau après 4 h à l'air libre (%)
Amoxicilline trihydratée	13,89	5,95	14,90
Clavulanate de potassium	2,11	7,46	11,62
Crospovidone	4,45	7,29	17,40
Aspartame	3,35	3,14	4,38
Syloid (Dioxyde de silicium)	8,94	7,19	25,33
Niveaux des facteurs	0	-1	+1

Les réponses choisies ont été la masse moyenne, la teneur de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique, l'uniformité de teneur des préparations et leur teneur en eau. Les expériences n'ont concerné que l'Amoclan[®] 8 :1 1g/125mg vu que le nature du dosage n'apporte aucune différence dans la sélection des facteurs statistiquement significatifs.

Les expériences ont été randomisées pour éliminer les effets du bruit et des facteurs externes qui peuvent être présents dans le processus.

La méthode utilisée pour déterminer la teneur de l'amoxicilline, de l'acide clavulanique et l'uniformité de teneur des préparations était la RP-HPLC optimisée lors de l'établissement du MODR. Les conditions chromatographiques étaient les suivantes :

- Volume d'injection : 20 μ L ;
- Colonne : C18 (25cm x 4,6mm) 5 μ m ;
- pH (solution tampon) =3,79 ;

Chapitre I : Matériel et Méthodes

- Phase mobile : Tampon phosphate/ méthanol (96,5/3,5) ;
- Débit : 1,68 mL/min ;
- Longueur d'onde de détection : 220nm ;
- Température de la colonne : 24,7°C ;
- Température de la chambre d'injection : 5°C.

La méthode utilisée pour déterminer la teneur en eau des différentes préparations étaient la titration par la méthode de Karl Fischer.

La mise en œuvre des plans a été effectuée par JMP Pro 16.2.0 et l'analyse des résultats s'est basée sur la plateforme Fit Definitive Screening qui utilise un algorithme appelé Effective Model Selection for DSDs spécifique à ces modèles, ce qui nous a permis d'identifier les effets principaux actifs, les interactions et les effets de second ordre.

Après l'ajustement des différents résultats, nous avons transformé les résultats finaux sous forme d'un design space qui réunissait les conditions optimales.

II.1.5 : Conception et mise en œuvre d'une stratégie de contrôle et de surveillance continue du process (CPM, Continuous process monitoring)

La stratégie de contrôle proposée s'est basée sur l'incorporation de méthodes analytiques On-line ou At-line permettant de gérer les CPPs et les CMAs en utilisant le système de rétroaction PAT. Cette démarche permet de continuer à assurer les CQAs tout au long du cycle de vie du produit.

II.2 : Développement de la procédure analytique pour la détermination qualitative et quantitative des analytes

II.2.1 : Définition du profil cible analytique (ATP)

Le profil de cible analytique est un paramètre crucial de l'AQbD qui définit l'application analytique prévue des méthodes et facilite leur amélioration continue avec une flexibilité réglementaire accrue.

Initialement l'ATP a été défini lors d'un brainstorming regroupant le personnel participant au contrôle qualité en se basant sur les propriétés physicochimiques de la substance médicamenteuse, les bonnes pratiques de préparations, les caractéristiques et les attributs qualité de la méthode, les caractéristiques des appareils et les recommandations de l'USP, de la BP et de l'ICH.

Chapitre I : Matériel et Méthodes

Nous avons défini deux ATPs en fonction des contrôles effectués. Le premier ATP a concerné le dosage de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique et l'uniformité de teneur de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique par RP-HPLC. Le deuxième a concerné le dosage des impuretés de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique par RP-UHPLC.

II.2.2 : Identification des attributs de qualité critiques (CQAs)

Après la définition des ATPs, l'étape suivante a consisté à identifier les CQAs de la RP-HPLC et de la RP-UHPLC.

Ces CQAs étaient des variables de réponse clés ou des attributs mesurables du chromatogramme qui doivent se situer dans une limite ou un intervalle approprié pour garantir la qualité souhaitée de la méthode et nous renseigner sur ses performances.

II.2.3 : Evaluation des risques

Les CMAs et les CMPs sont des paramètres dont les variations ont un impact sur un ou plusieurs CQAs et doivent donc être surveillés ou contrôlés pour s'assurer que la méthode répond à la qualité souhaitée.

L'évaluation initiale était basée sur une analyse préliminaire des risques (PHA). Cette analyse qualitative a relié les attributs des différents matériaux et les attributs de la méthode aux CQAs choisis. Chaque relation entre les attributs et les CQAs a été classée en risque élevé, moyen et faible en fonction du degré d'impact afin d'identifier les attributs des matériaux critiques potentiels (Potential Critical Materials Attributes, p-CMAs) et les paramètres de la méthode critiques potentiels (Potential Critical Method Attributes, p-CMPs).

Ensuite, un diagramme d'Ishikawa a permis de relier les p-CMAs et les p-CMPs aux CQAs par des relations de cause à effet potentielles afin de visualiser et de sélectionner les plus influents pour une étude plus approfondie. Les risques potentiels identifiés ont été classés en cinq groupes de paramètres différents : matériaux, opérateurs, attributs de la méthode, instruments et environnement.

Enfin, une analyse C-N-X combinée à une analyse FMECA a été utilisée pour découvrir les variables de risque les plus élevées contrôlant les CQAs. L'approche C-N-X a permis de classer les causes de défaillances potentielles en celles pouvant être contrôlées (C), celles qui étaient des bruits (N) et celles qui nécessitaient une expérimentation (X).

Chapitre I : Matériel et Méthodes

La classification C-N-X a permis de calculer un score précis du RPN pendant l'étude FMECA où une échelle de 1 à 5 a été utilisée pour classer la gravité (G) de la défaillance, son occurrence (O) et la probabilité qu'elle soit détectée (D).

II.2.4 : Conception d'expériences et développement d'un MODR

Afin d'identifier les facteurs à haut risque, qui doivent être contrôlés, nous avons utilisé des plans de criblage définitifs. Ces plans de petite taille à trois niveaux offrent des avantages par rapport aux plans de criblage standards car ils permettent de déterminer de manière concluante lequel de plusieurs facteurs affecte la réponse et de détecter et d'identifier tout facteur ayant des effets non linéaires importants sur la réponse, ce qui permet d'étudier les courbures et les effets quadratiques qui sont classiquement déterminés par les plans d'optimisation.

Nous avons attribué à chaque facteur continu deux niveaux (-1 et +1) en ajoutant des essais centrés afin d'identifier les causes des effets non linéaires pour la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur) et RP-UHPLC (Solutions de résolution et dosage des impuretés). Les réponses choisies étaient les CQAs préalablement établies et l'ordre des essais était randomisé.

Les niveaux des facteurs sélectionnés lors de la RP-HPLC (Tableau 47) étaient les suivants :

Tableau 47 : Niveaux des facteurs sélectionnés lors de la RP-HPLC

Facteurs Niveaux	Débit	Température de la colonne	pH du tampon phosphate	Pourcentage du méthanol dans la phase mobile
+1	2,5 mL/min	30°C	5,4	7%
0	2 mL/min	25°C	4,4	5%
-1	1,5 mL/min	20°C	3,4	3%

Les autres conditions chromatographiques sont restées stables :

- Volume d'injection : 20µL ;
- Colonne : C18 (25cm x 4,6mm) 5µm ;
- Longueur d'onde de détection : 220nm ;
- Température de la chambre d'injection : 5°C.

Chapitre I : Matériel et Méthodes

Les niveaux des facteurs sélectionnés lors de la RP-UHPLC (Tableau 48) pour les solutions de résolution étaient les suivants :

Tableau 48 : Niveaux des facteurs sélectionnés lors de la RP-UHPLC (Solutions de résolution)

Facteurs Niveaux	Débit	T° de la colonne	pH du tampon	Chauffage	Durée du chauffage
-1	0,1 mL/min	20°C	4,6	50°C	30'
0	0,3 mL/min	25°C	5,6	60°C	1h
+1	0,5 mL/min	30°C	6,6	70°C	1h30'

Les autres conditions chromatographiques sont restées stables :

- Volume d'injection : 10 μ L ;
- Colonne : C18 (100mm x 2,1mm) 2,5 μ m ;
- Longueur d'onde de détection : 210nm ;
- Température de la chambre d'injection : 5°C.

Les niveaux des facteurs sélectionnés lors de la RP-UHPLC (Tableau 49) pour le dosage des impuretés étaient les suivants :

Tableau 49 : Niveaux des facteurs sélectionnés lors de la RP-UHPLC (Dosage des impuretés)

Facteurs Niveaux	Débit	T° de la colonne	pH du tampon
-1	0,1 mL/min	20°C	4,6
0	0,3 mL/min	25°C	5,6
+1	0,5 mL/min	30°C	6,6

Chapitre I : Matériel et Méthodes

Les autres conditions chromatographiques sont restées stables :

- Volume d'injection : 10 μ L ;
- Colonne : C18 (100mm x 2,1mm) 2,5 μ m ;
- Longueur d'onde de détection : 210nm ;
- Température de la chambre d'injection : 5°C.

La mise en œuvre des plans a été effectuée par JMP Pro 16.2.0 et l'analyse des résultats s'est basée sur la plateforme Fit Definitive Screening qui utilise un algorithme appelé Effective Model Selection for DSDs spécifique à ces modèles, ce qui nous a permis d'identifier les effets principaux actifs, les interactions et les effets de second ordre.

Après l'ajustement des différents résultats, nous avons transformé les résultats finaux sous forme de d'un MODR qui réunissait les conditions optimales pour les différentes méthodes.

II.2.5 : Validation de la méthode

Comme préconisé par la FDA, après l'établissement du MODR nous avons entamé la validation de la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur) par le profil d'exactitude.

La nouvelle composition optimale de la phase mobile était issue du MODR : tampon phosphate (pH=3,79) et méthanol (96,5/3,5).

Les conditions chromatographiques, issues aussi du MODR, ont été les suivantes :

- Volume d'injection : 20 μ L ;
- Colonne : C18 (25cm x 4,6mm) 5 μ m ;
- Débit : 1,68 mL/min ;
- Longueur d'onde de détection : 220nm ;
- Température de la colonne : 24,7°C ;
- Température de la chambre d'injection : 5°C.

Après la vérification de la conformité du système, la spécificité de la méthode a été évaluée par l'injection successive de la phase mobile, du standard (100%) de l'amoxicilline, de l'acide clavulanique et du placebo (mélange de tous les excipients présents dans le produit fini sauf les principes actifs) .

Après avoir déterminé qu'il n'y a aucun pic interférent aux temps de rétention de l'amoxicilline et l'acide clavulanique (Pas d'effet matrice), nous avons entamé l'injection des différentes solutions standards.

Chapitre I : Matériel et Méthodes

Le domaine de validation s'est étendu de 86,20mg à 201,15mg (344,80 à 804,60 mg/L) pour l'amoxicilline et de 10,99mg à 25,64mg (43,96 à 102,56 mg/L) pour l'acide clavulanique avec 5 niveaux de concentration (60%, 80%, 100%, 120% et 140%) pour les solutions standards, comme préconisé par la SFSTP2003-2006. Les limites d'acceptabilité étaient fixées à $\pm 10\%$ autour de la valeur cible et la proportion β était égale à 95 %.

Le plan de validation était formé de 3 séries avec 5 niveaux de concentration choisis et 3 répétitions par jour et par niveau, ce qui a donné un total de 45 essais.

Les réponses mesurées étaient les surfaces des pics et les résultats ont été traités par Excel afin de tracer les profils d'exactitude.

II.2.6 : Planification d'une stratégie de contrôle

La stratégie de contrôle s'est basée sur la mise au point de cartes de contrôle qui servent à surveiller la stabilité de la méthode d'analyse dans le temps.

Nous avons pris comme valeur cible la moyenne arithmétique des résolutions, des nombres de plateaux théoriques de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique, obtenues par analyse du standard et calculée sur un grand nombre de répétitions ($n = 31$). Ensuite, nous avons calculé les limites de contrôle supérieures et inférieures (LCS et LCI) pour chaque carte de contrôle.

Chapitre II

RESULTATS

Chapitre II : Résultats

1- Conception du produit

1-1 : Définition du QTPP

Initialement, le QTPP pour l'Amoclan[®] 8 :1 500mg/62,5mg sachets et le QTPP pour l'Amoclan[®] 8 :1 1g/125mg sachets ont été établis en fonction des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique, des caractéristiques du princeps (AUGMENTIN[®])[212], et des exigences USP43-NF38 [213–216], BP 2020 (10.0) [217], et ICH[218]. Ces caractéristiques associées aux justifications correspondantes sont résumées dans le Tableau 50.

Chapitre II : Résultats

Tableau 50 : QTPP pour l'Amoclan® 8 :1 500mg/62,5mg sachets et Amoclan® 8 :1 1g/125mg sachets

Eléments du QTPP	Cibles	Justifications
Forme galénique	Poudre pour suspension buvable en sachets unidoses	Exigence d'équivalence pharmaceutique : même forme galénique que le princeps
Voie d'administration	Orale	Exigence d'équivalence pharmaceutique : même voie d'administration que le princeps
Dosage	500mg/62,5mg (Amoxicilline/Acide clavulanique)	Exigence d'équivalence pharmaceutique : même dosage que le princeps
	1g/125mg (Amoxicilline/Acide clavulanique)	
Propriétés pharmacocinétiques	Après administration orale, l'amoxicilline et l'acide clavulanique présentent une biodisponibilité d'environ 70 %. Les profils plasmatiques de ces deux composants sont similaires et le délai d'obtention de la concentration plasmatique maximale (Tmax) est d'environ une heure dans chaque cas	Exigence de bioéquivalence avec le princeps nécessaire pour garantir une absorption et une efficacité rapide

Chapitre II : Résultats
(Suite)

	L'association amoxicilline/acide clavulanique possède une demi-vie d'élimination moyenne d'environ une heure et une clairance totale moyenne d'environ 25L/h chez les sujets sains. Son BCS ¹ est de (3,1/3) démontrant une faible perméabilité et une haute solubilité.[219]			
Stabilité	24 mois dans un endroit sec Boire immédiatement après reconstitution			Exigence d'équivalence pharmaceutique: identique au princeps et conditions ICH Q1F (Zone 4 : 30°C/65% d'humidité relative)
Attributs qualité du produit	Caractéristiques physiques	Apparence	Poudre de couleur blanc jaunâtre à jaune	In house
		Masse moyenne (mg)	850 (808-893)	In house
			1700 (1615-1785)	
	Identification	HPLC		Monographie USP

Chapitre II : Résultats
(Suite)

	Teneur :			Monographie USP
	Amoxicilline (%)		90-120	
	Acide clavulanique (%)		90-125	
	Uniformité des préparations unidoses			Monographie USP
	Amoxicilline (uniformité de masse)		$AV^2 \leq 15$	
	Acide clavulanique (uniformité de teneur)		$AV \leq 15$	
Impuretés de l'amoxicilline (%)	Composé apparenté I ^a de l'USP (D-hydroxyphenylglycine, HPG)	NMT ³ 1,0	Monographie USP de l'Amoxicilline API	
	Composé apparenté D ^b de l'USP	NMT 1,0	Monographie USP de l'Amoxicilline API	

Chapitre II : Résultats
(Suite)

		Composé apparenté C ^c de l'USP	NMT 1,0	Monographie USP de l'Amoxicilline API
		Composé apparenté E ^d de l'USP	NMT 1,0	Monographie USP de l'Amoxicilline API
		Composé apparenté J ^e de l'USP	NMT 2,0	Monographie BP du Co-Amoxiclav comprimé
		Impureté inconnue la plus élevée	NMT 1,0	Monographie USP de l'Amoxicilline API
		Dégradants totaux de l'amoxicilline	NMT 5,0	Monographie USP de l'Amoxicilline API
	Impuretés de l'acide clavulanique (%)	Toute impureté	NMT 1.0	Monographie BP du Co-Amoxiclav comprimé
	Total des impuretés de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique (%)		NMT 7,0	Total des impuretés : somme pour l'amoxicilline API et le clavulanate de potassium API
	Teneur en eau (%)		NMT 12	In house

Chapitre II : Résultats
(Suite)

	Limites microbiennes (UFC ⁴ /mL) Dénombrement total des microbes aérobies Total combiné des moisissures et des champignons E. Coli	NMT 1000 NMT 100 Absent	Monographie USP
Conditionnement	Sachets hermétiques étanches		Nécessaire pour atteindre la durée de conservation cible et pour garantir l'intégrité du produit pendant l'expédition
Autres modes d'administration	Aucune		Aucun n'est répertorié dans la notice du princeps

¹BCS : Biopharmaceutics Classification System

²AV : Acceptance value (Valeur d'acceptation)

³NMT : Not more than (Pas plus de)

⁴UFC : Unité formant colonie

a : Acide (R)-2-amino-2-(4-hydroxyphényl) acétique.

b : Le système chromatographique sépare deux acides pénicilloïques l'un de l'autre.

Acide (4S)-2-[[R]-2-amino-2-(4-hydroxyphényl) acétamido](carboxy)méthyl}-5,5-diméthylthiazolidine-4-carboxylique.

c : Acide (4S)-2-[5-(4-hydroxyphényl)-3,6-dioxopipérazin-2-yl]-5,5-diméthylthiazolidine-4-carboxylique.

d : Le système chromatographique sépare deux acides pénicilloïques l'un de l'autre.

Acide (4S)-2-[[R]-2-Amino-2-(4-hydroxyphényl) acétamido] méthyl}-5,5-diméthylthiazolidine-4-carboxylique.

e : Acide (2S,5R,6R)-6-((2R)-2-{2-[[R]-2-Amino-2-(4-hydroxyphényl)acétamido]-2-[(4S)-4-carboxy-5,5-diméthylthiazolidin-2-yl]acétamido}-2-(4-hydroxyphényl)acétamido)-3,3-diméthyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylique.

Chapitre II : Résultats

1-2 : Identification des CQAs

Les CQAs de l'Amoclan[®] 8 :1 500mg/62,5mg sachets et de l'Amoclan[®] 8 :1 1g/125mg sachets sont résumés dans le Tableau 51 avec les justifications correspondantes.

Chapitre II : Résultats

Tableau 51 : CQAs de l'Amoclan® 8 :1 500mg/62,5mg sachets et de l'Amoclan® 8 :1 1g/125mg sachets

Attributs de qualité du produit pharmaceutique			Cibles	La modification de la formulation et/ou des variables de processus aura-t-elle un impact sur cet attribut de qualité ?	Est-ce un CQA ?	Justifications
Attributs qualité du produit	Caractéristiques physiques	Apparence	Poudre de couleur blanche jaunâtre à jaune	Oui	Non	La couleur, la forme et l'apparence ne sont pas directement liées à la sécurité et à l'efficacité du médicament mais influencent plus l'acceptabilité du patient
		Masse moyenne (mg)	850 (808-893) 1700 (1615-1785)	Oui	Oui	La masse moyenne est nécessaire pour respecter les écarts limites en pourcentages lors du test de l'uniformité de masse et dans le respect de la teneur

Chapitre II : Résultats
(Suite)

	Identification	HPLC	Non	Oui*	Bien que l'identification soit essentielle pour la sécurité et l'efficacité du médicament, elle peut être contrôlée initialement lors de l'approvisionnement par la matière première
	Teneur : Amoxicilline (%) Acide clavulanique (%)	90-120 90-125	Oui	Oui	La variabilité dans les dosages aura une incidence sur la sécurité et l'efficacité du médicament
	Uniformité des préparations unidoses Amoxicilline (uniformité de masse) Acide clavulanique (uniformité de teneur)	AV≤15 AV≤15	Oui	Oui	La variabilité dans l'uniformité des préparations unidoses affectera la sécurité et l'efficacité du médicament

Chapitre II : Résultats
(Suite)

	Impuretés de l'amoxicilline (%)	Composé apparenté I ^a de l'USP (D-hydroxyphenylglycine)	NMT 1,0	Oui	Oui	La limite des impuretés est essentielle à la sécurité des patients. Les limites sont fixées par l'USP et la BP
		Composé apparenté D ^b de l'USP	NMT 1,0			
		Composé apparenté C ^c de l'USP	NMT 1,0			
		Composé apparenté E ^d de l'USP	NMT 1,0			
		Composé apparenté J ^e de l'USP	NMT 2,0			
		Impureté inconnue la plus élevée	NMT 1,0			
		Dégradants totaux de l'amoxicilline	NMT 5,0			

Chapitre II : Résultats
(Suite)

	Impuretés de l'acide clavulanique (%)	Toute impureté	NMT 1,0			
	Total des impuretés de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique (%)		NMT 7,0			
	Teneur en eau (%)		NMT 12	Oui	Oui	La teneur en eau peut affecter la dégradation et la croissance microbienne du médicament surtout la stabilité du clavulanate de potassium

Chapitre II : Résultats
(Suite)

	Limites microbiennes (UFC/mL)		Non	Oui*	
	Dénombrement total des microbes aérobie	NMT 1000			Le dépassement des limites microbiennes fixées par l'USP aura un impact sur la sécurité des patients. Cependant, dans ce cas, le risque de croissance microbienne est très faible car le mélange des produits est effectué à sec. En plus, la teneur en eau de la formulation est contrôlée en permanence
	Total combiné des moisissures et des champignons	NMT 100			
	E. Coli	Absent			

Oui : Le non-respect de ces spécifications nuira gravement à la qualité du médicament et à la santé du patient. Par conséquent, cette CQA sera étudiée en détail dans les évaluations des risques et dans le développement pharmaceutique ultérieur.

Oui* : Cette CQA ne sera pas étudiée et discutée en détail dans les évaluations des risques et le développement pharmaceutique ultérieur, mais reste un élément cible du QTPP et de l'étape de libération en raison de la gravité des dommages causés à la santé des patients. Elle est assurée par la conception du produit, du processus et la stratégie de contrôle.

Non : Cette CQA ne nuira pas gravement à la qualité du médicament et à la santé du patient. Par conséquent, elle ne sera pas étudiée et discutée en détail dans la formulation ou dans le développement du processus.

Chapitre II : Résultats

1-3 : Evaluation des risques

Les résultats de l'évaluation initiale des risques des attributs des matériaux utilisés et du processus de production sont décrits dans les Tableaux 52,53,54,55 et 56.

Chapitre II : Résultats

Tableau 52 : Evaluation initiale des risques des attributs de l'amoxicilline trihydratée

CQAs Attributs	Attributs de l'amoxicilline trihydratée						
	Forme	Identification	pH	Teneur en eau	Teneur en amoxicilline	Distribution granulométrique	Impuretés
Masse moyenne	Green	Green	Green	Yellow	Green	Yellow	Green
Teneur des produits finis	Green	Green	Green	Yellow	Red	Yellow	Yellow
Uniformité des préparations unidoses	Yellow	Green	Green	Yellow	Red	Red	Green
Teneur en eau des produits finis	Green	Green	Green	Red	Green	Green	Green
Taux des impuretés	Green	Green	Green	Yellow	Yellow	Green	Red
Green	Risque faible						
Yellow	Risque moyen						
Red	Risque élevé						

Chapitre II : Résultats

Tableau 53 : Evaluation initiale des risques des attributs du clavulanate de potassium/dioxyde de silicium

CQAs Attributs	Attributs du clavulanate de potassium/dioxyde de silicium						
	Forme	Identification	pH	Teneur en eau	Teneur en acide clavulanique	Distribution granulométrique	Impuretés
Masse moyenne	Vert	Vert	Vert	Jaune	Vert	Jaune	Vert
Teneur des produits finis	Vert	Vert	Vert	Jaune	Rouge	Jaune	Jaune
Uniformité des préparations unidoses	Jaune	Vert	Vert	Jaune	Rouge	Rouge	Vert
Teneur en eau des produits finis	Vert	Vert	Vert	Rouge	Vert	Vert	Vert
Taux des impuretés	Vert	Vert	Vert	Jaune	Vert	Vert	Rouge
Vert	Risque faible						
Jaune	Risque moyen						
Rouge	Risque élevé						

Chapitre II : Résultats

Tableau 54 : Evaluation initiale des risques des variables de formulation

CQAs Attributs		Variables de formulation				
		Aspartame	Crospovidone	Dioxyde de silicium	Arôme fraise	Sachet déshydratant tropack 4B
Masse moyenne						
Teneur des produits finis						
Uniformité des préparations unidoses						
Teneur en eau des produits finis						
Taux des impuretés						
	Risque faible					
	Risque moyen					
	Risque élevé					

Chapitre II : Résultats

Tableau 55 : Evaluation initiale des risques des articles de conditionnement

CQAs Attributs		Articles de conditionnement		
		Aluminium quadriplex	Flow Pack	Boites
Masse moyenne				
Teneur des produits finis				
Uniformité des préparations unidoses				
Teneur en eau des produits finis				
Taux des impuretés				
	Risque faible			
	Risque moyen			
	Risque élevé			

Chapitre II : Résultats

Tableau 56 : Evaluation initiale des risques du processus de production

CQAs Attributs	Etapas du processus					
	Humidité et température	Vide de ligne	Mélange (Rotation par minute/Temps de mélange)	Tamisage	Remplissage des sachets (Rotation par minute)	Température et pression de scellage
Masse moyenne	Yellow	Green	Green	Green	Red	Green
Teneur des produits finis	Red	Green	Red	Green	Yellow	Red
Uniformité des préparations unidoses	Red	Green	Red	Yellow	Yellow	Green
Teneur en eau des produits finis	Red	Green	Green	Green	Green	Yellow
Taux des impuretés	Red	Red	Green	Green	Green	Red

Green	Risque faible
Yellow	Risque moyen
Red	Risque élevé

Chapitre II : Résultats

Les diagrammes d'Ishikawa pour les p-CMAs et les p-CPPs sont détaillés dans les Figures 55 et 56.

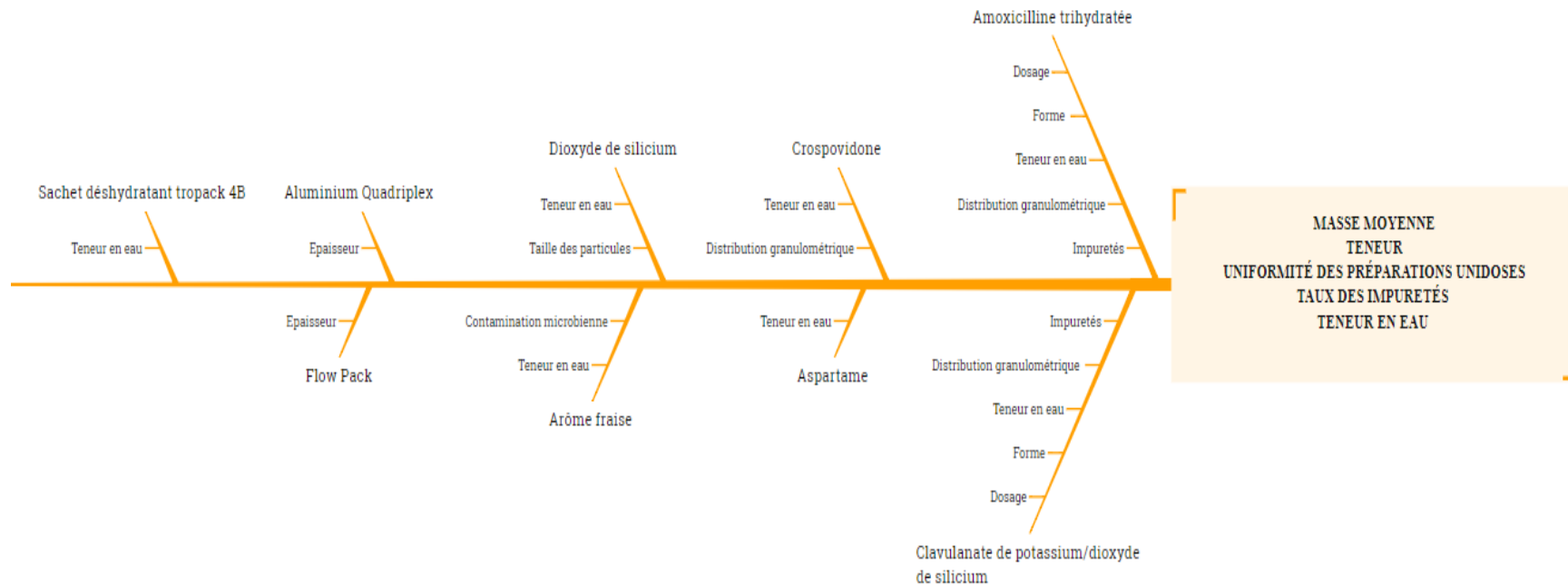


Figure 55 : Relation entre p-CMAs et CQAs

Chapitre II : Résultats

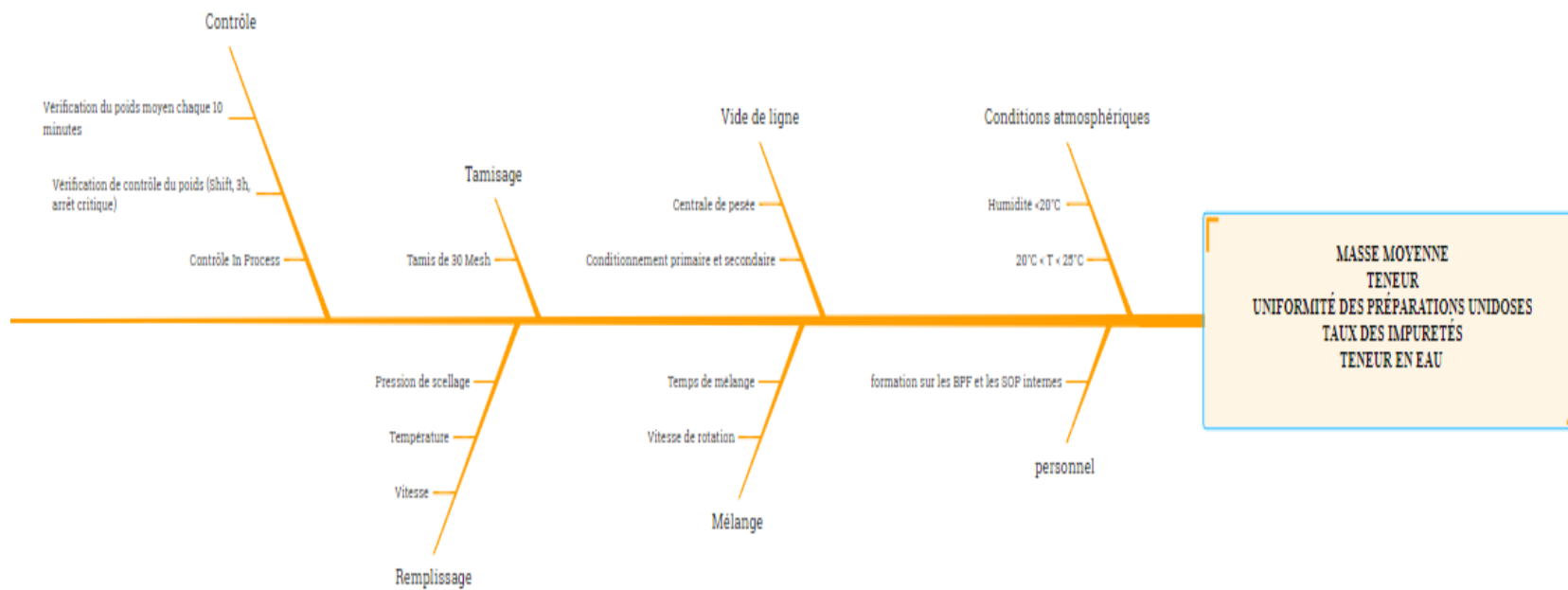


Figure 56 : Relation entre p-CPPs et CQAs

Chapitre II : Résultats

La grille des scores utilisés lors de la FMECA et les résultats sont résumés dans les Tableaux 57 et 58.

Tableau 57 : Echelles de gravité, d'occurrence et de détectabilité utilisées pour la FMECA

Score	Echelle de gravité (G)
1	Mineur : l'échec n'a pas d'impact sur le produit/le patient
2	Faible : l'échec a un léger inconvénient pour le patient/le processus
3	Modéré : une défaillance peut entraîner une insatisfaction chez le patient/le processus et nécessite des mesures correctives
4	Élevé : une défaillance du produit peut affecter le patient
5	Très élevé : une défaillance du produit peut entraîner le décès du patient.
Echelle d'occurrence (O)	
1	Faible : une à deux fois par an
2	Modéré : au moins une fois par mois
3	Elevé : au moins une fois par semaine
4	Très élevé : au moins une fois par jour
Echelle de détectabilité (D)	
1	Élevé et très élevé : il est presque certain que les contrôles peuvent détecter la défaillance
2	Détection modérée : les contrôles peuvent détecter la défaillance, mais il existe un risque de non-détection
3	Détection faible : les contrôles ont peu de chance de détecter la défaillance
4	Détection très faible ou inexistante : les contrôles ne détecteront probablement pas la défaillance

Chapitre II : Résultats

Tableau 58 : Résultats de la FMECA

CQAs	Défaillance (description du défaut)	Cause du défaut	G	Effet critique du défaut	O	Eléments de contrôle	D	RPN*
Masse moyenne	Masse moyenne dépassant l'intervalle (808-893) mg ou (1615-1785) mg	Teneur en eau des matières premières et des variables de formulation	4	Médicament sous ou surdosé et risque pour le patient	1	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Vérifier chaque 10 minutes la masse moyenne de 08 sachets prélevés des 08 canaux de la machine (In process) ▪ Vérification préliminaire de la machine (Check list) ▪ Contrôle qualité du produit fini 	1	4
		Distribution granulométrique						
		Dérèglement de la machine (vitesse de la vis sans fin, fermeture du système Clap)						
		Anomalie du système HVAC (Heating, Ventilation and Air Conditioning)						
		Air comprimé						
		Enregistreur d'humidité et de température						
		Personnel non qualifié						

Chapitre II : Résultats
(Suite)

Teneur des produits finis	Dosage dépassant les normes : -Amoxicilline : 90-120% - Acide clavulanique : 90-125%	Teneur en eau des matières premières et des variables de formulation	4	Médicament sous ou surdosé Médicament inefficace ou dangereux pour le patient	1	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dosage des matières premières et des produits finis ▪ Contrôle de la teneur en eau ▪ Contrôle de la distribution granulométrique ▪ Vérification préliminaire de la machine (Check list) ▪ Validation du procédé de production ▪ Scelling test (test d'étanchéité des sachet) chaque 15 minutes ▪ Vérification des paramètres machines (vitesse, température et pression de scellage) ▪ Contrôle qualité de l'aluminium ▪ Flow pack system 	1	4
		Titre des matières premières						
		Distribution granulométrique						
		Tamissage à travers un tamis de 30 Mesh						
		Vitesse de rotation et temps du mélange						
		Anomalie du système HVAC						
		Air comprimé						
		Enregistreur d'humidité et de température						
		Mauvais scellage (produit et paramètres machine)						
Personnel non qualifié								

Chapitre II : Résultats
(Suite)

Uniformité des préparations unidoses	Préparations unidoses non uniformes : -Amoxicilline : AV>15 -Acide clavulanique : AV>15	Forme de la poudre	4	Médicament non uniforme, inefficace ou dangereux pour le patient	1	Test de l'uniformité des préparations unidoses par uniformité de teneur pour l'amoxicilline et le clavulanate de potassium	1	4
		Titre des matières premières						
		Distribution granulométrique						
		Teneur en eau des matières premières et des variables de formulation						
		Vitesse de rotation et temps de mélange						
		Tamisage à travers un tamis de 30 mesh						
		Anomalie du système HVAC						
		Air comprimé						
		Enregistreur d'humidité et de température						
Personnel non qualifié								

Chapitre II : Résultats
(Suite)

Teneur en eau des produits finis	Teneur > 12%	Teneur en eau des matières premières et des variables de formulation	4	✓ Dégradation du principe et augmentation des impuretés ✓ Augmentation de la contamination microbienne	3	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Contrôle de la teneur en eau du PA, des excipients et des variables de formulation ▪ Contrôle de l'humidité atmosphérique chaque 15 minutes ▪ Qualification du système HVAC chaque année et du système air comprimé ▪ Monitoring chaque mois du système HVAC par le département de validation 	1	12
		Anomalie du système HVAC						
		Air comprimé						
		Enregistreur d'humidité et de température						
		Qualité des articles de conditionnement						
		Personnel non qualifié						

Chapitre II : Résultats
(Suite)

Taux des impuretés	Taux supérieur aux normes de l'USP et de la BP	Teneur en eau des matières premières et des variables de formulation	5	Médicament dangereux et risque pour le patient	3	Dosage des impuretés	1	15
		Mauvais scellage (produit et paramètres machine)						
		Conditions de stockage						
		Personnel non qualifié						

* : $RPN = Gravité(G) \times Occurrence(O) \times Déteçtabilité(D)$

Chapitre II : Résultats

1-4 : Conception d'expériences et développement d'un design space

La matrice et les résultats du plan de criblage définitif pour l'Amoclan® 8 :1 1g/125mg sachets sont regroupés dans le Tableau 59.

Les chromatogrammes correspondants aux réponses sont représentés en annexes.

Tableau 59 : Plan de criblage définitif et résultats expérimentaux pour l'Amoclan® 8 :1 1g/125mg sachets

N° Essai	Amoxicilline (Amox)	Acide clavulanique (Clav)	Aspartame (Asp)	Crospovidone (Cros)	Dioxyde de silicium (Syl)	Masse moyenne	Titre clav ¹	Titre amox ²	Uniformité Clav ³	Uniformité Amox ⁴	Teneur en eau
1	1	0	-1	1	1	1759	78,8	63,7	46	62,4	11,60
2	0	1	1	1	1	2205	99,6	91,7	11	20	11,98
3	-1	0	1	-1	-1	1724	88,7	76,2	16,2	29	10,15
4	-1	1	-1	-1	1	1720	55	55,4	95,1	98,4	11,65
5	0	-1	-1	-1	-1	1737	80,4	74,2	30,9	36,2	11,87
6	0	0	0	0	0	1756	93,1	75,4	25,3	40,7	11,35
7	1	-1	1	1	-1	1731	89,1	81,1	12,8	20,4	11,26
8	1	1	-1	0	-1	1718	89,9	102	11,5	2,4	9,11
9	-1	1	0	1	-1	1722	86,3	101	26	10,9	12,07
10	-1	-1	1	0	1	1717	88	90,7	83,8	82,5	12,89
11	-1	-1	-1	1	0	1740	93,2	99,1	12,1	6,9	13,62
12	1	-1	0	-1	1	1702	89,3	101,9	12,2	3,2	11,71
13	1	1	1	-1	0	1730	90,8	93,9	11	8,1	11,78

1 : Titre de l'acide clavulanique

2 : Titre de l'amoxicilline

3 : Uniformité de l'acide clavulanique

4 : Uniformité de l'amoxicilline

Chapitre II : Résultats

1-4-1 : Analyse des résultats

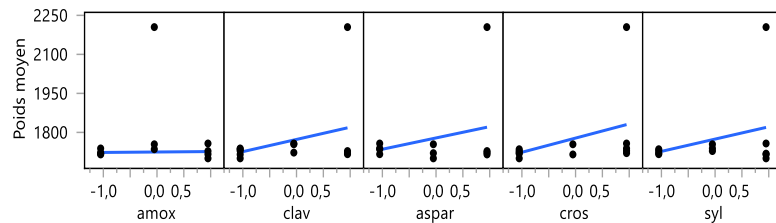
Les résultats analysés par le logiciel JMP Pro 16.2.0 sont regroupés comme suit :

➤ Ajuster le criblage définitif pour la masse moyenne

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	1766,2	34,324	51,457	<,0001*
clav	46,8	39,136	1,1958	0,2623
cros	54,4	39,136	1,39	0,1979
syl	47,1	39,136	1,2035	0,2595
Statistique		Valeur		
Ecart-type résiduel (Root Mean Square Error, RMSE)		123,76		
Degrés de liberté		9		

Graphique des effets principaux



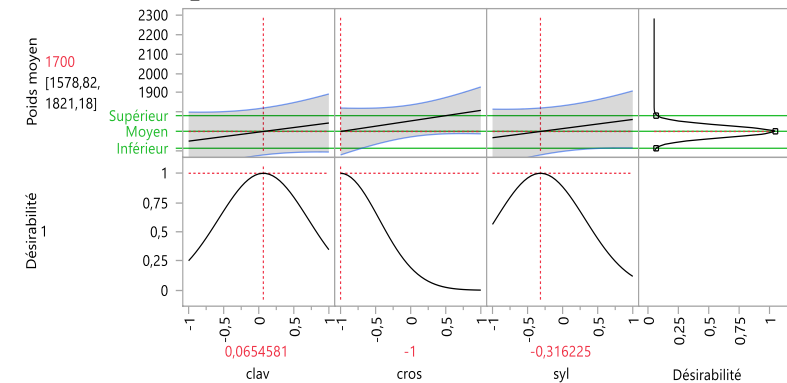
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
cros	0,703		0,19793
syl	0,586		0,25948
clav	0,581		0,26231

Analyse de la variance

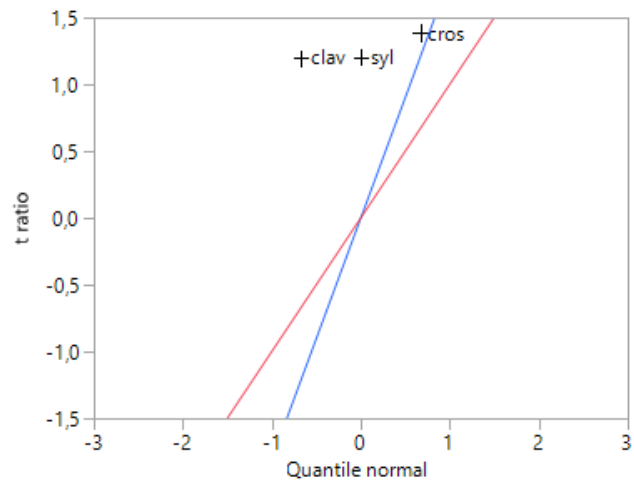
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	73680,10	24560,0	1,6036
Erreur	9	137844,21	15316,0	Prob. > F
Total corrigé	12	211524,31		0,2560

Profil de prévision



Chapitre II : Résultats

Droite de Henry



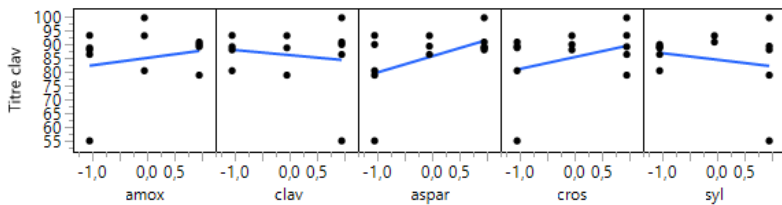
Chapitre II : Résultats

- Ajuster le criblage définitif pour le titre de l'acide clavulanique

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	86,323	2,6129	33,037	<,0001*
amox	2,67	2,9792	0,8962	0,3935
aspar	5,89	2,9792	1,9771	0,0794
cros	4,28	2,9792	1,4366	0,1847
Statistique	Valeur			
RMSE	9,421			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



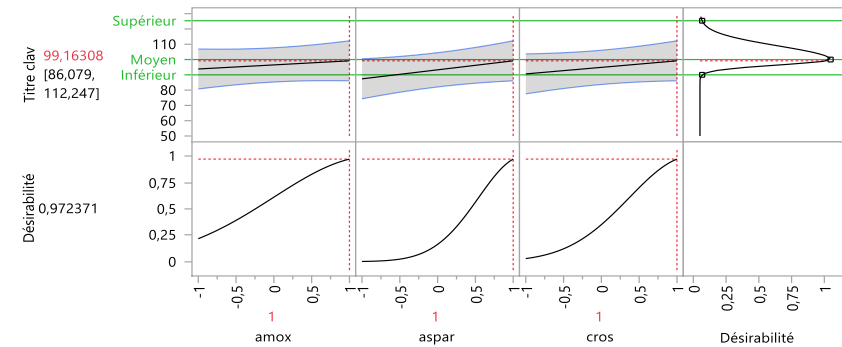
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
aspar	1,100		0,07943
cros	0,734		0,18466
amox	0,405		0,39347

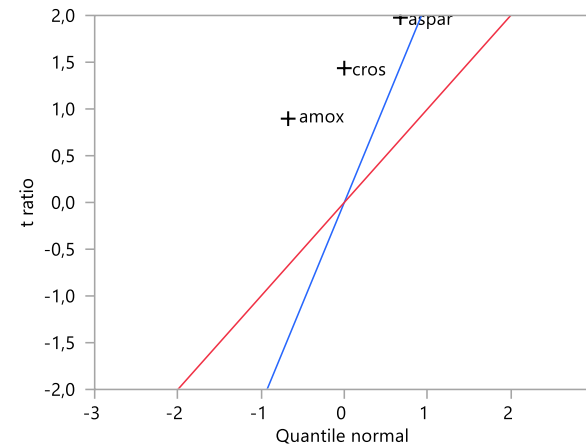
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	601,3940	200,465	2,2586
Erreur	9	798,7891	88,754	Prob. > F
Total corrigé	12	1400,1831		0,1507

Profileur de prévision



Droite de Henry



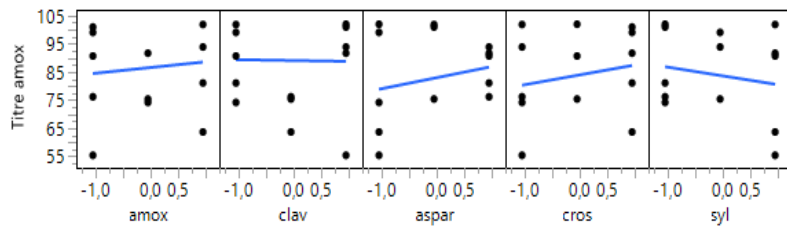
Chapitre II : Résultats

- Ajuster le criblage définitif pour le titre de l'amoxicilline

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	85,1	2,5128	33,867	<,0001*
aspar	3,92	2,865	1,3682	0,2203
cro	3,5	2,865	1,2216	0,2677
syl	-3,11	2,865	-1,086	0,3194
aspar*cro	-10,37	3,5089	-2,954	0,0255*
aspar*syl	15,535	3,5089	4,4273	0,0044*
cro*syl	-10,67	3,5089	-3,042	0,0227*
Statistique	Valeur			
RMSE	9,06			
Degrés de liberté	6			

Graphique des effets principaux



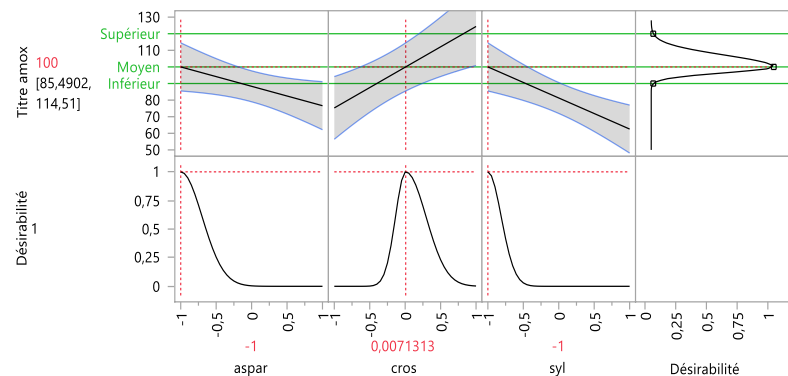
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
aspar*syl	2,353		0,00444
cro*syl	1,643		0,02274
aspar*cro	1,594		0,02548
aspar	0,657		0,22026
cro	0,572		0,26767
syl	0,496		0,31938

Analyse de la variance

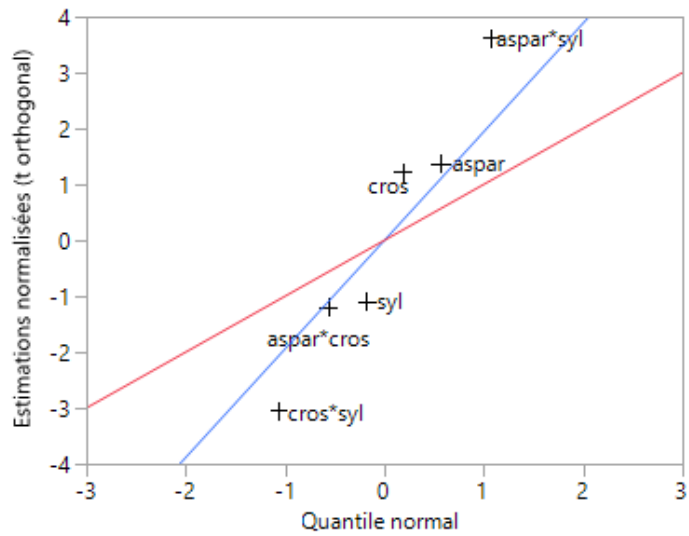
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	6	2324,6745	387,446	4,7201
Erreur	6	492,5055	82,084	Prob. > F
Total corrigé	12	2817,1800		0,0404*

Profil de prévision

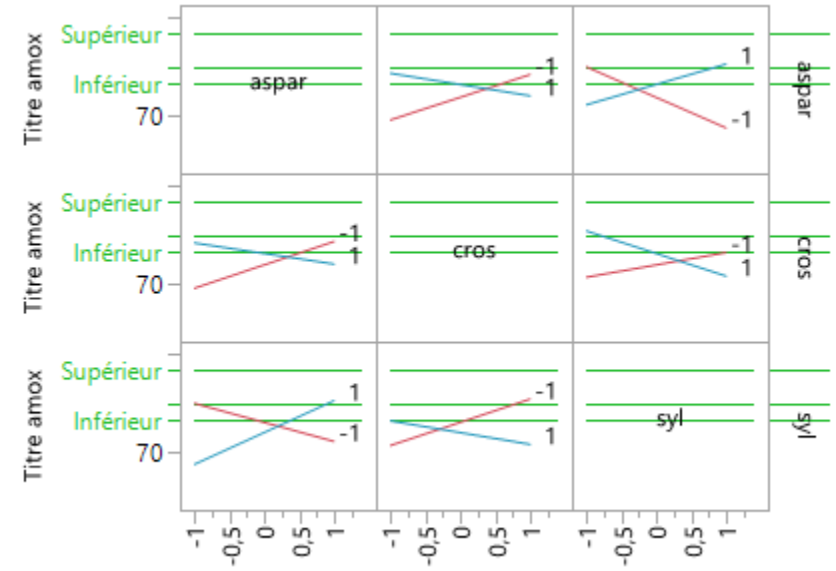


Chapitre II : Résultats

Droite de Henry



Profils d'interaction



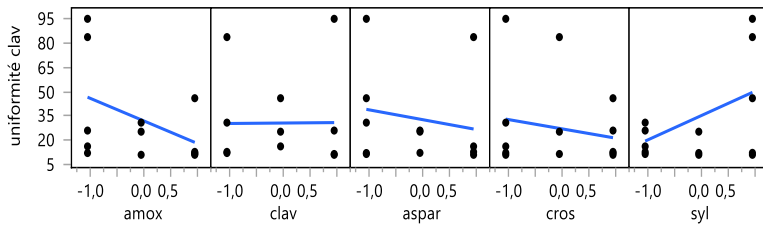
Chapitre II : Résultats

- Ajuster le criblage définitif pour l'uniformité de l'acide clavulanique

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	30,3	6,5513	4,625	0,0012*
amox	-13,97	7,4697	-1,87	0,0943
aspar	-6,08	7,4697	-0,814	0,4367
syl	15,07	7,4697	2,0175	0,0744
Statistique	Valeur			
RMSE	23,621			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



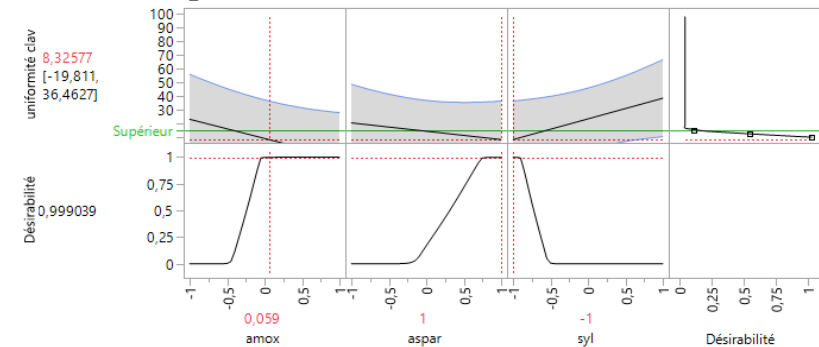
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
syl	1,128		0,07442
amox	1,026		0,09426
aspar	0,360		0,43667

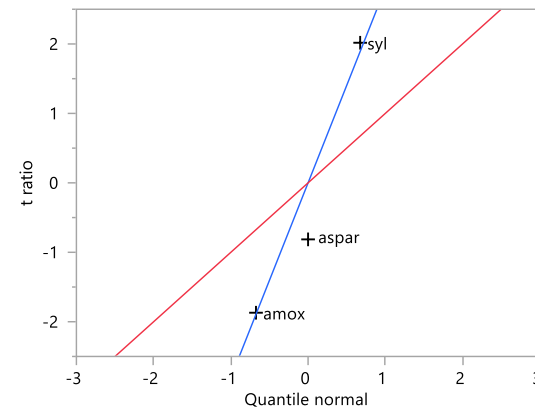
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	4592,3220	1530,77	2,7435
Erreur	9	5021,6380	557,96	Prob. > F
Total corrigé	12	9613,9600		0,1051

Profileur de prévision



Droite de Henry



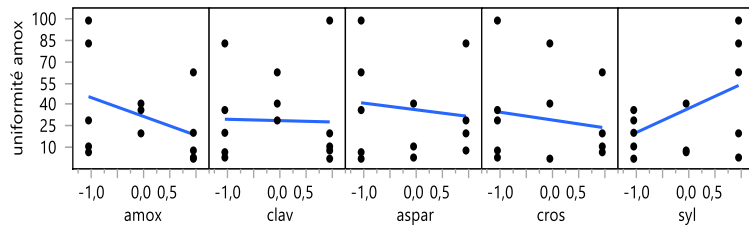
Chapitre II : Résultats

- Ajuster le criblage définitif pour l'uniformité de l'amoxicilline

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	32,392	7,6175	4,2523	0,0021*
amox	-13,12	8,6853	-1,511	0,1652
cros	-5,43	8,6853	-0,625	0,5474
syl	16,76	8,6853	1,9297	0,0857
Statistique	Valeur			
RMSE	27,465			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



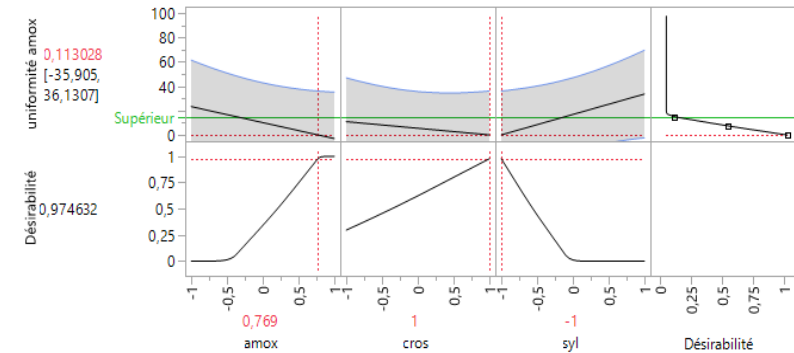
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
syl	1,067		0,08571
amox	0,782		0,16518
cros	0,262		0,54737

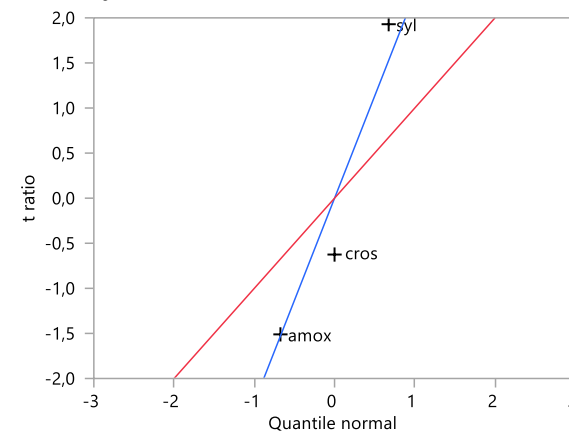
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	4825,169	1608,39	2,1322
Erreur	9	6789,120	754,35	Prob. > F
Total corrigé	12	11614,289		0,1662

Profileur de prévision



Droite de Henry



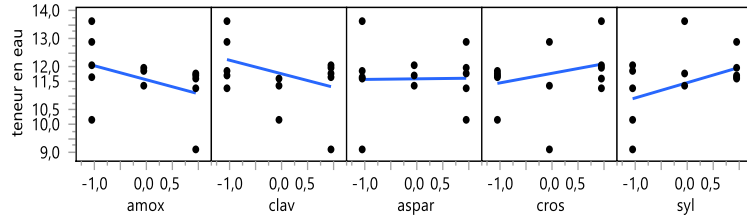
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour la teneur en eau

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	11,618	0,247	47,045	<,0001*
amox	-0,492	0,2816	-1,747	0,1145
clav	-0,476	0,2816	-1,69	0,1252
syl	0,537	0,2816	1,9071	0,0889
Statistique	Valeur			
RMSE	0,8904			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



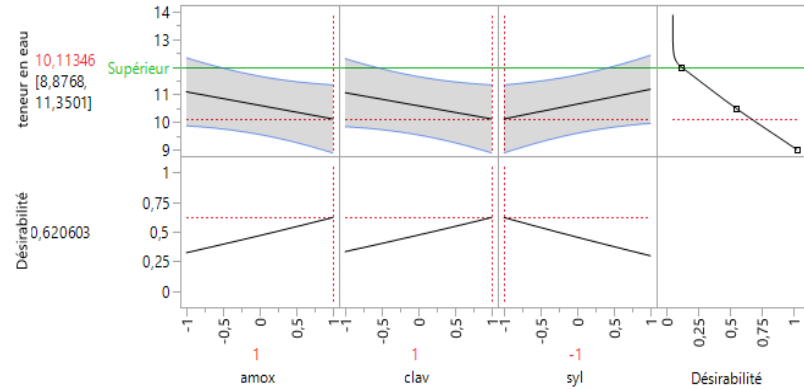
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
syl	1,051		0,08887
amox	0,941		0,11453
clav	0,902		0,12520

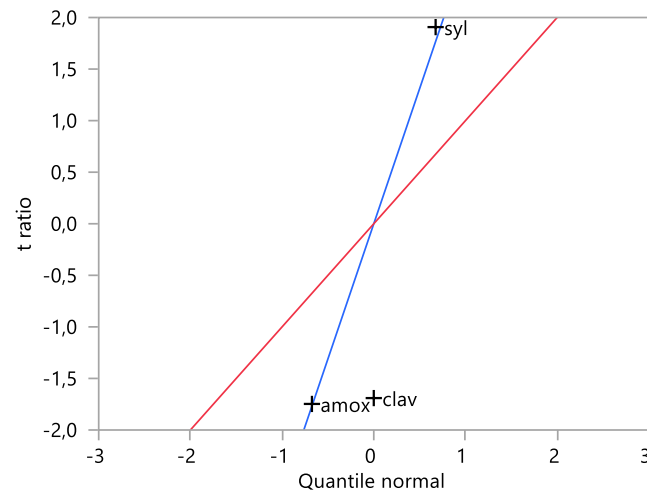
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	7,570090	2,52336	3,1825
Erreur	9	7,135879	0,79288	Prob. > F
Total corrigé	12	14,705969		0,0774

Profileur de prévision



Droite de Henry



Chapitre II : Résultats

1-4-2 : Etablissement du design space

L'analyse et le regroupement des résultats ont abouti à création d'un design space (Figure 57) illustré sous forme d'une région (Zone blanche) qui respecte les différentes conditions simultanément.

➤ Profileur d'isoréponses

Facteur	X
aspar	0,8719512
cros	-0,695122
syl	0,0365854
amox	0,8109756
clav	0,0670732

	Réponse	Isoréponses	Y calculé	Lim. inf.	Lim. sup.
—	Titre de l'amoxicilline	90	94,638801	90	120
—	Masse moyenne	1950	1727,6128	1615	1785
—	Titre de l'acide clavulanique	90	93,699285	90	125
—	Uniformité de l'amoxicilline	50	12,568613	0	15
—	Uniformité de l'acide clavulanique	55	12,490973	0	15
—	Teneur en eau	11,5	11,110012	0	12

Chapitre II : Résultats

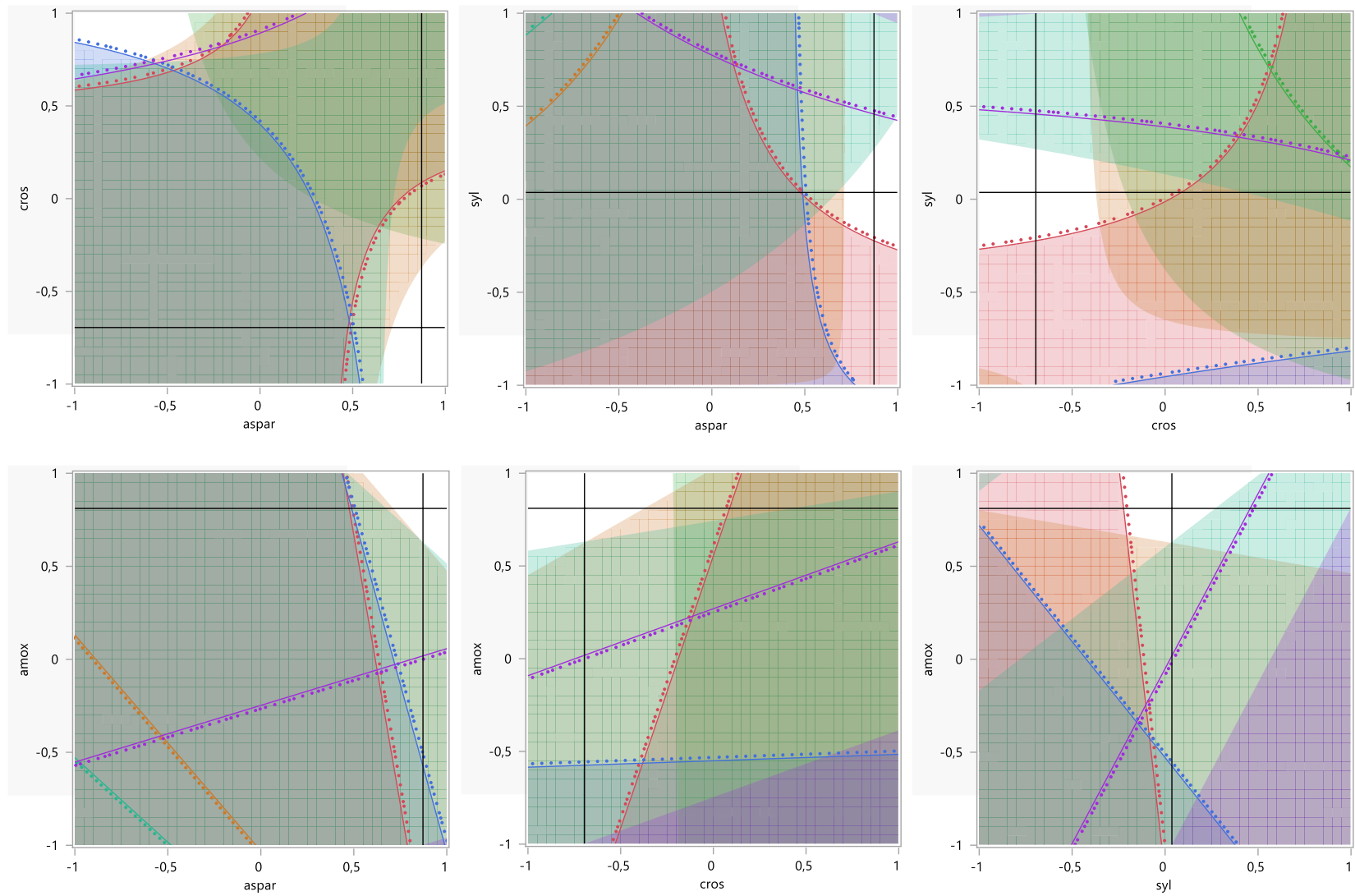


Figure 57 : Design space pour la conception de Amoclan[®] 8 :1 1g/125mg sachets.

Chapitre II : Résultats

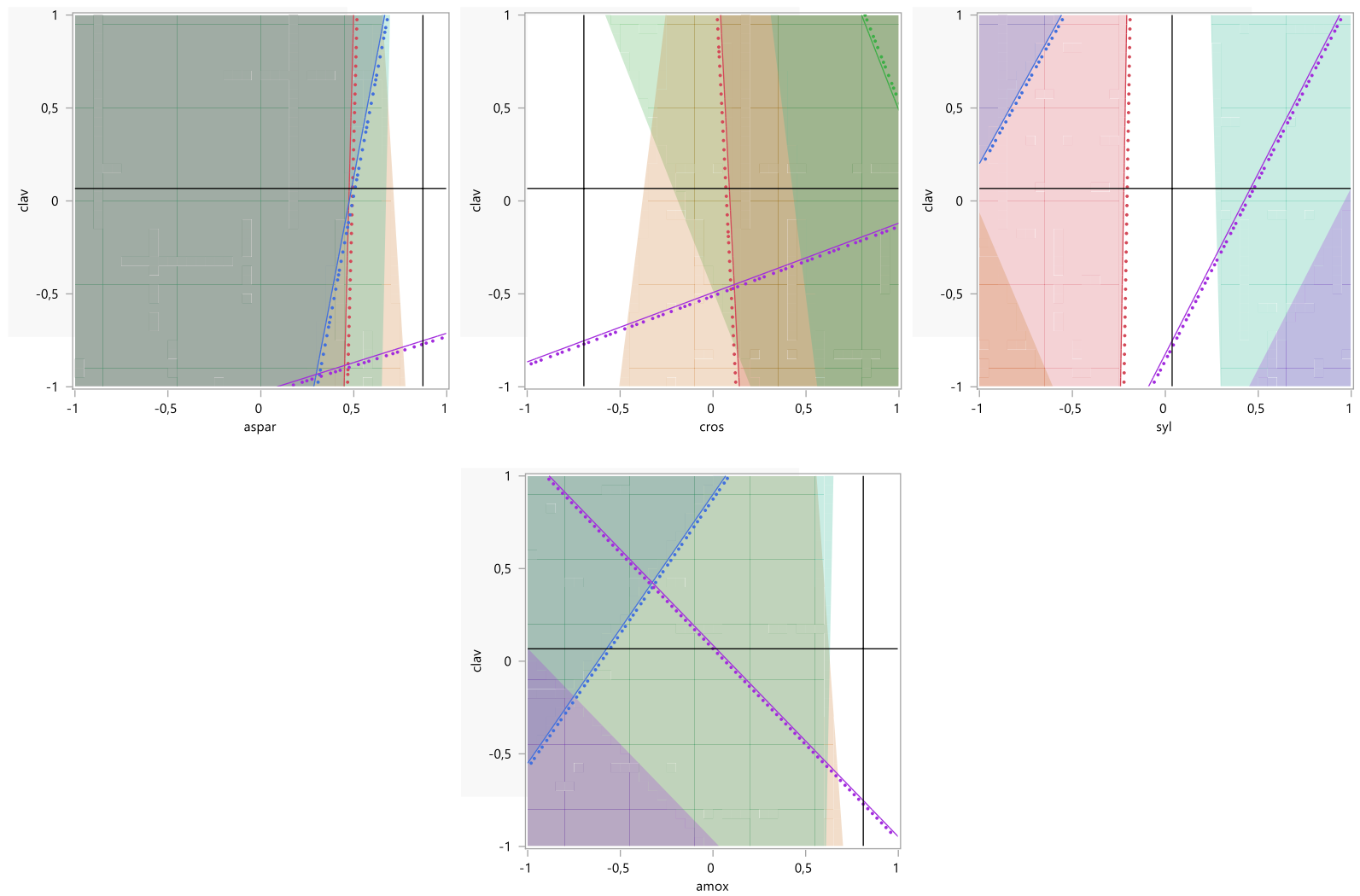


Figure 57 : Design space pour la conception de Amoclan[®] 8 :1 1g/125mg sachets (Suite).

Chapitre II : Résultats

1-5 : Conception et mise en œuvre d'une stratégie de contrôle et de surveillance continue du process

La stratégie de contrôle est représentée par la Figure 58.

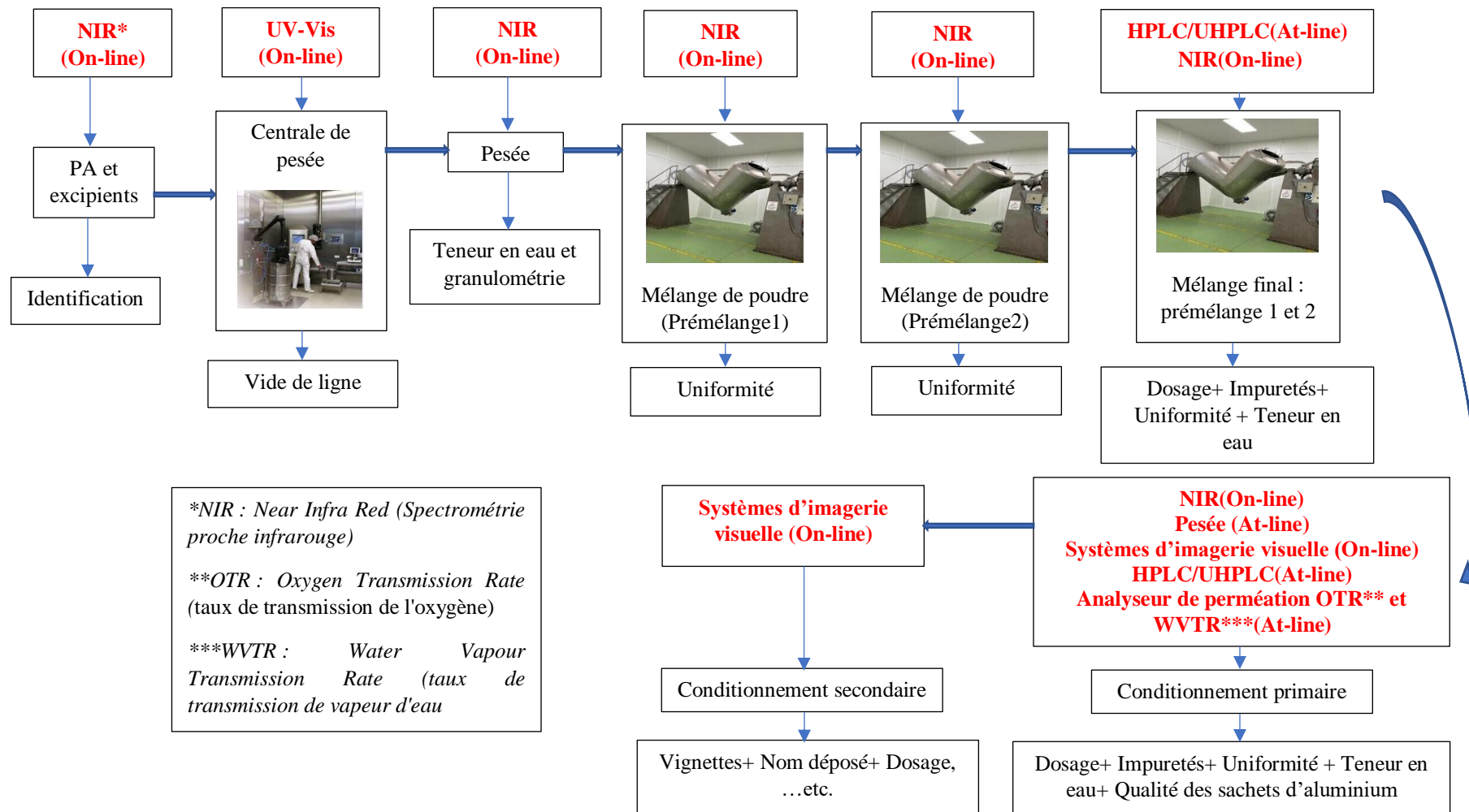


Figure 58 : Applications du PAT pour le processus de fabrication de l'Amoclan® 8 :1 500mg/62,5mg et l'Amoclan® 8 :1 1g/125mg sachets

Chapitre II : Résultats

2 - Développement de la procédure analytique pour la détermination qualitative et quantitative des analytes

2-1 : Définition de l'ATP

Initialement et conformément à l'approche AQbD pour le développement systématique d'une méthode analytique, l'ATP a été défini en résumant les attributs de qualité de la méthode. Les Tableaux 60 et 61 énumèrent les différents éléments de l'ATP de la méthode RP-HPLC et RP-UHPLC utilisées lors du dosage et l'uniformité de teneur de l'Amoclan[®] 8 :1 500mg/62,5mg sachets et l'Amoclan[®] 8 :1 1g/125mg sachets, ainsi que pour les solutions de résolution et le dosage des impuretés respectivement.

L'ATP des deux méthodes ont été établis en fonction des propriétés physicochimiques de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique, les caractéristiques techniques des appareillages (HPLC et UHPLC), et des exigences USP43-NF38[213], BP2020(10.0)[217] et ICH[189] .

Les caractéristiques citées sont associées aux justifications correspondantes.

Chapitre II : Résultats

Tableau 60 : ATP de la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)

Eléments de l'ATP	Cible	Justifications
Echantillon cible	Produit fini : Amoclan [®] 8 :1 500 mg/62,5mg et Amoclan [®] 8 :1 1g/125mg	Développement d'une méthode HPLC pour la quantification de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique dans le produit fini, pour l'étude de leur uniformité de teneur pour l'acide clavulanique et les échantillons de stabilité
Type de méthode	RP-HPLC (C18)	La RP-HPLC présente généralement l'avantage d'une bonne rétention des molécules de médicament lipophiles, car elle consiste en une phase stationnaire hydrophobe. L'amoxicilline trihydratée possède un pKa ₁ = 3,23 et un pKa ₂ = 11,7, [220] et l'acide clavulanique possède un pKa=2.7 [221], légèrement inférieurs au pH de la phase mobile = 4,4 ± 0,1. Ainsi, la méthode de la phase inversée serait plus précise et fiable à cet effet
Besoin en instruments	HPLC avec une pompe quaternaire DéTECTEUR UV-Visible Mode isocratique	La pompe quaternaire fournit un mélange précis et efficace des solvants de la phase mobile par rapport à la pompe binaire. Les composés contiennent des groupements chromophores et le détecteur UV-Visible est adapté pour leur quantification à 220 nm comme préconisé par l'USP
Etat de l'échantillon	Poudre pour suspension buvable dissoute dans l'eau désionisée	En RP-HPLC, l'analyte doit être à l'état liquide pour sa miscibilité avec la phase mobile

Chapitre II : Résultats

(Suite)

Préparation des standards et des échantillons	Pesée des working standard et des échantillons Dissolution et filtration	Selon la BP 2020 (10.0), l'amoxicilline trihydratée est légèrement soluble dans l'eau et le clavulanate de potassium est facilement soluble dans l'eau. En plus, la combinaison amoxicilline/clavulanate de potassium présente un BCS (3,1/3) définissant une haute solubilité.[219] En plus, l'amoxicilline trihydratée présente un Log P positif (Log P= 0,75)[210], et le clavulanate de potassium un Log P négatif (Log P= -1,5). [222] La préparation des solutions standards et des solutions échantillons est effectuée en pesant la quantité exacte de l'amoxicilline et du clavulanate de potassium, suivie d'une dissolution dans l'eau désionisée avec une solubilisation par ultrasons et une solubilisation mécanique. Avant l'injection les solutions standards et les solutions échantillons sont filtrées à travers un filtre PVDF ou PTFE de diamètre 0,45µm
Application de la méthode	Dosage de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique et uniformité de teneur	La méthode est applicable pour le dosage de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique. Elle est aussi applicable pour déterminer l'uniformité de teneur pour l'acide clavulanique
Spécificité	La méthode devrait évaluer l'analyte sans équivoque en présence d'autres composants attendus	La spécificité doit être établie pour obtenir une variabilité systématique minimale selon les recommandations ICH Q2(R1)

Chapitre II : Résultats
(Suite)

Intervalle de mesure	La méthode devrait présenter une linéarité dans la plage de concentrations entre la limite de quantification basse et la limite de quantification haute avec une exactitude et une fidélité acceptable	L'intervalle est nécessaire pour s'assurer que l'erreur entre la concentration réelle et le niveau prévu de l'équation mathématique (principalement des échantillons inconnus) dans l'intervalle est très minime
Linéarité	La méthode doit permettre d'obtenir des résultats d'essai qui sont directement, ou par une transformation mathématique bien définie, proportionnels à la concentration de l'analyte dans les échantillons dans une plage donnée correspondant à différents niveaux de concentration	Les limites de linéarité sont les limites expérimentales des valeurs entre lesquelles un modèle d'étalonnage peut être appliqué, avec un niveau de confiance connu, à la suite de la procédure de validation
Exactitude (justesse + fidélité)	L'intervalle de tolérance permet d'avoir 95% des résultats dans les limites d'acceptation	Le profil d'exactitude est construit à partir de l'intervalle de mesure dans lequel la procédure est capable de quantifier avec une exactitude connue et un risque fixé par l'analyste, et permet de décider de la capacité ou non de cette procédure à fournir des résultats dans les limites d'acceptation

Chapitre II : Résultats
(Suite)

Robustesse	La méthode ne devrait pas être affectée par des variations légères mais délibérées des paramètres de procédure énumérés dans le document de procédure	La robustesse est nécessaire pour obtenir une variabilité minimale dans l'analyse de l'analyte en raison d'une petite déviation dans les procédures de préparation de l'échantillon, ainsi les résultats ne devraient pas être affectés
Ecart-type relatif (Relative Standard Deviation, RSD) pour la surface des pics de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique de la solution standard	$RSD \leq 2\%$ (5réplications)	USP
Facteur de trainée (ft) des pics de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique de la solution standard	$ft \leq 2\%$	USP
Nombre de plateaux théoriques (N) des pics de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique de la solution standard	$N \geq 550$	In house
Résolution (Rs) entre les pics de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique de la solution standard	$Rs \geq 3,5$	USP

Chapitre II : Résultats

Tableau 61 : ATP de la méthode RP-UHPLC (Dosage des impuretés)

Eléments de l'ATP	Cible	Justifications
Echantillon cible	Produit fini : Amoclan [®] 8 :1 500 mg/62,5mg et Amoclan [®] 8 :1 1G/125mg	Développement d'une méthode RP-UHPLC pour la quantification des impuretés de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique dans le produit fini
Type de méthode	RP-UHPLC (C18)	Le RP-UHPLC présente généralement l'avantage d'une bonne rétention des molécules de médicament lipophiles, car elle consiste en une phase stationnaire hydrophobe. L'amoxicilline trihydratée possède un $pK_{a1} = 3,23$ et un $pK_{a2} = 11,7$, [220] et le clavulanate de potassium possède un $pK_a = 2,7$ [221], légèrement inférieurs au pH de la phase mobile = $5,6 \pm 0,05$. Ainsi, la méthode de la phase inversée serait plus précise et fiable à cet effet
Besoin en instruments	UHPLC avec une pompe quaternaire DéTECTEUR UV-Visible Mode gradient d'éluTION	La pompe quaternaire fournit un mélange précis et efficace des solvants de la phase mobile par rapport à la pompe binaire. Les composés contiennent des groupements chromophores et le détecteur UV-Visible est adapté pour leur quantification à 210 nm
Etat de l'échantillon	Poudre pour suspension buvable dissoute dans l'eau désionisée	En RP-UHPLC, l'analyte doit être à l'état liquide pour sa miscibilité avec la phase mobile

Chapitre II : Résultats
(Suite)

<p>Préparation des standards, des échantillons et des solutions de résolution</p>	<p>Pesée des working standard et des échantillons Dissolution et filtration</p>	<p>Selon la BP 2020(10.0), l'amoxicilline trihydratée est légèrement soluble dans l'eau et le clavulanate de potassium est facilement soluble dans l'eau. En plus, la combinaison amoxicilline/clavulanate de potassium présente un BCS (3,1/3) définissant une haute solubilité.</p> <p>En plus, l'amoxicilline trihydratée présente un Log P positif (Log P= 0,75)[210], et le clavulanate de potassium un Log P négatif (Log P= -1,5). [222]</p> <p>La préparation des solutions standards et des solutions échantillons est effectuée en pesant la quantité exacte de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique, suivie d'une dissolution dans l'eau désionisée avec une solubilisation par ultrasons et une solubilisation mécanique.</p> <p>Avant l'injection les solutions standards et les solutions échantillons sont filtrées à travers un filtre à seringue en cellulose régénérée de diamètre 0,2µm</p>
<p>Application de la méthode</p>	<p>Dosage des impuretés de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique du QTPP</p>	<p>La méthode est applicable pour le dosage des impuretés de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique</p>
<p>Spécificité</p>	<p>La méthode devrait évaluer l'analyte sans équivoque en présence d'autres composants attendus</p>	<p>La spécificité doit être établie pour obtenir une variabilité systématique minimale selon les recommandations ICH Q2(R1)</p>

Chapitre II : Résultats
(Suite)

Intervalle de mesure	La méthode devrait présenter une linéarité de la limite de report pour chaque impureté, ou de la limite de quantification si elle est supérieure à cette valeur, à 120 % de la limite spécifiée	ICH Q2(R1)
Linéarité	La méthode doit permettre d'obtenir des résultats d'essai qui sont directement, ou par une transformation mathématique bien définie, proportionnels à la concentration de l'analyte dans les échantillons dans une plage donnée correspondant à différents niveaux de concentration	Les limites de linéarité sont les limites expérimentales des valeurs entre lesquelles un modèle d'étalonnage peut être appliqué, avec un niveau de confiance connu, à la suite de la procédure de validation
Exactitude (justesse + fidélité)	L'intervalle de tolérance permet d'avoir 95% des résultats dans les limites d'acceptation	Le profil d'exactitude est construit à partir de l'intervalle de mesure dans lequel la procédure est capable de quantifier avec une exactitude connue et un risque fixé par l'analyste, et permet de décider de la capacité ou non de cette procédure à fournir des résultats dans les limites d'acceptation

Chapitre II : Résultats
(Suite)

Robustesse	La méthode ne devrait pas être affectée par des variations légères mais délibérées des paramètres de procédure énumérés dans le document de procédure	La robustesse est nécessaire pour obtenir une variabilité minimale dans l'analyse de l'analyte en raison d'une petite déviation dans les procédures de préparation de l'échantillon, ainsi les résultats ne devraient pas être affectés
Ecart-type relatif (RSD) pour la surface des pics de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique de la solution standard	$RSD \leq 5\%$ (5réplications)	In house
Facteur de trainée (ft) des pics de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique de la solution standard	$ft \leq 2$	In house
Nombre de plateaux théoriques (N) des pics de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique de la solution standard	$N \geq 2000$	In house

Chapitre II : Résultats
(Suite)

Résolution (Rs) entre le pic du Composé apparenté D-1 de l'USP et l'acide clavulanique dans la solution de résolution	$R_s \geq 1,1$	In house
Résolution (Rs) entre le pic du Composé apparenté D-2 de l'USP et l'acide clavulanique dans la solution de résolution	$R_s \geq 2,5$	In house

Chapitre II : Résultats

2-2 : Identification des CQAs

Les CQAs des méthodes RP-HPLC et RP-UHPLC sont résumés dans les Tableaux 62 et 63 avec les justifications correspondantes.

Chapitre II : Résultats

Tableau 62 : CQAs de la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)

CQAs	Justifications
Nombre de plateaux théoriques (N)	Le nombre de plateaux théoriques mesure l'efficacité de la méthode et de la colonne. Plus le nombre de plateaux théoriques est élevé, plus l'efficacité de la méthode est grande. Il est donc considéré comme hautement critique pour l'analyse chromatographique
Résolution (Rs)	La distance entre les maximums des pics reflète la sélectivité du système qui augmente avec cette distance
Temps de rétention (Tr)	Le temps de rétention est un paramètre qualitatif largement utilisé et facilement mesurable. Il dépend du débit et de sa stabilité
Facteur de trainée (ft)	Le facteur de trainée mesure de l'asymétrie du pic. Une déformation du pic peut être due à l'adsorption, à la surcharge de la colonne, aux réactions chimiques ou à l'isomérisation au cours du processus chromatographique
Facteur de rétention (K')	Le facteur de rétention (Appelé aussi facteur de capacité) est un paramètre très pratique car il est sans dimension et indépendant du débit de la phase mobile et des dimensions de la colonne Il rend compte de la faculté plus ou moins grande de la colonne à retenir chaque composé

Chapitre II : Résultats

Tableau 63 : CQAs de la méthode RP-UHPLC (Dosage des impuretés)

CQAs	Justifications
Nombre de plateaux théoriques (N)	Le nombre de plateaux théoriques mesure l'efficacité de la méthode et de la colonne. Plus le nombre de plaques théoriques est élevé, plus l'efficacité de la méthode est grande. Il est donc considéré comme hautement critique pour l'analyse chromatographique
Résolution (Rs)	La distance entre les maximums des pics reflète la sélectivité du système qui augmente avec cette distance
Temps de rétention relatifs (TRR)	Les temps de rétention relatifs référencés à un composé standard assurent une meilleure reproductibilité des paramètres de rétention, car en pratique, les temps de rétention absolus possèdent une faible reproductibilité
Pourcentage des impuretés	Le pourcentage des impuretés exprime leurs niveaux dans le produit médicamenteux et doit être contrôlé dans des limites acceptables

Chapitre II : Résultats

2-3 : Evaluation des risques

Les résultats de l'évaluation initiale des risques impactant les attributs des matériaux utilisés lors des analyses et les paramètres instrumentaux de la méthode sont décrits dans les Tableaux 64 et 65.

Chapitre II : Résultats

Tableau 64 : Evaluation initiale des risques des attributs de la méthode de dosage RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)

CQAs Attributs		Nombre de plateaux théoriques	Résolution	Temps de rétention	Facteur de rétention	Facteur de trainée
Pesée						
Solubilisation (sonication et mélange)						
Dilution						
Filtration sur filtre de 0,45µm						
Pureté des produits et qualité des solvants						
Composition de la phase mobile						
pH						
Débit						
Température						
Type de colonne						
Longueur d'onde						
Volume d'injection						
Elution isocratique						
	Risque faible					
	Risque moyen					
	Risque élevé					

Chapitre II : Résultats

Tableau 65 : Evaluation initiale des risques des attributs de la méthode RP-UHPLC
(Dosage des impuretés)

Attributs \ CQAs	Nombre de plateaux théoriques	Résolution	Temps de rétention Relatifs	Pourcentage des impuretés
Pesée	Vert	Vert	Vert	Jaune
Solubilisation (sonication et mélange)	Vert	Jaune	Jaune	Jaune
Dilution	Vert	Vert	Vert	Jaune
Filtration sur filtre de 0,2µm	Vert	Rouge	Rouge	Vert
Pureté des produits et qualité des solvants	Jaune	Rouge	Jaune	Vert
Composition de la phase mobile et gradient d'élution	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge
pH	Rouge	Rouge	Rouge	Jaune
Débit	Rouge	Rouge	Rouge	Vert
Température	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune
Chauffage	Vert	Jaune	Vert	Rouge
Type de colonne	Rouge	Rouge	Rouge	Rouge
Longueur d'onde	Jaune	Jaune	Jaune	Rouge
Volume d'injection	Jaune	Jaune	Jaune	Vert
Vert	Risque faible			
Jaune	Risque moyen			
Rouge	Risque élevé			

Chapitre II : Résultats

Les diagrammes d'Ishikawa reliant les p-CMAs et les p-CMPs aux CQAs sont détaillées dans les Figures 59 et 60.



Figure 59 : Diagramme d'Ishikawa de la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur).

Chapitre II : Résultats

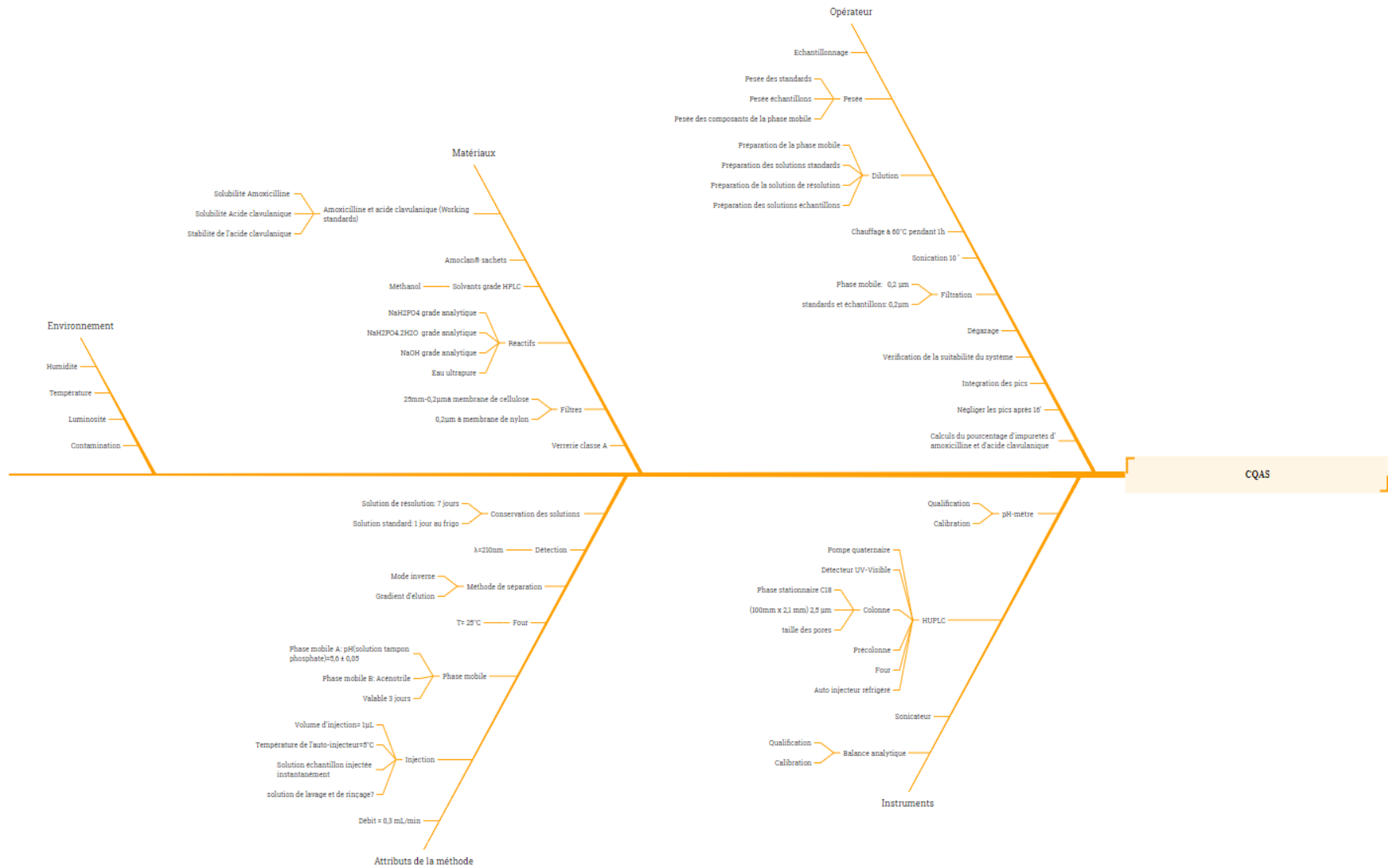


Figure 60 : Diagramme d'Ishikawa de la méthode RP-UHPLC (Dosage des impuretés)

Chapitre II : Résultats

Les résultats de l'analyse C-N-X combinée à l'approche FMECA sont résumés dans les Tableaux 66,67 et 68.

Tableau 66 : Echelles de gravité, d'occurrence et de détectabilité utilisée pour la FMECA

Score	Echelle de gravité (G)
1	Mineur : l'échec n'a pas d'impact sur les résultats de l'analyse
2	Faible : l'échec a un léger inconvénient pour les résultats de l'analyse
3	Modéré : une défaillance peut entraîner une insatisfaction des résultats de la méthode et nécessite des mesures correctives
4	Élevé : une défaillance peut affecter les résultats de l'analyse
5	Très élevé : une défaillance affecte gravement et fausse les résultats de l'analyse
Echelle d'occurrence (O)	
1	Faible : une à deux fois par an
2	Modéré : au moins une fois par mois
3	Elevé : au moins une fois par semaine
4	Très élevé : au moins une fois par jour
Echelle de détectabilité (D)	
1	Élevé et très élevé : il est presque certain que les contrôles peuvent détecter la défaillance
2	Détection modérée : les contrôles peuvent détecter la défaillance, mais il existe un risque de non-détection
3	Détection faible : les contrôles ont peu de chance de détecter la défaillance
4	Détection très faible ou inexistante : les contrôles ne détecteront probablement pas la défaillance

Chapitre II : Résultats

Tableau 67 : Analyse C-N-X combinée à l'approche FMECA pour la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)

Paramètre parent	Nom du paramètre	CQAs					Score final	C,N,X	Stratégie expérimentale	G	O	D	RPN ⁶
		N ¹	Rs ²	Tr ³	K' ⁴	ft ⁵							
Solutions standards et échantillons	Qualité des standards	1	1	1	1	1	50	C	Working standards	5	1	1	5
	Exactitude de la pesée et la dilution	1	5	1	1	5	130	N	Respecter strictement le protocole	5	2	1	10
	Sonication	1	5	1	1	1	90	C	Contrôlé	5	2	1	10
	Filtration	1	1	1	1	1	50	C	Contrôlé	5	4	3	60
	Durée et température de conservation	5	5	1	1	5	170	C	Contrôlé	5	2	1	10
Auto injecteur	Volume d'injection	1	1	1	1	1	50	C	Contrôlé	5	1	1	5
	Température	1	5	1	1	5	130	C	Contrôlé	5	1	4	20
Pompe	Débit	10	10	10	1	10	410	X	DoE	5	2	1	10
	Pression	10	10	10	1	10	410	N	Contrôler la pression	5	3	1	15
Colonne	Type de phase stationnaire	10	10	10	10	10	500	C	C18	5	1	1	5
	Taille des particules	5	5	5	5	5	250	C	5µm	2	1	1	2
	Longueur et diamètre interne	10	10	10	10	10	500	C	25cmx4,6mm	5	1	1	5
	Porosité	5	5	5	5	5	250	C	100 Å	3	1	3	9
	Conditionnement	10	10	10	1	10	410	C	Contrôlé	5	2	1	10
	Age/Nombre d'injections	10	10	1	1	10	320	N	Nouvelle colonne	3	1	1	3
	Lot	1	1	1	1	1	50	N	Evaluer plusieurs lots	1	1	1	1
Four	Température de la colonne	5	5	10	5	5	300	X	DoE	3	1	1	3
Phase mobile	Précision du pH de la solution tampon	10	10	10	5	5	400	X	DoE	5	2	3	30
	Proportion du méthanol	10	10	10	10	10	500	X	DoE	5	2	3	30
	Grade des solvants	1	5	1	1	1	90	C	Grade HPLC	1	1	4	4
	Filtration	1	5	1	1	1	90	C	Contrôlé	2	1	4	8
	Sonication et dégazage	5	5	5	1	5	210	C	Contrôlé	3	2	3	18
Détecteur	Longueur d'onde	1	10	5	10	1	270	C	Contrôlé	4	2	1	8

¹N : Nombre de plateaux théoriques, ²Rs: Résolution, ³Tr: Temps de rétention, ⁴K': Facteur de rétention, ⁵ft : Facteur de trainée

C : Controlled, N : Noise, X : Experimental

Score : 1- Risque négligeable, 5- Risque faible (impact potentiel), 10- Risque élevé (impact prouvé)

Score total = (niveau de risque de la CQA₁ × 10) + (niveau de risque de la CQA₂ × 10) + ... + (niveau de risque de la CQA_n × 10)

⁶RPN = Gravité(G) × Occurrence(O) × Détectabilité(D)

Chapitre II : Résultats

Tableau 68 : Analyse C-N-X combinée à l'approche FMECA pour la méthode RP-UHPLC (Dosage des impuretés)

Paramètre parent	Nom du paramètre	CQAs				Score final	C,N,X	Stratégie expérimentale	G	O	D	RPN ⁶
		N ¹	Rs ²	TRR ³	% ⁴							
Solutions standards, de résolution et échantillons	Qualité des standards	1	1	1	1	40	C	Working standards	5	1	1	5
	Exactitude de la pesée et la dilution	1	5	1	5	120	N	Respecter strictement le protocole	5	2	1	10
	Sonication	1	5	1	5	120	C	Contrôlé	5	2	1	10
	Filtration	1	1	1	1	40	C	Contrôlé	5	4	3	60
	Chauffage et durée du chauffage de la solution de résolution	1	10	1	10	220	C	Contrôlé	5	2	2	20
	Durée et température de conservation	5	5	1	10	210	C	Contrôlé	5	2	1	10
Auto injecteur	Volume d'injection	1	1	1	1	40	C	Contrôlé	5	1	1	5
	Température	1	1	1	5	80	C	Contrôlé	5	1	4	20
Pompe	Débit	10	10	10	10	400	X	DoE	5	2	1	10
	Gradient d'éluion	10	10	10	10	400	C	Contrôlé	5	1	2	10
	Pression	10	10	10	10	400	N	Contrôler la pression	5	3	1	15
Colonne	Type de phase stationnaire	10	10	10	10	400	C	C18	5	1	1	5
	Taille des particules	5	5	5	5	200	C	2,5µm	2	1	1	2
	Longueur et diamètre interne	10	10	10	10	400	C	100mm x 2,1mm	5	1	1	5
	Porosité	5	5	5	5	200	C	100 Å	3	1	3	9
	Conditionnement	10	10	10	10	400	C	Contrôlé	5	2	1	10
	Age/Nombre d'injections	10	10	1	5	260	N	Nouvelle colonne	3	1	1	3
	Lot	1	1	1	1	40	N	Evaluer plusieurs lots	1	1	1	1
Four	Température de la colonne	5	5	10	5	250	X	DoE	3	1	1	3
Phase mobile	Précision du pH de la solution tampon	10	10	10	5	350	X	DoE	5	2	3	30
	Grade des solvants	1	1	1	1	40	C	Grade HPLC	1	1	4	4
	Qualité de l'eau	1	1	1	1	40	C	Eau ultrapure	1	1	4	4
	Filtration	1	1	1	1	40	C	Contrôlé	2	1	4	8
	Sonication et dégazage	5	5	5	5	200	C	Contrôlé	3	2	3	18
	Durée de conservation	5	5	5	5	200	N	Conservation 3 jours	3	2	2	12
Détecteur	Longueur d'onde	1	1	1	10	130	C	Contrôlé	4	2	1	8

¹N : Nombre de plateaux théoriques, ²Rs : Résolution, ³TRR : Temps de rétention relatifs, ⁴% : Pourcentage des impuretés.

C : Controlled, N : Noise, X : Experimental

Score : 1- Risque négligeable, 5- Risque faible (impact potentiel), 10- Risque élevé (impact prouvé)

Score total = (niveau de risque de la CQA₁ × 10) + (niveau de risque de la CQA₂ × 10) + ... + (niveau de risque de la CQA_n × 10)

⁶: RPN = Gravité(G) × Occurrence(O) × Détectabilité(D)

Chapitre II : Résultats

2-4 : Conception d'expériences et développement d'un MODR

La matrice et les résultats du plan de criblage définitif pour la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur) sont regroupés dans le Tableau 69. Les chromatogrammes correspondants aux réponses sont représentés en annexes.

Tableau 69 : Plan de criblage définitif et résultats expérimentaux pour la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)

N° Essai	Débit	T°	pH	% du méthanol	N Amox ¹	N Clav ²	Rs ³	Tr Amox ⁴	Tr Clav ⁵	K' Amox ⁶	K' Clav ⁷	ft Amox ⁸	ft Clav ⁹
1	- 1	1	0	1	7428	6623	9,0	4,98	3,23	1,766	0,793	1,2	1,5
2	0	1	1	1	5973	5368	9,0	3,90	2,40	1,363	0,458	1,1	1,3
3	1	-1	0	-1	2785	3900	9,2	5,97	3,01	4,395	1,725	0,8	1,0
4	-1	0	1	-1	8628	8995	15,9	9,50	4,68	4,213	1,570	0,9	1,2
5	0	0	0	0	5950	5915	10,5	5,07	2,90	2,781	1,164	0,9	1,2
6	0	-1	-1	-1	5565	5811	18,8	13,1	4,35	8,624	2,193	0,9	1,1
7	1	1	1	-1	6171	5627	13,0	5,44	2,70	3,031	1,001	0,9	1,2
8	-1	1	-1	-1	8718	6926	20,9	12,98	4,76	6,147	1,623	1,0	1,1
9	-1	-1	-1	1	5380	5462	14,6	8,62	3,72	3,776	1,062	0,9	1,1
10	1	0	-1	1	3461	3318	10,9	4,68	2,14	3,309	0,972	0,9	1,1
11	1	-1	1	1	2422	2850	6,4	3,51	2,09	2,220	0,920	0,9	1,0
12	1	1	-1	0	5721	4733	14,7	5,81	2,49	4,403	1,317	0,9	1,1
13	-1	-1	1	0	4992	6001	10,8	7,49	4,06	3,112	1,229	0,8	0,9
+1	2,5 mL/min	30°C	5,4	7%									
0	2,0 mL/min	25°C	4,4	5%									
-1	1,5 mL/min	20°C	3,4	3%									

¹ N Amox : Nombre de plateaux théoriques de l'Amoxicilline

² N Clav : Nombre de plateaux théoriques de l'Acide Clavulanique

³ Rs : Résolution entre le pic de l'Amoxicilline et le pic de l'Acide Clavulanique

⁴ Tr Amox : Temps de rétention de l'Amoxicilline

⁵ Tr Clav : Temps de rétention de l'Acide Clavulanique

⁶ K' Amox : Facteur de rétention de l'Amoxicilline

⁷ K' Clav : Facteur de rétention de l'Acide Clavulanique

⁸ ft Amox : Facteur de trainée de l'Amoxicilline

⁹ ft Clav : Facteur de trainée de l'Acide Clavulanique

Chapitre II : Résultats

2-4-1 : Analyse des résultats du plan de criblage définitif pour la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)

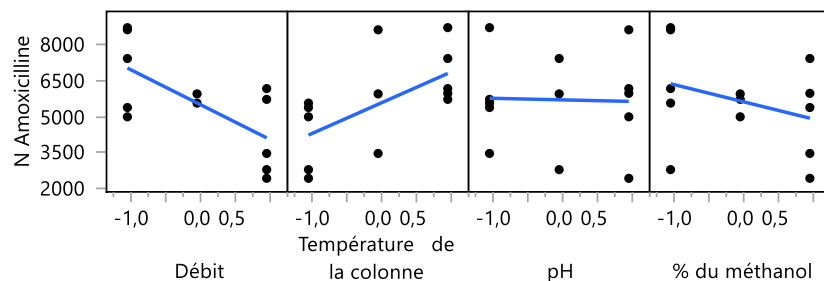
Les résultats analysés par le logiciel JMP Pro 16.2.0 sont regroupés comme suit :

➤ Ajuster le criblage définitif pour N amoxicilline

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	5630,3	248,23	22,682	<,0001*
Débit	-1459	283,02	-5,154	0,0004*
Température de la colonne	1286,7	283,02	4,5463	0,0011*
Statistique	Valeur			
RMSE	894,99			
Degrés de liberté	10			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

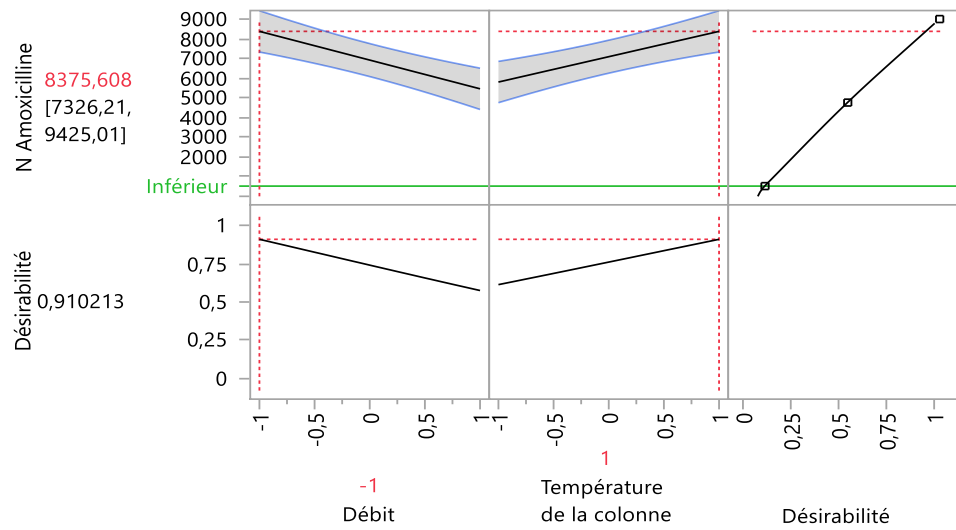
Source	LogWorth		P-value
Débit	3,367		0,00043
Température de la colonne	2,973		0,00106

Analyse de la variance

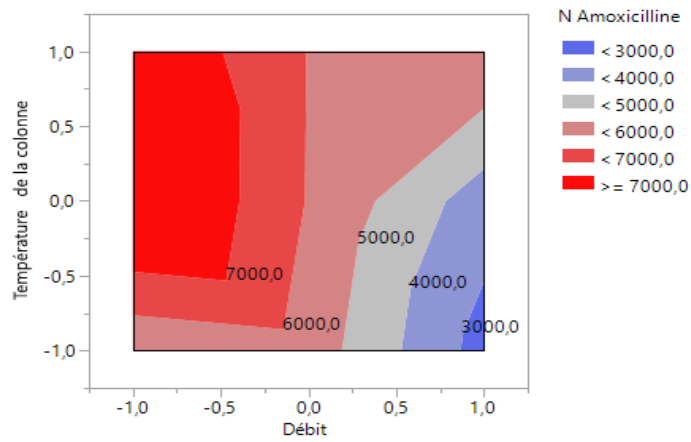
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	2	37831109	18915554	23,6147
Erreur	10	8010072	801007,23	Prob. > F
Total corrigé	12	45841181		0,0002*

Chapitre II : Résultats

Profileur de prévision



Graphique d'isorréponses



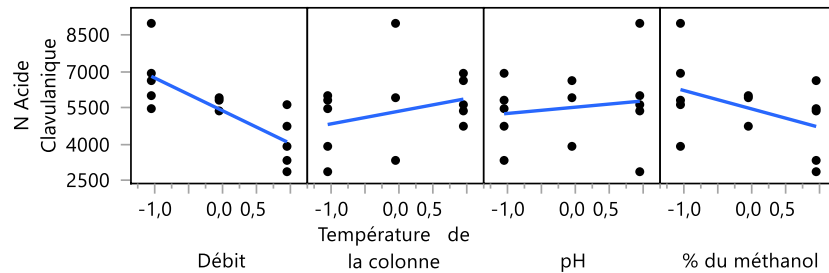
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour N acide clavulanique

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	5502,2	227,42	24,194	<,0001*
Débit	-1358	259,3	-5,237	0,0004*
% du méthanol	-763,8	259,3	-2,946	0,0146*
Statistique	Valeur			
RMSE	819,98			
Degrés de liberté	10			

Graphique des effets principaux



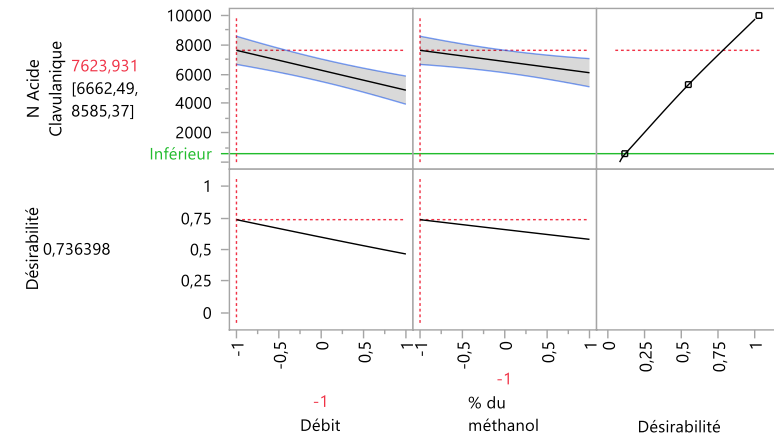
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Débit	3,420		0,00038
% du méthanol	1,834		0,01464

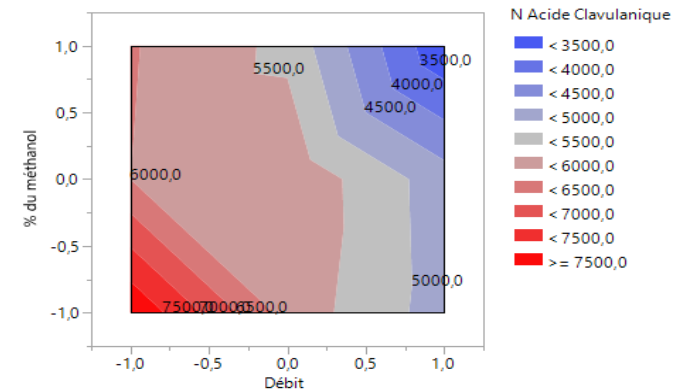
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	2	24272829	12136414	18,0505
Erreur	10	6723594	672359,38	Prob. > F
Total corrigé	12	30996422		0,0005*

Profileur de prévision



Graphique d'isoréponses



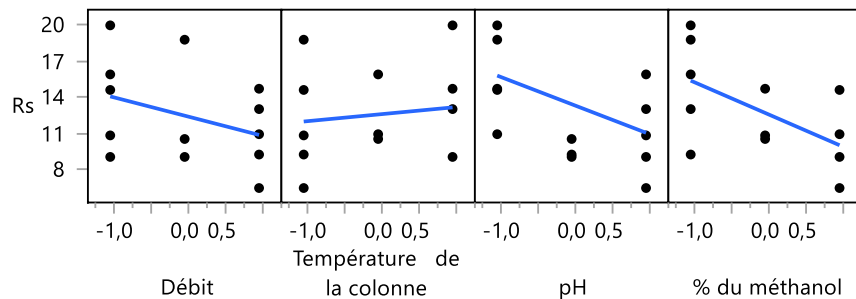
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour Rs

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	9,5667	0,6128	15,61	<,0001*
Débit	-1,61	0,3357	-4,796	0,0014*
pH	-2,39	0,3357	-7,12	<,0001*
% du méthanol	-2,7	0,3357	-8,044	<,0001*
pH*pH	3,8433	0,6987	5,5004	0,0006*
Statistique	Valeur			
RMSE	1,0615			
Degrés de liberté	8			

Graphique des effets principaux



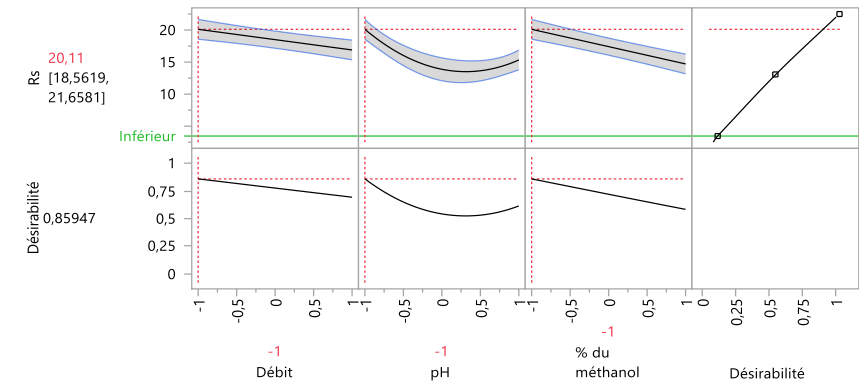
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
% du méthanol	4,377		0,00004
pH	4,000		0,00010
pH*pH	3,241		0,00057
Débit	2,866		0,00136

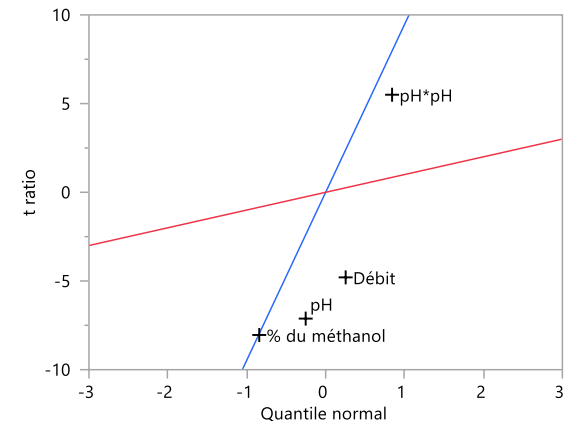
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	4	190,02941	47,5074	42,1647
Erreur	8	9,01367	1,1267	Prob. > F
Total corrigé	12	199,04308		<,0001*

Profileur de prévision

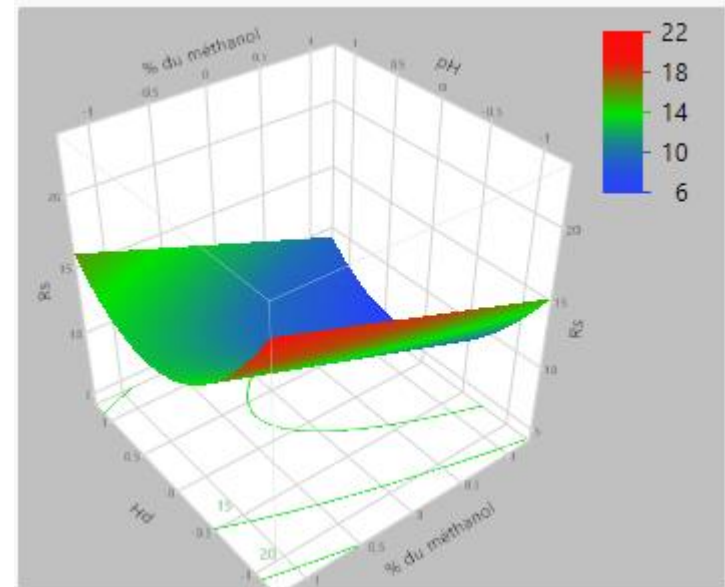
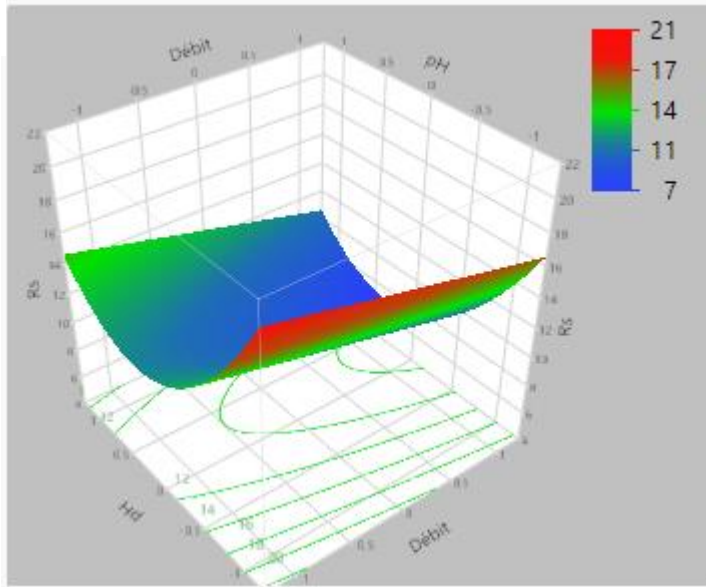


Droite de Henry



Chapitre II : Résultats

Profileurs de surface



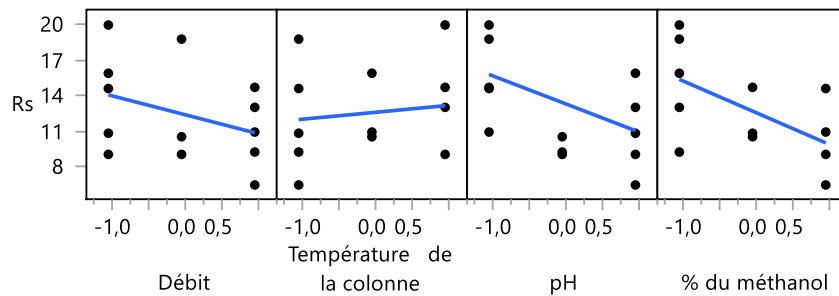
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour Tr amoxicilline

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	4,7588	0,323	14,735	<,0001*
Débit	-1,816	0,1404	-12,94	<,0001*
Température de la colonne	-0,558	0,1404	-3,976	0,0106*
pH	-1,535	0,1404	-10,94	0,0001*
% du méthanol	-2,13	0,1404	-15,18	<,0001*
pH*% du méthanol	0,6563	0,1569	4,1819	0,0086*
pH*pH	2,0468	0,2948	6,9426	0,0010*
% du méthanol*% du méthanol	0,8718	0,2948	2,957	0,0316*
Statistique	Valeur			
RMSE	0,4439			
Degrés de liberté	5			

Graphique des effets principaux



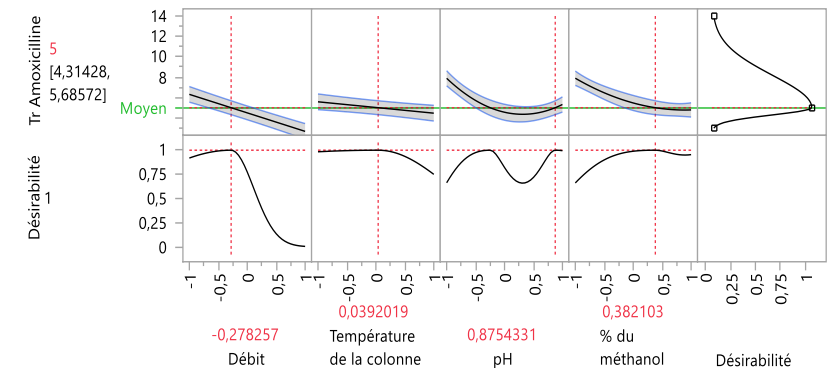
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
% du méthanol	4,647		0,00002
Débit	4,308		0,00005
pH	3,954		0,00011
pH*pH	3,021		0,00095
pH*% du méthanol	2,064		0,00864
Température de la colonne	1,976		0,01058
% du méthanol*% du méthanol	1,500		0,03163

Analyse de la variance

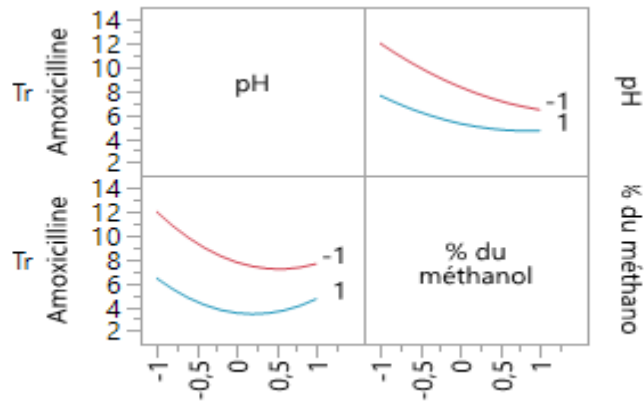
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	7	120,98807	17,2840	87,7325
Erreur	5	0,98504	0,1970	Prob. > F
Total corrigé	12	121,97311		<,0001*

Profileur de prévision

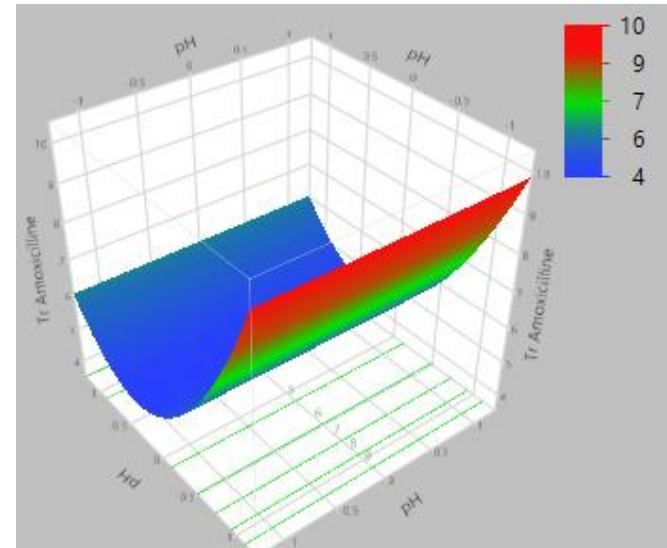


Chapitre II : Résultats

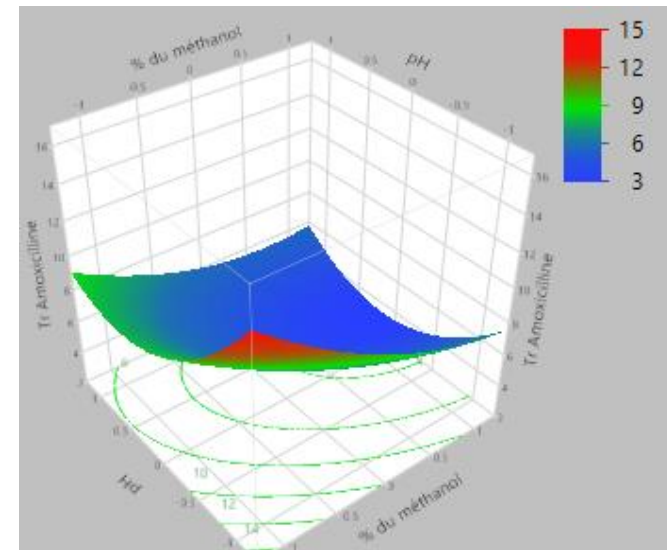
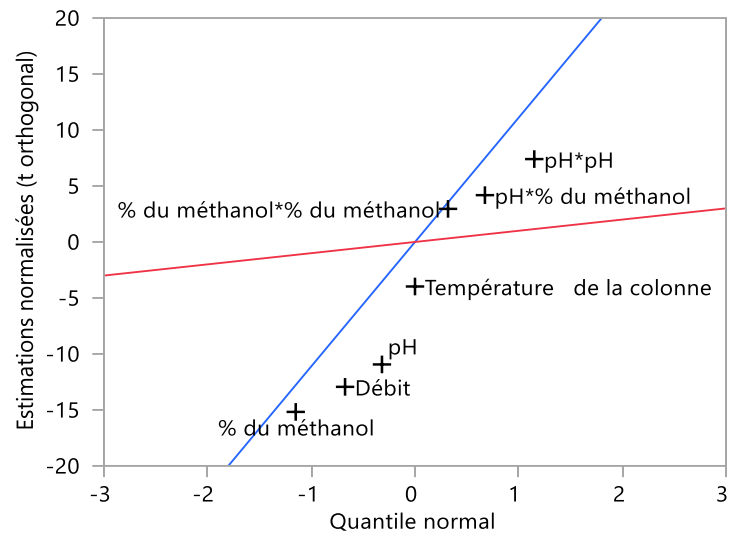
Profils d'interaction



Profileurs de surface



Droite de Henry



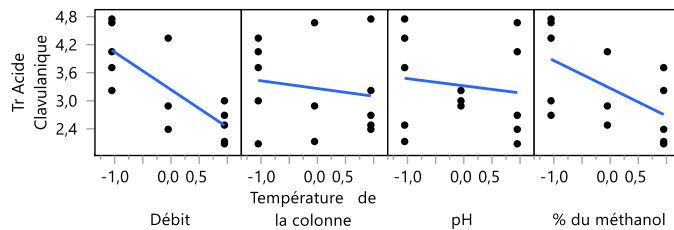
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour Tr acide clavulanique

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	3,2715	0,0558	58,636	<,0001*
Débit	-0,802	0,0636	-12,61	<,0001*
Température de la colonne	-0,165	0,0636	-2,594	0,0319*
pH	-0,153	0,0636	-2,405	0,0428*
% du méthanol	-0,592	0,0636	-9,306	<,0001*
Statistique	Valeur			
RMSE	0,2012			
Degrés de liberté	8			

Graphique des effets principaux



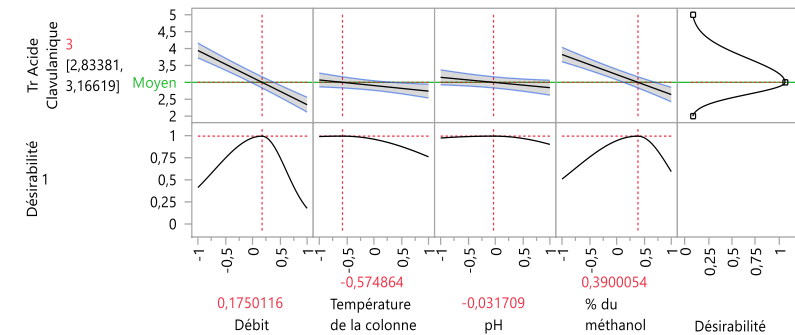
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Débit	5,833		0,00000
% du méthanol	4,839		0,00001
Température de la colonne	1,496		0,03193
pH	1,368		0,04283

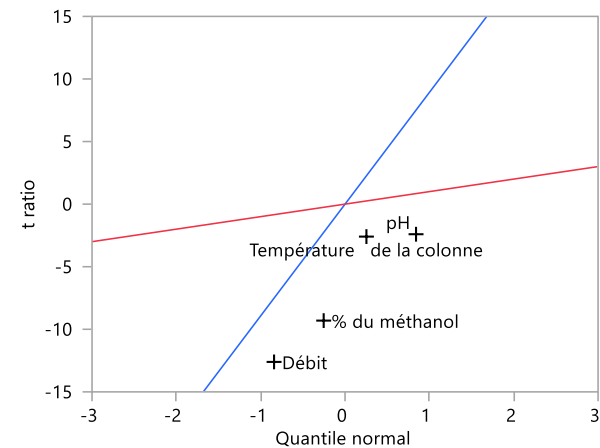
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	4	10,443020	2,61076	64,5130
Erreur	8	0,323749	0,04047	Prob. > F
Total corrigé	12	10,766769		<,0001*

Profilur de prévision

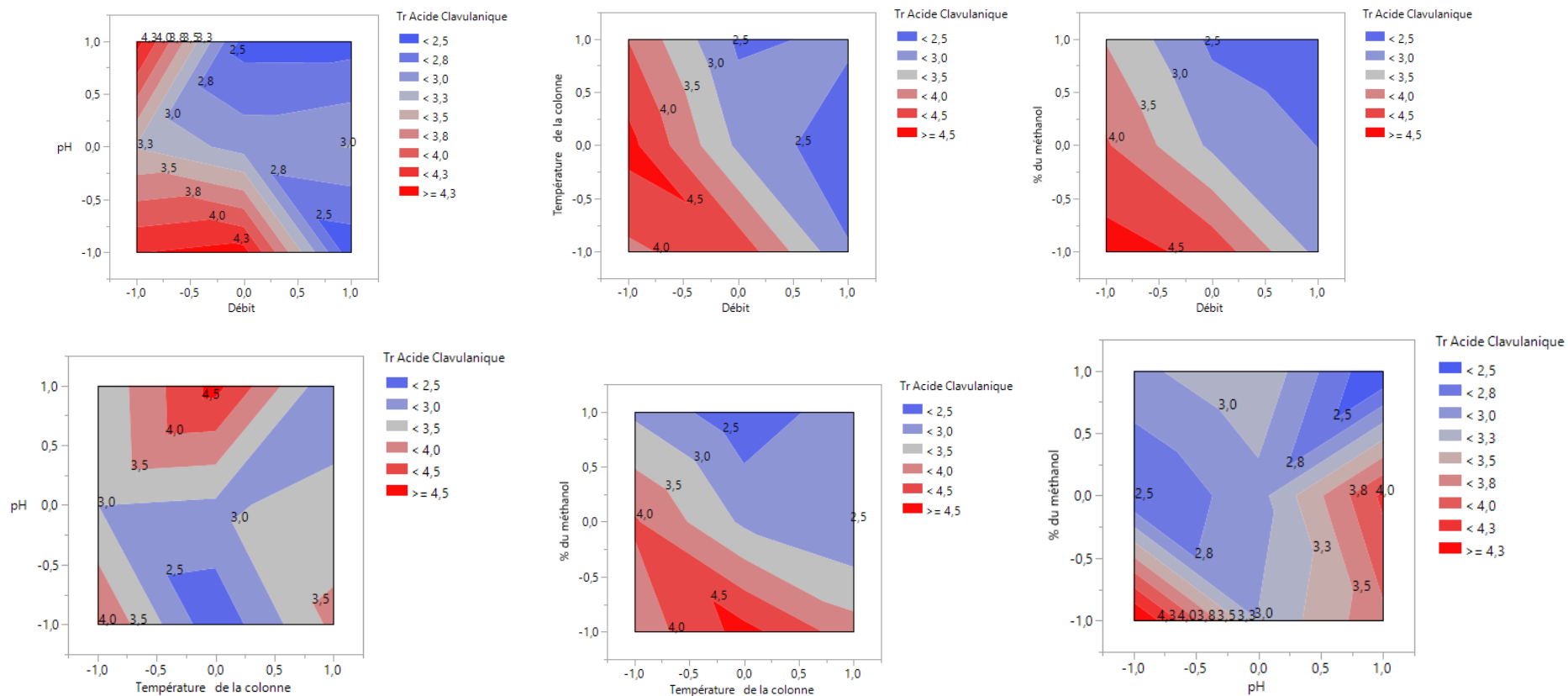


Droite de Henry



Chapitre II : Résultats

Graphiques d'isoréponses



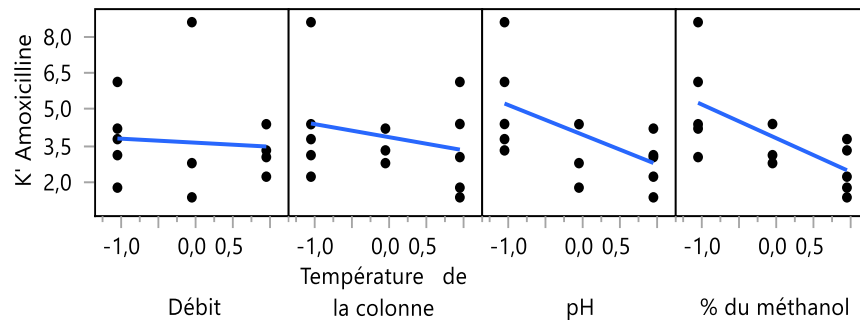
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour K' amoxicilline

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	3,78	0,2755	13,719	<,0001*
pH	-1,232	0,3141	-3,922	0,0029*
% du méthanol	-1,398	0,3141	-4,449	0,0012*
Statistique	Valeur			
RMSE	0,9934			
Degrés de liberté	10			

Graphique des effets principaux



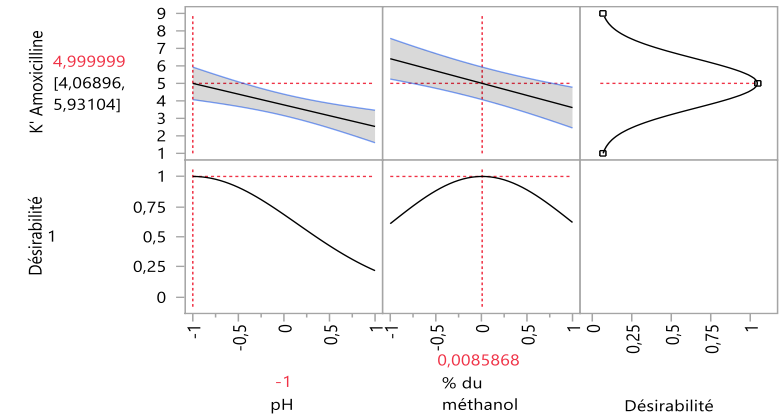
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
% du méthanol	2,908		0,00124
pH	2,544		0,00286

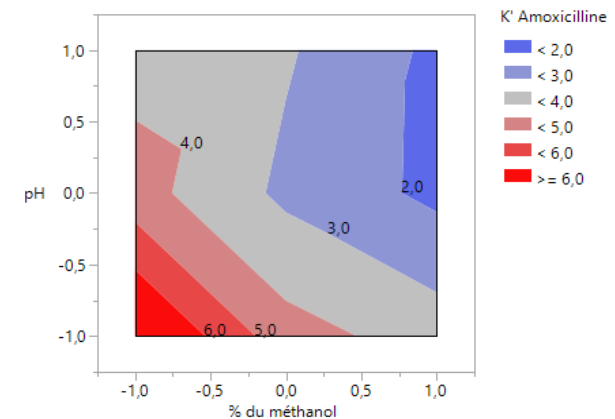
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	2	34,711098	17,3555	17,5867
Erreur	10	9,868538	0,9869	Prob. > F
Total corrigé	12	44,579636		0,0005*

Profileur de prévision



Graphique d'isorréponses



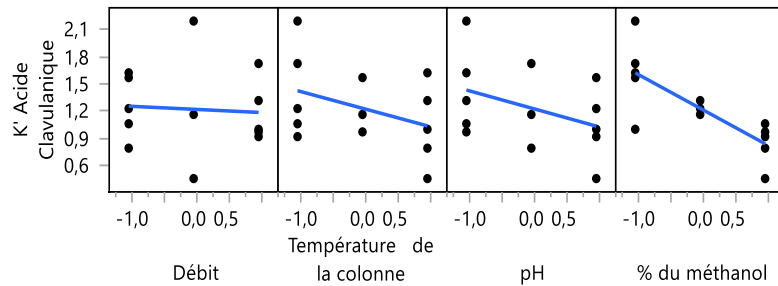
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour K' acide clavulanique

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	1,2328	0,04	30,815	<,0001*
Température de la colonne	-0,194	0,0456	-4,246	0,0022*
pH	-0,199	0,0456	-4,36	0,0018*
% du méthanol	-0,391	0,0456	-8,565	<,0001*
Statistique		Valeur		
RMSE	0,1442			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



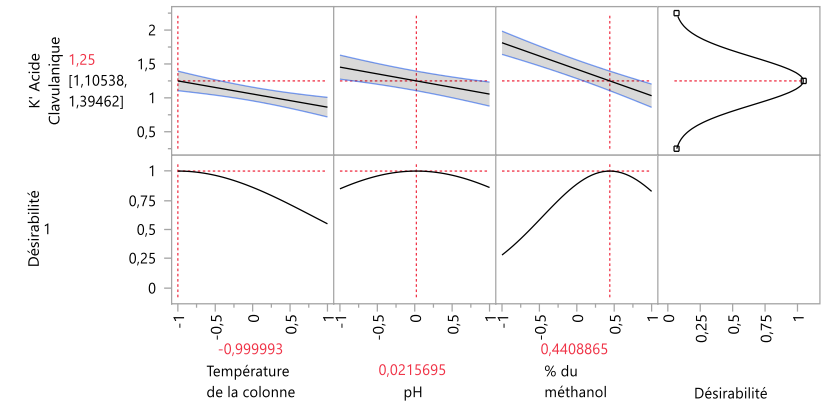
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
% du méthanol	4,893		0,00001
pH	2,739		0,00182
Température de la colonne	2,667		0,00215

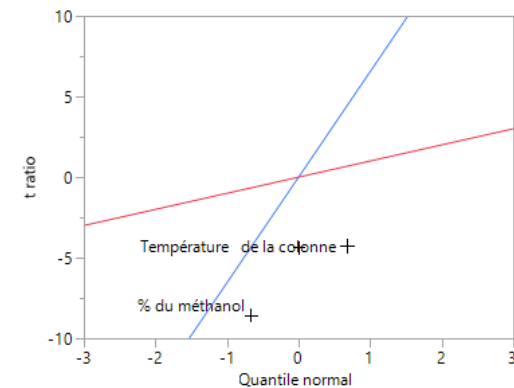
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	2,2972739	0,765758	36,8012
Erreur	9	0,1872718	0,020808	Prob. > F
Total corrigé	12	2,4845457		<,0001*

Profileur de prévision

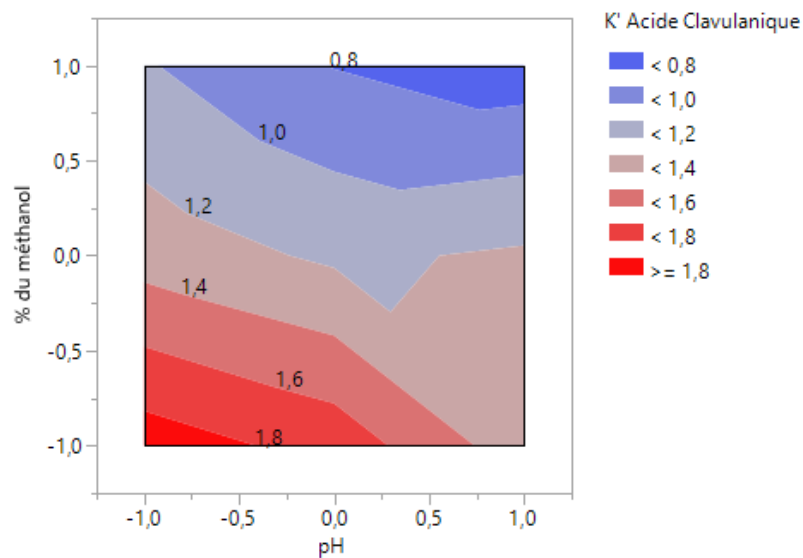
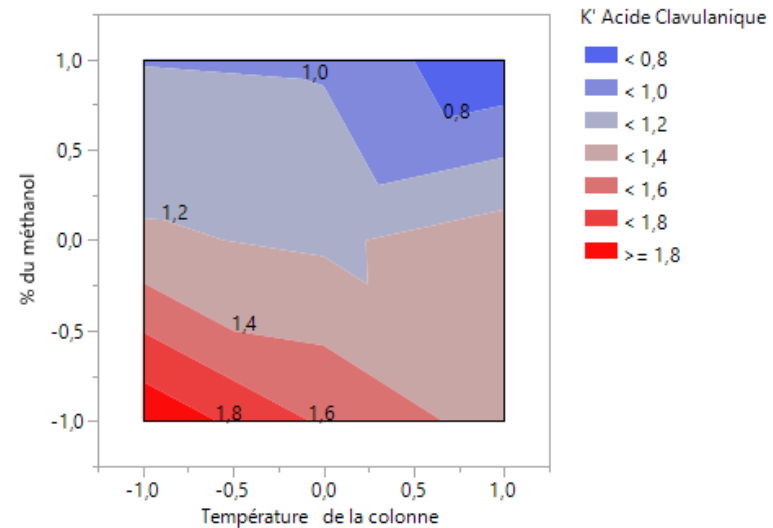
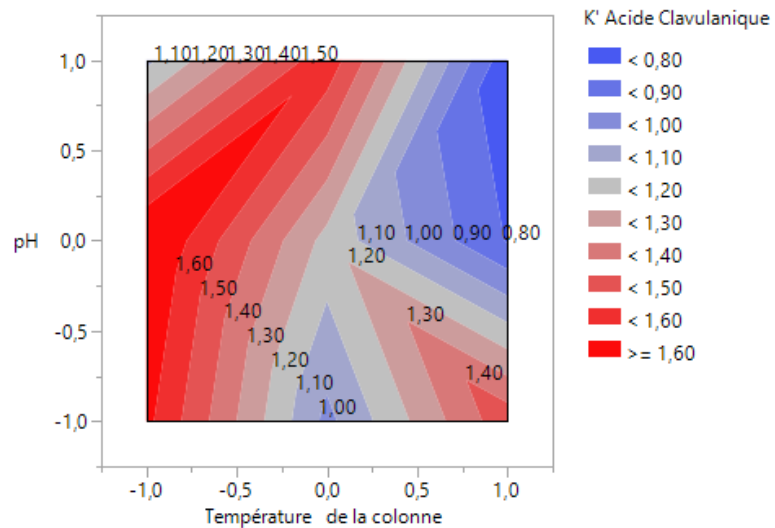


Droite de Henry



Chapitre II : Résultats

Graphiques d'isoréponses



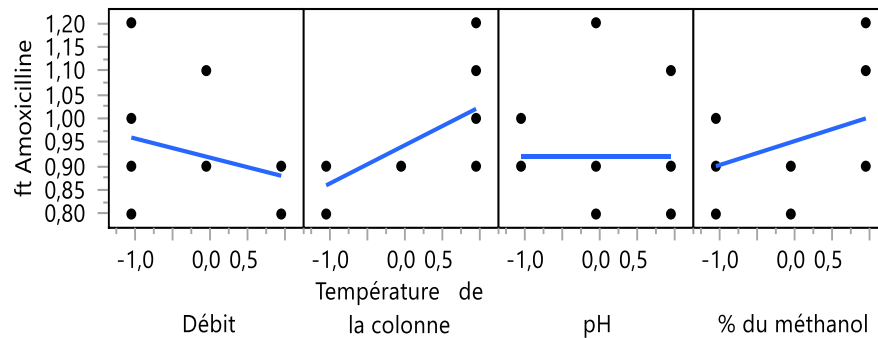
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour ft amoxicilline

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,9308	0,0212	43,805	<,0001*
Température de la colonne	0,08	0,0242	3,3022	0,0080*
% du méthanol	0,05	0,0242	2,0639	0,0660
Statistique	Valeur			
RMSE	0,0766			
Degrés de liberté	10			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Température de la colonne	2,098		0,00798
% du méthanol	1,181		0,06596

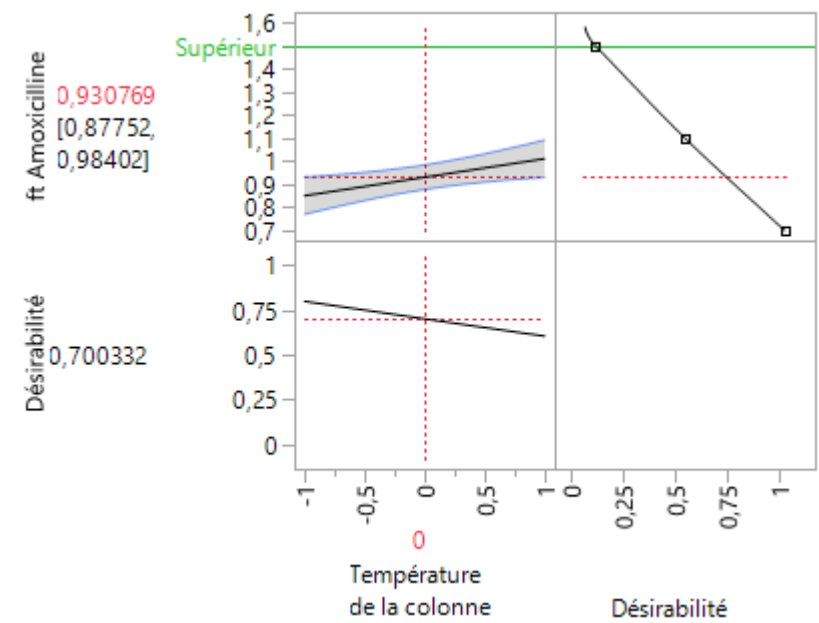
Réduction du modèle

Source	LogWorth		P-value
Température de la colonne	1,841		0,01444

Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	1	0,06400000	0,064000	8,4118
Erreur	11	0,08369231	0,007608	Prob. > F
Total corrigé	12	0,14769231		0,0144*

Profileur de prévision



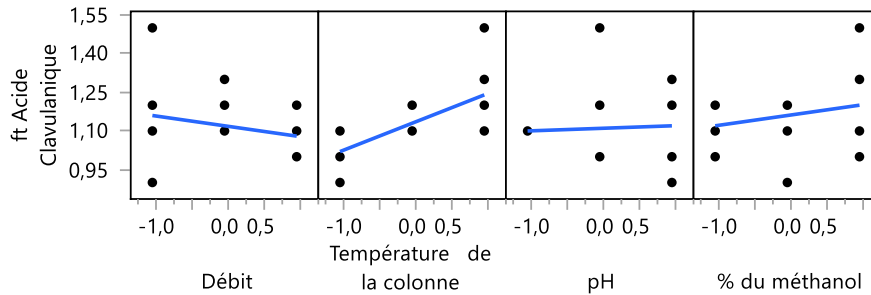
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour ft Acide clavulanique

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	1,1385	0,0324	35,178	<,0001*
Température de la colonne	0,11	0,0369	2,9811	0,0125*
Statistique	Valeur			
RMSE	0,1167			
Degrés de liberté	11			

Graphique des effets principaux



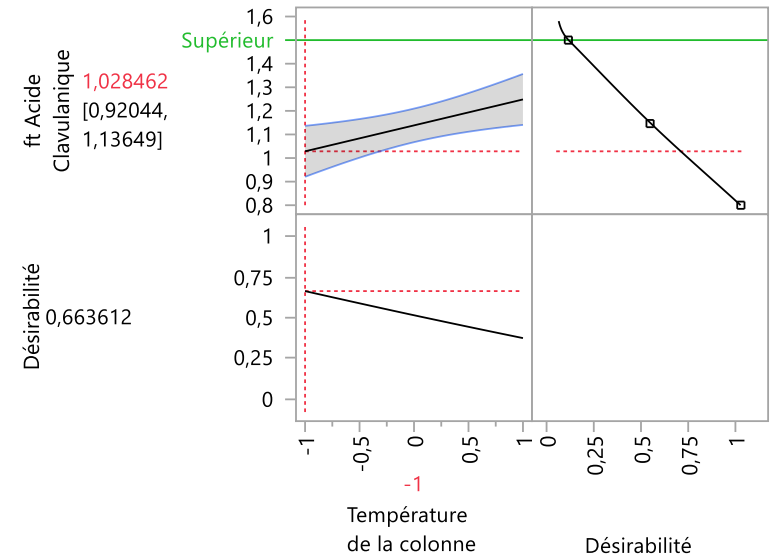
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Température de la colonne	1,903		0,01249

Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	1	0,12100000	0,121000	8,8870
Erreur	11	0,14976923	0,013615	Prob. > F
Total corrigé	12	0,27076923		0,0125*

Profil de prévision



Chapitre II : Résultats

2-4-2 : Etablissement du MODR

L'analyse et le regroupement des résultats ont abouti à création d'un MODR (Figure 61) illustré sous forme d'une région (Zone blanche) qui respecte les différentes conditions simultanément.

➤ Profileur d'isoréponses

Facteur	X
Débit	-0,621951
Température de la colonne	-0,04878
pH	-0,609756
% du méthanol	-0,75

	Réponse	Isoréponses	Y calculé	Lim. inf.	Lim. sup.
—	Tr Amoxicilline	8,5	9,5465172	5	11
—	N Amoxicilline	4500	6638,8172	4000	8000
—	N Acide Clavulanique	5000	6329,8618	4000	8000
—	Rs	12,5	15,096383	9	17
—	Tr Acide Clavulanique	3,5	4,0074345	3	5
—	K' Amoxicilline	5	5,3965205	2	6
—	K' Acide Clavulanique	1,25	1,6865497	1,6	6
—	ft Amoxicilline	1,15	0,9332405	0,9	1,2
—	ft Acide Clavulanique	1,2	1,1476882	1	1,2

Chapitre II : Résultats

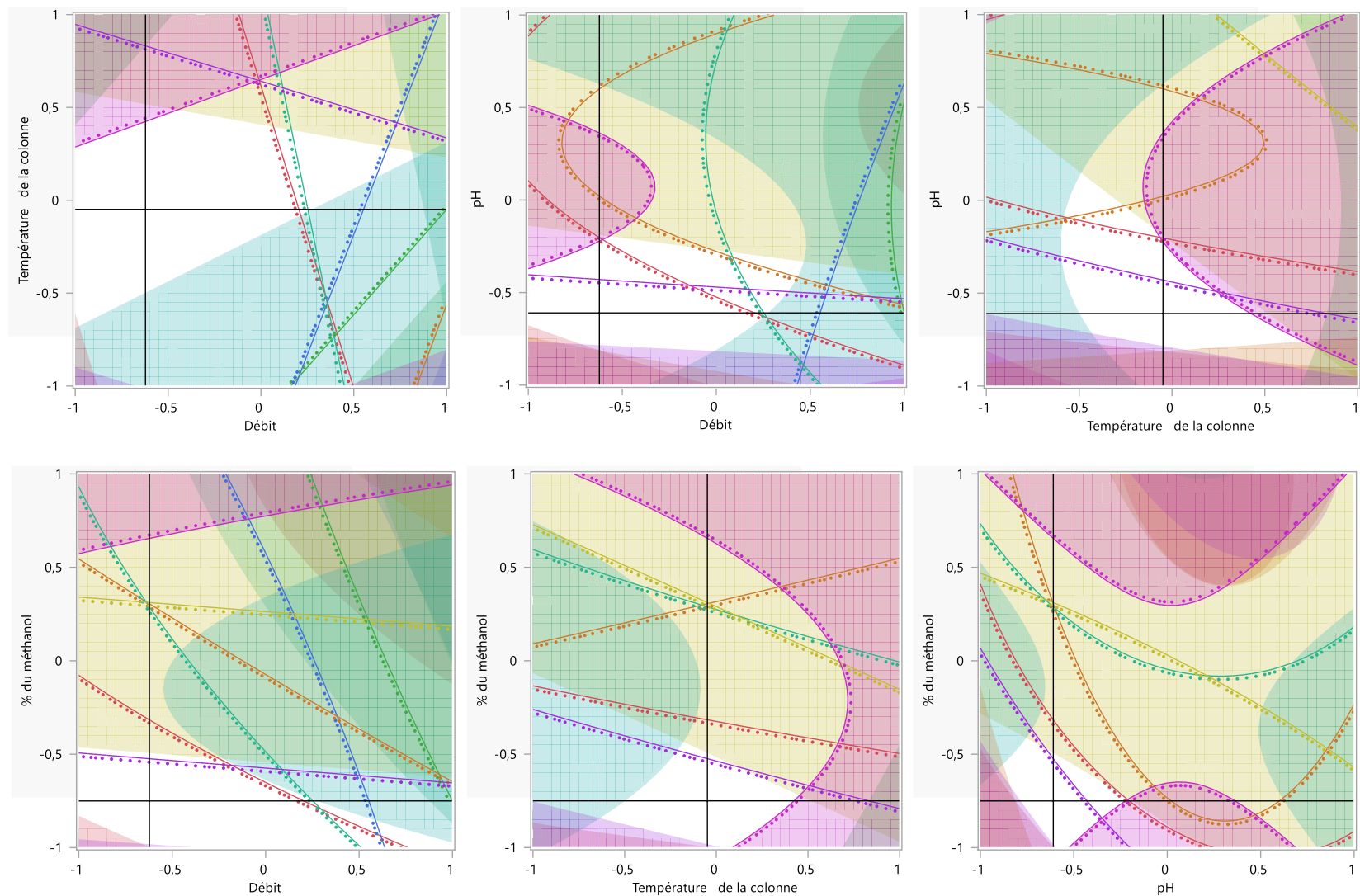


Figure 61 : MODR pour la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)

Chapitre II : Résultats

La matrice et les résultats du plan de criblage définitif pour la méthode RP-UHPLC (Solutions de résolution) sont regroupés dans le Tableau 70.

Les chromatogrammes correspondants aux réponses sont représentés en annexes.

Tableau 70 : Plan de criblage définitif et résultats expérimentaux pour la méthode RP-UHPLC (Solutions de résolution)

N° Essai	Débit	T° de la colonne	pH	Chauffage	Durée du chauffage	Rs D1 et Ac Clavulanique ¹	Rs D2 et Ac Clavulanique ²
1	-1	-1	-1	1	0	2,5	5,0
2	0	-1	-1	-1	-1	2,0	4,2
3	1	1	-1	0	-1	0	1,9
4	-1	-1	1	0	1	0	1,7
5	1	-1	1	1	-1	1,2	3,4
6	0	0	0	0	0	1,5	2,8
7	-1	1	0	1	-1	2,1	7,3
8	-1	1	-1	-1	1	0	1,4
9	1	1	1	-1	0	0	4,6
10	0	1	1	1	1	1,4	6,2
11	1	-1	0	-1	1	2,4	1,7
12	-1	0	1	-1	-1	0	0
13	1	0	-1	1	1	1,6	4,1
+1	0,1 mL/min	20°C	4,6	50°C	30'		
0	0,3 mL/min	25°C	5,6	60°C	1h		
-1	0,5 mL/min	30°C	6,6	70°C	1h30'		

¹Rs D1 et Ac Clavulanique : Résolution entre le pic de l'impureté D1 et le pic de l'Acide Clavulanique

²Rs D2 et Ac Clavulanique : Résolution entre le pic de l'impureté D2 et le pic de l'Acide Clavulanique

Chapitre II : Résultats

2-4-3 : Analyse des résultats du plan de criblage définitif pour la méthode RP-UHPLC (Solutions de résolution)

Les résultats analysés par le logiciel JMP Pro 16.2.0 sont regroupés comme suit :

➤ Ajuster le criblage définitif pour Rs D1 et acide clavulanique

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	1,561	0,1257	12,418	0,0002*
Température de la colonne	-0,46	0,0466	-9,879	0,0006*
pH	-0,35	0,0466	-7,517	0,0017*
Chauffage	0,44	0,0466	9,4493	0,0007*
Température de la colonne*pH	0,4619	0,0669	6,9013	0,0023*
Température de la colonne*Chauffage	0,0881	0,0669	1,3169	0,2582
pH*Chauffage	0,1559	0,0591	2,6391	0,0576
pH*pH	-1,13	0,1129	-10,01	0,0006*
Chauffage*Chauffage	0,5703	0,1129	5,0515	0,0072*
Statistique	Valeur			
RMSE	1,1472			
Degrés de liberté	4			

Résumé des effets

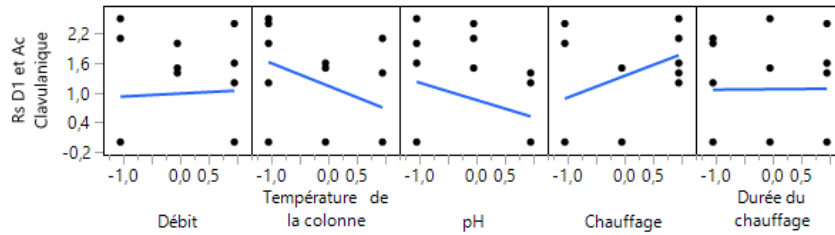
Source	LogWorth		P-value
pH*pH	3,251		0,00056
Température de la colonne	3,230		0,00059
Chauffage	3,155		0,00070
pH	2,775		0,00168
Température de la colonne*pH	2,636		0,00231
Chauffage*Chauffage	2,141		0,00722
pH*Chauffage	1,239		0,05764
Température de la colonne*Chauffage	0,588		0,25824

Réduction du modèle

Source	LogWorth		P-value
pH*pH	3,445		0,00036
Température de la colonne	2,929		0,00118
Chauffage	2,829		0,00148
pH	2,337		0,00460
Température de la colonne*pH	2,307		0,00493
Chauffage*Chauffage	1,720		0,01906

Chapitre II : Résultats

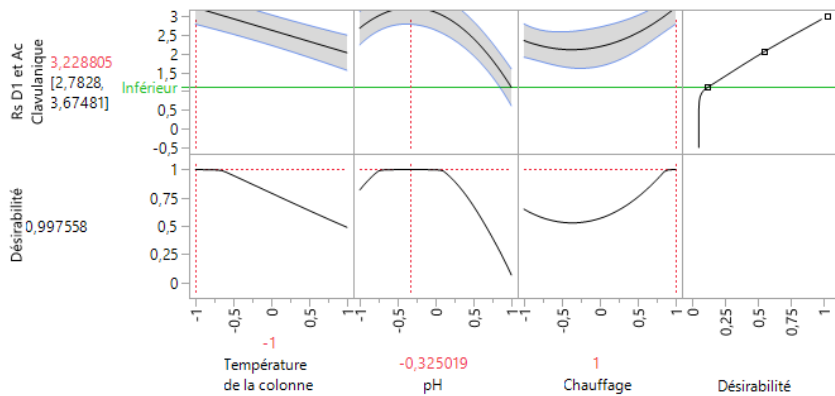
Graphique des effets principaux



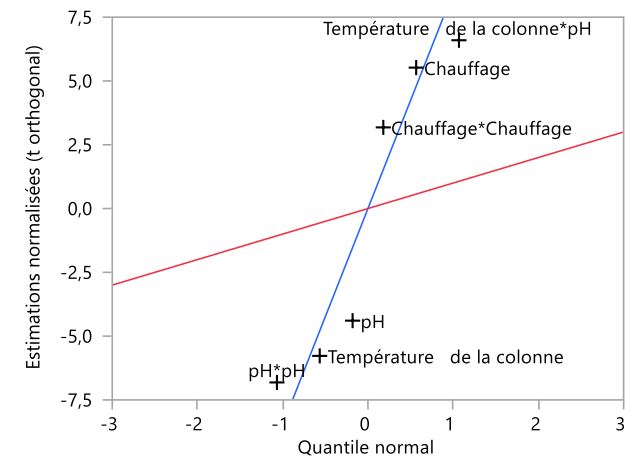
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	6	11,626956	1,93783	30,5381
Erreur	6	0,380736	0,06346	Prob. > F
Total corrigé	12	12,007692		0,0003*

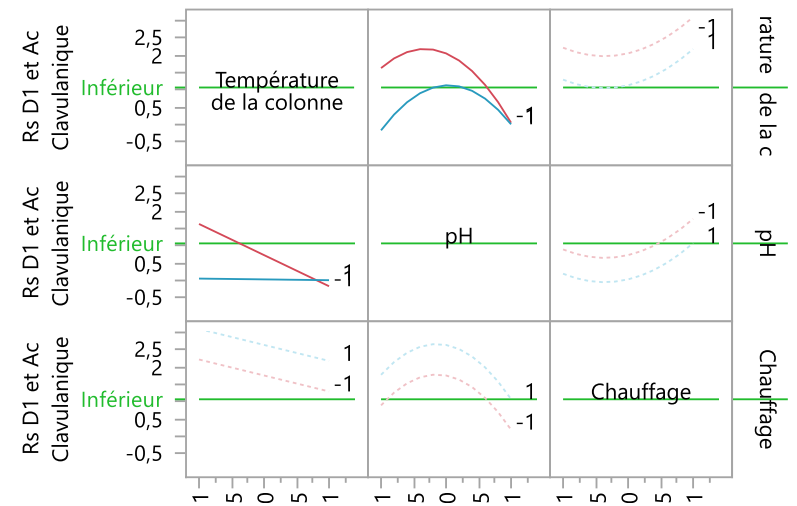
Profil de prévision



Droite de Henry

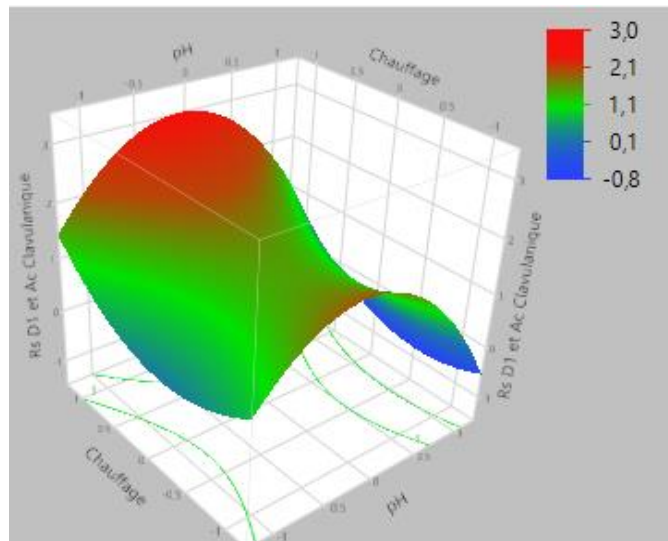
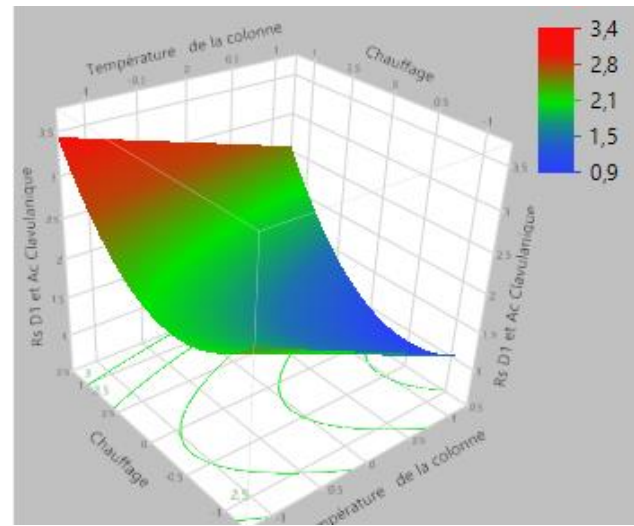
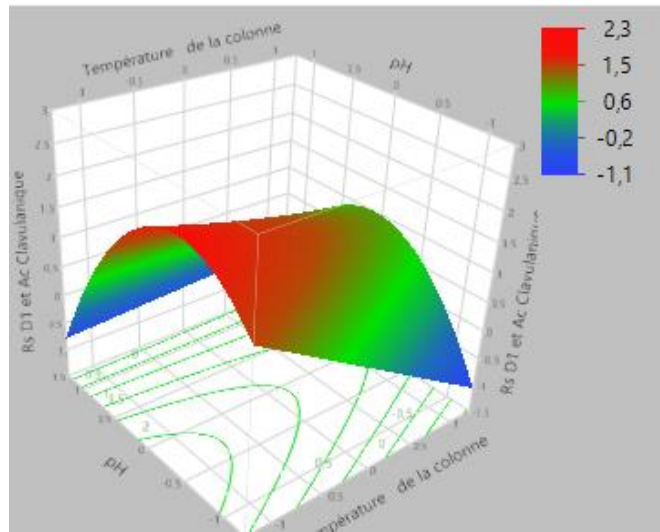


Profils d'interaction



Chapitre II : Résultats

Profils de surface



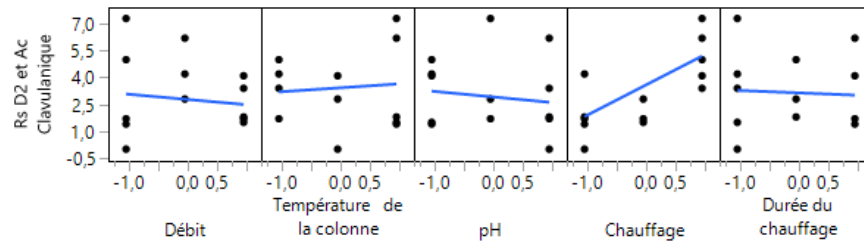
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour Rs D2 et acide clavulanique

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	2	0,8175	2,4466	0,0345*
Chauffage	1,69	0,4477	3,7744	0,0036*
Chauffage*Chauffage	1,51	0,9321	1,6201	0,1363
Statistique	Valeur			
RMSE	1,4159			
Degrés de liberté	10			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Chauffage	2,439		0,00364
Chauffage*Chauffage	0,866		0,13629

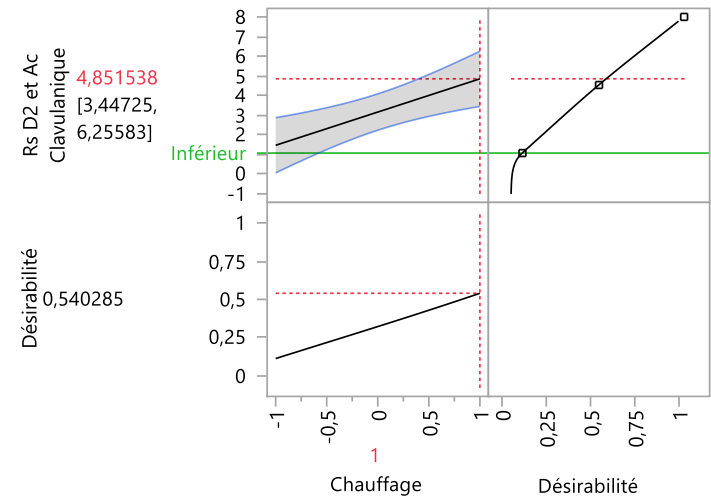
Réduction du modèle

Source	LogWorth		P-value
Chauffage	2,321		0,00477

Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	1	28,561000	28,5610	12,4130
Erreur	11	25,309769	2,3009	Prob. > F
Total corrigé	12	53,870769		0,0048*

Profilur de prévision



Chapitre II : Résultats

2-4-4 : Etablissement du MODR

➤ Profileur d'isoréponses

L'analyse et le regroupement des résultats ont abouti à création d'un design MODR (Figure 62) illustré sous forme d'une région (Zone blanche) qui respecte les différentes conditions simultanément.

Facteur	X
Température de la colonne	-0,408537
pH	-0,170732
Chauffage	0,1402439

	Réponse	Isoréponses	Y calculé	Lim. inf.	Lim. sup.
—	Rs D1 et Ac Clavulanique	1,25	1,8934065	1,5	2,5
—	Rs D2 et Ac Clavulanique	3,5	3,2172219	2,8	7,3

Chapitre II : Résultats

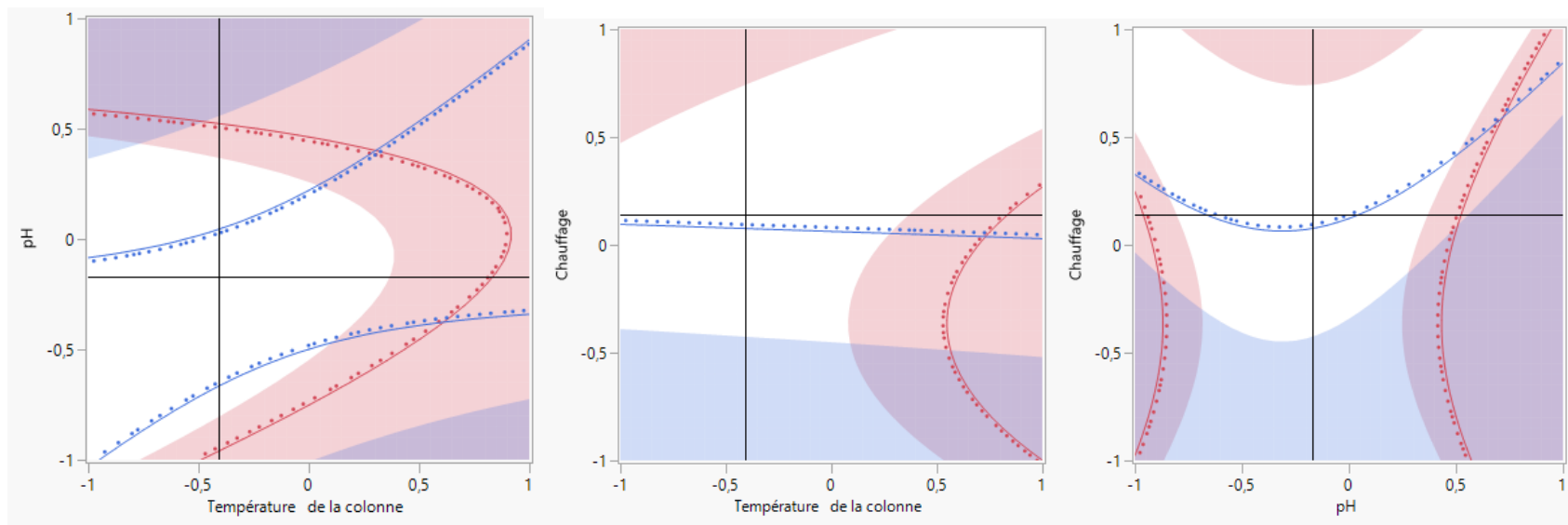


Figure 62 : MODR pour la méthode RP-UHPLC (Solutions de résolution)

Chapitre II : Résultats

La matrice et les résultats du plan de criblage définitif pour la méthode RP-UHPLC (Dosage des impuretés) sont regroupés dans le Tableau 71.

Les chromatogrammes correspondants aux réponses sont représentés en annexes.

Tableau 71 : Plan de criblage définitif et résultats expérimentaux pour la méthode RP-UHPLC (Dosage des impuretés)

N° Essai	Débit	T° de la colonne	pH	N Amox	N Clav	TRR HPG ¹	TRR D1 ²	TRR D2 ³	TRR E1 ⁴	TRR E2 ⁵	TRR C ⁶	TRR J ⁷
1	0	0	0	4867	2524	0,307	0,442	0,600	2,272	2,913	3,019	3,975
2	1	0	-1	3383	1968	0,279	0,497	0,818	0,000	2,959	3,089	0,000
3	1	-1	1	7483	2251	0,223	0,290	0,381	2,366	2,951	3,141	4,155
4	0	-1	-1	5737	3041	0,334	0,497	0,690	2,609	3,112	3,518	4,644
5	1	-1	0	6330059	1543672	0,000	0,444	0,607	3,664	4,455	4,615	5,172
6	1	1	1	6435282	1564966	0,266	0,496	0,000	2,287	3,021	3,169	4,089
7	1	1	-1	2134	1201	0,293	0,510	0,778	0,000	0,000	0,000	4,376
8	-1	1	-1	8633	5198	0,000	0,546	0,000	2,413	2,995	3,085	0,000
9	-1	-1	1	37377	6641	0,226	0,469	0,674	0,000	0,000	0,000	0,000
10	-1	0	1	19838	3516	0,221	0,447	0,652	0,000	0,000	0,000	0,000
11	-1	-1	-1	10184	5141	0,000	0,500	0,710	2,286	0,000	0,000	0,000
12	-1	1	0	9217	3838	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
13	0	1	1	6592	2107	0,278	0,000	0,000	2,403	2,907	0,000	0,000
+1	0,1 mL/min	20°C	4,6									
0	0,3 mL/min	25°C	5,6									
-1	0,5 mL/min	30°C	6,6									

Chapitre II : Résultats

(Suite)

N° Essai	Débit	T° de la colonne	pH	% HPG ⁸	% D1 ⁹	%D2 ¹⁰	%E1 ¹¹	%E2 ¹²	%C ¹³	% J ¹⁴	TRR IMP1 ¹⁵
1	0	0	0	0,003	0,123	0,182	0,032	0,011	0,079	0,152	0,000
2	1	0	-1	0,006	0,004	0,009	0,000	0,008	0,003	0,000	0,000
3	1	-1	1	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000
4	0	-1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000
5	1	-1	0	0,000	0,000	0,001	0,001	0,006	0,000	0,001	0,000
6	1	1	1	0,000	0,001	0,000	0,011	0,003	0,000	0,002	0,599
7	1	1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
8	-1	1	-1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000
9	-1	-1	1	0,002	0,016	0,020	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
10	-1	0	1	0,004	0,080	0,060	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
11	-1	-1	-1	0,000	0,000	0,000	0,026	0,000	0,000	0,000	0,000
12	-1	1	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
13	0	1	1	0,000	0,000	0,000	0,003	0,002	0,000	0,000	0,000
+1	0,1 mL/min	20°C	4,6								
0	0,3 mL/min	25°C	5,6								
-1	0,5 mL/min	30°C	6,6								

Chapitre II : Résultats

(Suite)

N° Essai	Débit	T° de la colonne	pH	TRR IMP2 ¹⁶	TRR IMP3 ¹⁷	TRR IMP4 ¹⁸	% IMP1 ¹⁹	% IMP2 ²⁰	%IMP3 ²¹	%IMP4 ²²
1	0	0	0	0,649	0,000	3,412	0,000	0,037	0,000	0,314
2	1	0	-1	0,866	1,730	0,000	0,000	0,105	0,168	0,000
3	1	-1	1	0,546	1,711	3,306	0,000	0,001	0,000	0,002
4	0	-1	-1	0,858	1,922	3,820	0,000	0,001	0,000	0,001
5	1	-1	0	0,787	2,658	5,006	0,000	0,001	0,000	0,000
6	1	1	1	0,000	0,000	3,487	0,000	0,000	0,000	0,000
7	1	1	-1	0,814	1,734	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000
8	-1	1	-1	0,836	1,768	0,000	0,000	0,121	0,015	0,000
9	-1	-1	1	0,704	0,000	0,000	0,000	0,015	0,000	0,000
10	-1	0	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
11	-1	-1	-1	0,840	1,822	0,000	0,000	0,053	0,021	0,000
12	-1	1	0	0,710	1,760	0,000	0,000	0,065	0,018	0,000
13	0	1	1	0,774	1,766	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
+1	0,1 mL/min	20°C	4,6							
0	0,3 mL/min	25°C	5,6							
-1	0,5 mL/min	30°C	6,6							

¹TRR HPG : Temps de rétention relatif (Calculé par rapport au pic de l'Amoxicilline de la solution standard) de l'impureté HPG

²TRR D1 : Temps de rétention relatif (Calculé par rapport au pic de l'Amoxicilline de la solution standard) de l'impureté D1

Chapitre II : Résultats

³TRR D2 : Temps de rétention relatif (Calculé par rapport au pic de l'Amoxicilline de la solution standard) de l'impureté D2

⁴TRR E1 : Temps de rétention relatif (Calculé par rapport au pic de l'Amoxicilline de la solution standard) de l'impureté E1

⁵TRR E2 : Temps de rétention relatif (Calculé par rapport au pic de l'Amoxicilline de la solution standard) de l'impureté E2

⁶TRR C : Temps de rétention relatif (Calculé par rapport au pic de l'Amoxicilline de la solution standard) de l'impureté C

⁷TRR J : Temps de rétention relatif (Calculé par rapport au pic de l'Amoxicilline de la solution standard) de l'impureté J

⁸%HPG : Pourcentage de l'impureté HPG

⁹%D1 : Pourcentage de l'impureté D1

¹⁰%D2 : Pourcentage de l'impureté D2

¹¹%E1 : Pourcentage de l'impureté E1

¹²%E2 : Pourcentage de l'impureté E2

¹³%C : Pourcentage de l'impureté C

¹⁴%J : Pourcentage de l'impureté J

¹⁵TRR IMP1 : Temps de rétention relatif (Calculé par rapport au pic de l'Amoxicilline de la solution standard) de l'impureté 1 de l'Acide Clavulanique

¹⁶TRR IMP2 : Temps de rétention relatif (Calculé par rapport au pic de l'Amoxicilline de la solution standard) de l'impureté 2 de l'Acide Clavulanique

¹⁷TRR IMP3 : Temps de rétention relatif (Calculé par rapport au pic de l'Amoxicilline de la solution standard) de l'impureté 3 de l'Acide Clavulanique

¹⁸TRR IMP4 : Temps de rétention relatif (Calculé par rapport au pic de l'Amoxicilline de la solution standard) de l'impureté 4 de l'Acide Clavulanique

¹⁹%IMP1 : Pourcentage de l'impureté 1 de l'Acide Clavulanique

²⁰%IMP2 : Pourcentage de l'impureté 2 de l'Acide Clavulanique

²¹%IMP3 : Pourcentage de l'impureté 3 de l'Acide Clavulanique

²²%IMP4 : Pourcentage de l'impureté 4 de l'Acide Clavulanique

Chapitre II : Résultats

2-4-5 : Analyse des résultats du plan de criblage définitif pour la méthode RP-UHPLC (Dosage des impuretés)

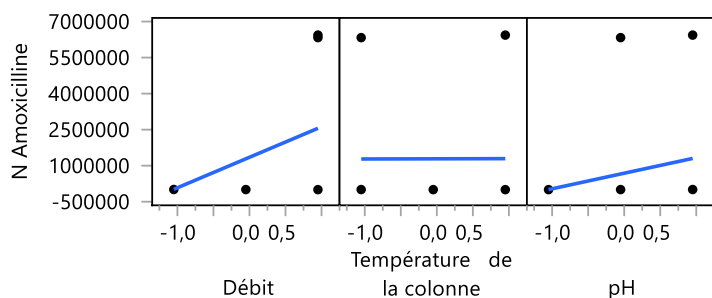
Les résultats analysés par le logiciel JMP Pro 16.2.0 sont regroupés comme suit :

➤ Ajuster le criblage définitif pour N amoxicilline

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	990830	643279	1,5403	0,1579
Débit	1,3e+6	733451	1,7306	0,1176
Température de la colonne	7101,8	733451	0,0097	0,9925
pH	647650	733451	0,883	0,4002
Statistique	Valeur			
RMSE	2,3e+6			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

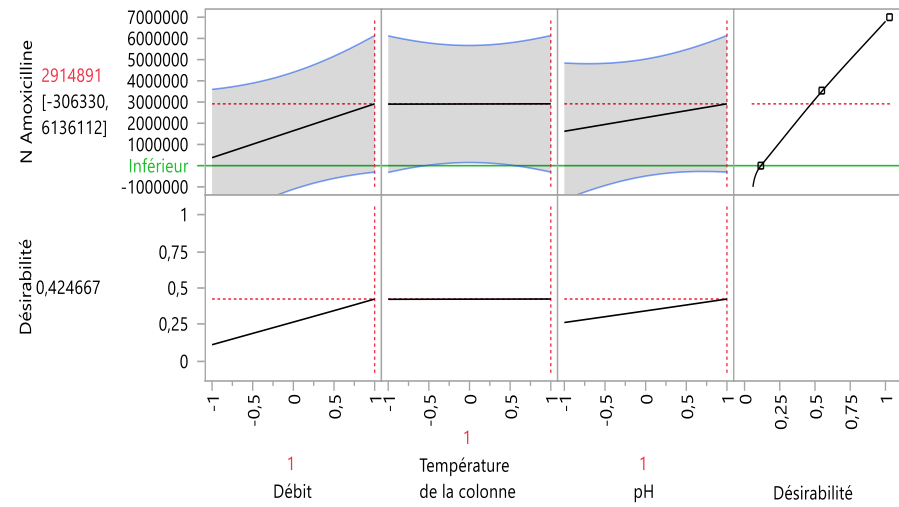
Source	LogWorth		P-value
Débit	0,930		0,11757
pH	0,398		0,40020
Température de la colonne	0,003		0,99249

Analyse de la variance

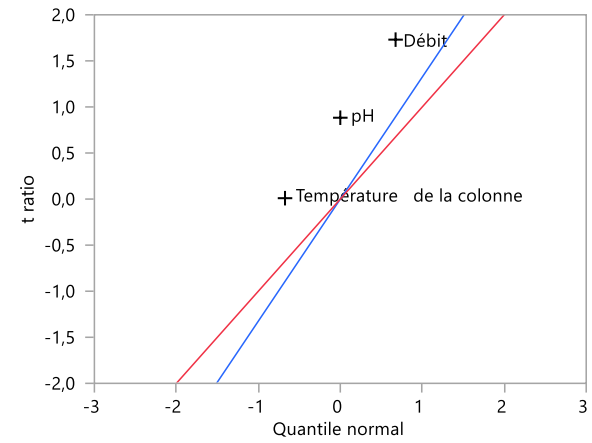
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	2,0306e+13	6,769e+12	1,2583
Erreur	9	4,8416e+13	5,38e+12	Prob. > F
Total corrigé	12	6,8722e+13		0,3456

Chapitre II : Résultats

Profil de prévision



Droite de Henry



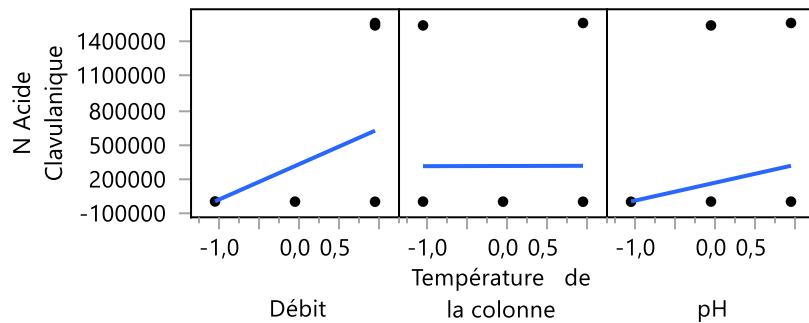
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour N acide clavulanique

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	242005	156672	1,5447	0,1568
Débit	308972	178633	1,7296	0,1178
Température de la colonne	1656,4	178633	0,0093	0,9928
pH	156293	178633	0,8749	0,4044
Statistique	Valeur			
RMSE	564889			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



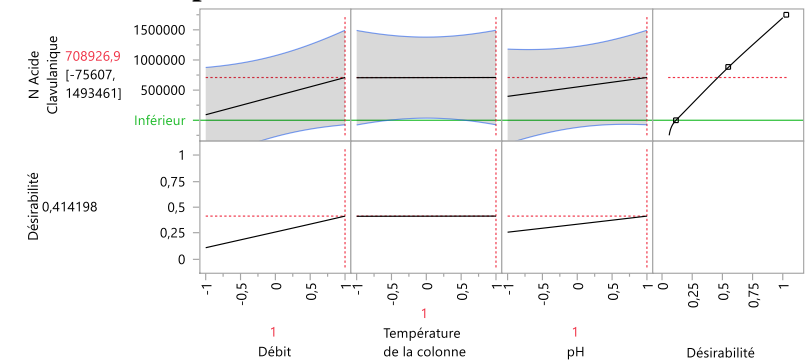
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Débit	0,929		0,11775
pH	0,393		0,40435
Température de la colonne	0,003		0,99280

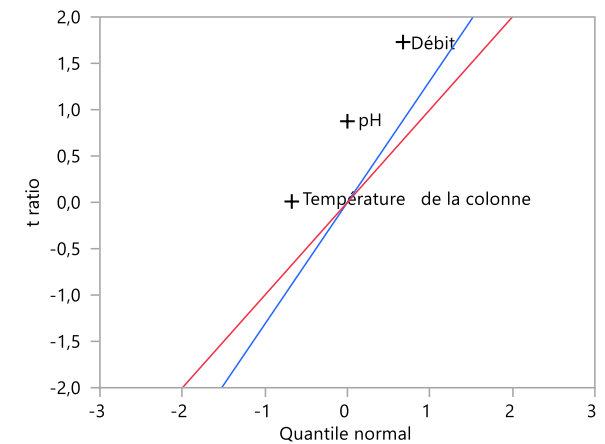
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	1,1989e+12	3,996e+11	1,2524
Erreur	9	2,8719e+12	3,191e+11	Prob. > F
Total corrigé	12	4,0708e+12		0,3474

Profilur de prévision



Droite de Henry



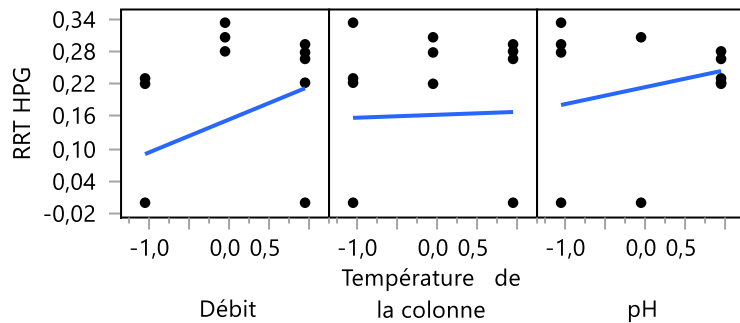
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour TRR HPG

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,2175	0,0557	3,9052	0,0079*
Débit	0,0609	0,0242	2,5162	0,0455*
Température de la colonne	0,0054	0,0242	0,2231	0,8308
pH	0,0314	0,0242	1,2974	0,2422
Débit*pH	-0,067	0,0271	-2,462	0,0490*
Débit*Débit	-0,173	0,0508	-3,407	0,0144*
pH*pH	0,1333	0,0508	2,622	0,0395*
Statistique	Valeur			
RMSE	0,0765			
Degrés de liberté	6			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Débit*Débit	1,843		0,01437
pH*pH	1,404		0,03948
Débit	1,342		0,04552
Débit*pH	1,310		0,04898
pH	0,616		0,24215
Température de la colonne	0,080		0,83085

Réduction du modèle

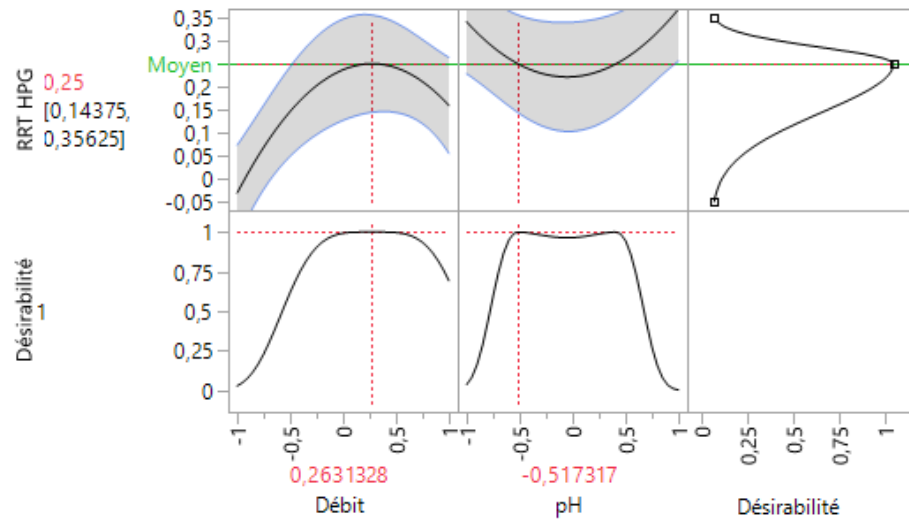
Source	LogWorth		P-value
Débit*Débit	2,096		0,00802
pH*pH	1,589		0,02576
Débit	1,518		0,03035
Débit*pH	1,481		0,03301
pH	0,687		0,20552

Analyse de la variance

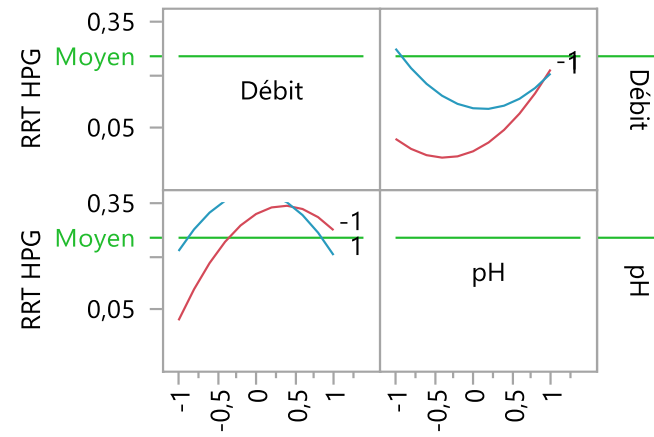
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	5	0,17848416	0,035697	7,0511
Erreur	7	0,03543815	0,005063	Prob. > F
Total corrigé	12	0,21392231		0,0117*

Chapitre II : Résultats

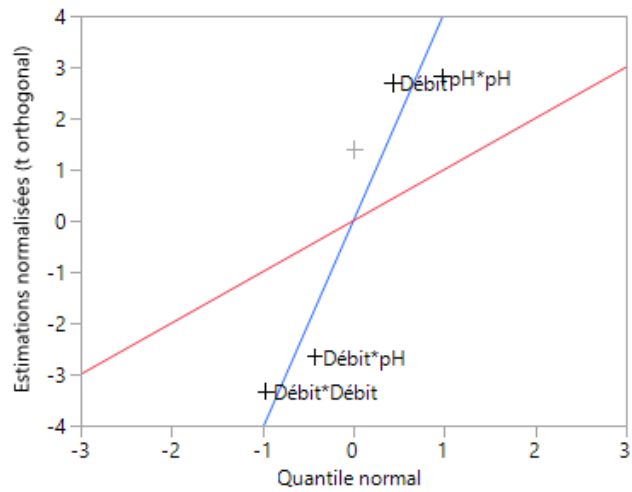
Profileur de prévision



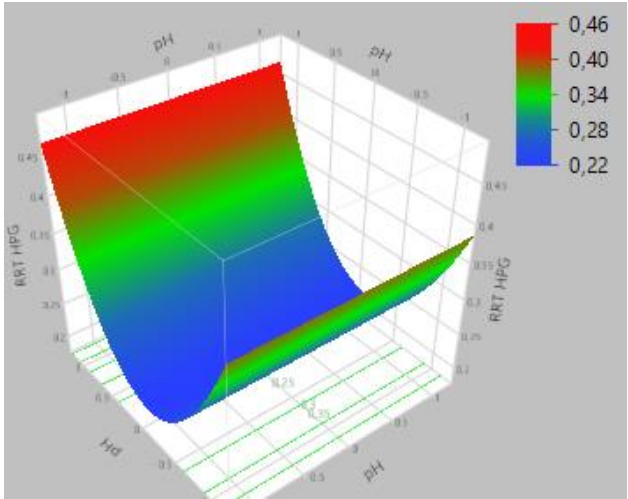
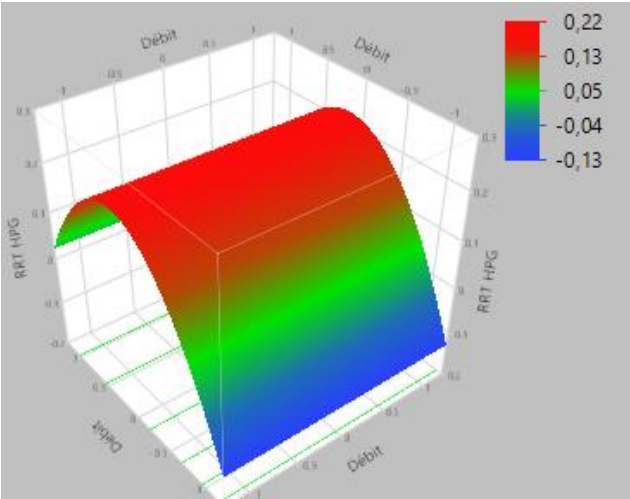
Profils d'interaction



Droite de Henry



Chapitre II : Résultats
Profileurs de surface



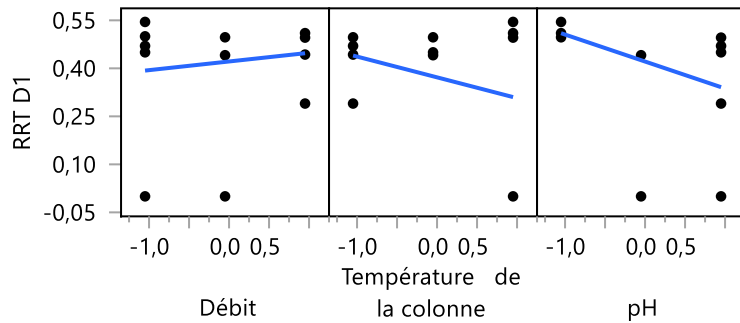
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour TRR D1

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,3953	0,0501	7,8944	<,0001*
Débit	0,0271	0,0571	0,4747	0,6463
Température de la colonne	-0,065	0,0571	-1,137	0,2850
pH	-0,084	0,0571	-1,477	0,1739
Statistique	Valeur			
RMSE	0,1805			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



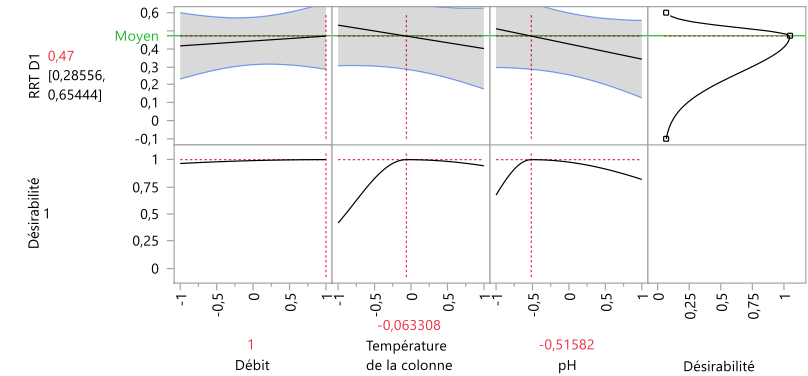
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
pH	0,760	■	0,17392
Température de la colonne	0,545	■	0,28501
Débit	0,190	■	0,64634

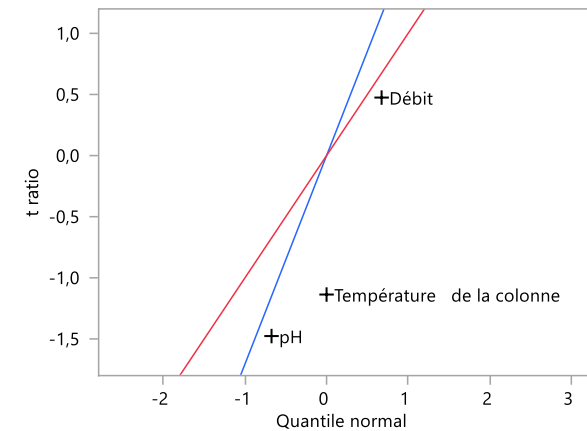
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	0,12052910	0,040176	1,2325
Erreur	9	0,29337367	0,032597	Prob. > F
Total corrigé	12	0,41390277		0,3536

Profileur de prévision



Droite de Henry



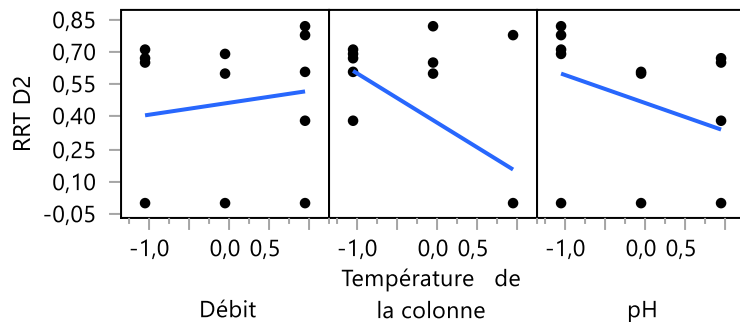
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour TRR D2

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,6155	0,1659	3,7106	0,0075*
Température de la colonne	-0,228	0,0721	-3,164	0,0158*
pH	-0,129	0,0721	-1,795	0,1157
Température de la colonne*pH	-0,054	0,0806	-0,664	0,5281
Température de la colonne*Température de la colonne	-0,32	0,1514	-2,115	0,0723
pH*pH	0,1103	0,1514	0,7284	0,4900
Statistique	Valeur			
RMSE	0,228			
Degrés de liberté	7			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Température de la colonne	1,800		0,01584
Température de la colonne*Température de la colonne	1,141		0,07228
pH	0,937		0,11572
pH*pH	0,310		0,49000
Température de la colonne*pH	0,277		0,52807

Réduction du modèle

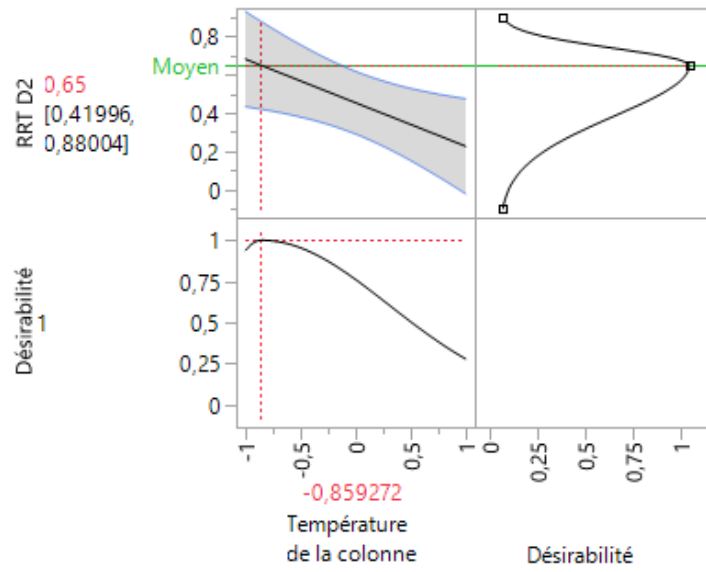
Source	LogWorth		P-value
Température de la colonne	1,669		0,02142

Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	1	0,5202961	0,520296	7,1805
Erreur	11	0,7970599	0,072460	Prob. > F
Total corrigé	12	1,3173560		0,0214*

Chapitre II : Résultats

Profileur de prévision



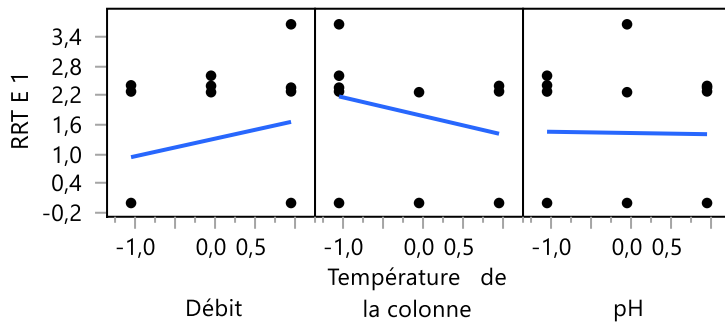
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour TRR E 1

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	1,5609	0,3982	3,9198	0,0035*
Débit	0,3618	0,454	0,7969	0,4460
Température de la colonne	-0,382	0,454	-0,842	0,4216
pH	-0,025	0,454	-0,056	0,9566
Statistique	Valeur			
RMSE	1,4358			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



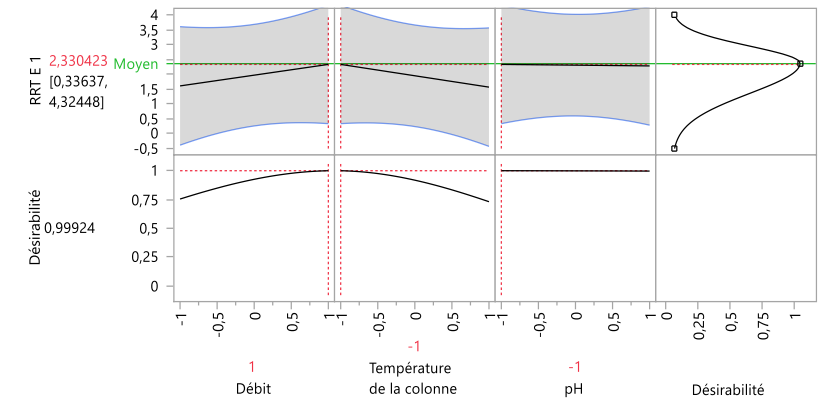
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Température de la colonne	0,375	■	0,42159
Débit	0,351	■	0,44605
pH	0,019		0,95661

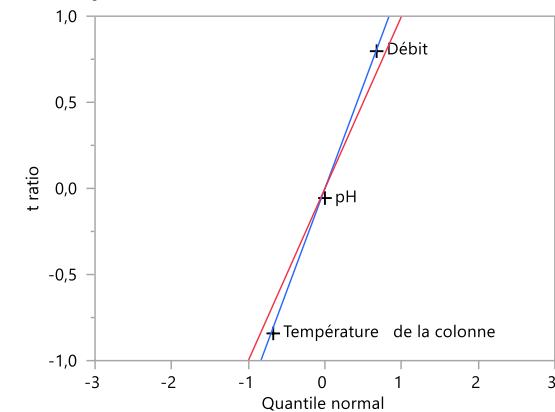
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	2,776977	0,92566	0,4490
Erreur	9	18,553226	2,06147	Prob. > F
Total corrigé	12	21,330203		0,7241

Profil de prévision



Droite de Henry



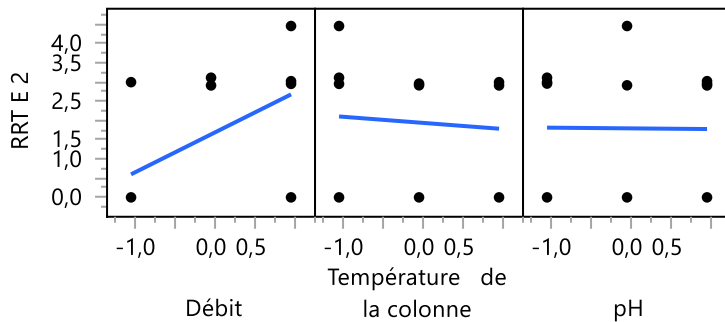
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour TRR E 2

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	1,9472	0,4306	4,5225	0,0014*
Débit	1,039	0,4909	2,1165	0,0634
Température de la colonne	-0,159	0,4909	-0,324	0,7533
pH	-0,018	0,4909	-0,037	0,9712
Statistique		Valeur		
RMSE	1,5524			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



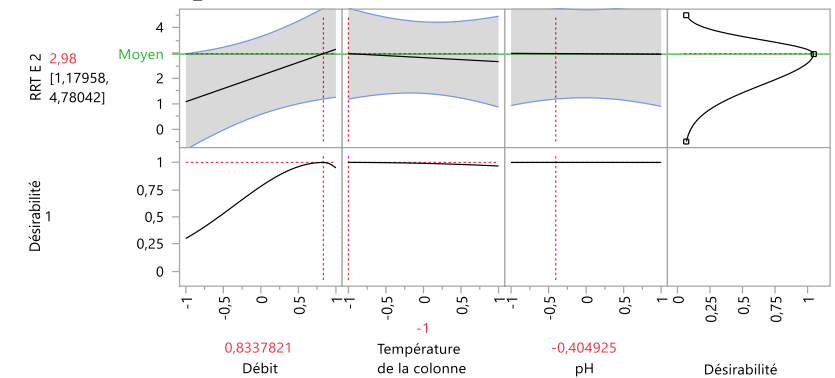
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Débit	1,198		0,06340
Température de la colonne	0,123		0,75328
pH	0,013		0,97124

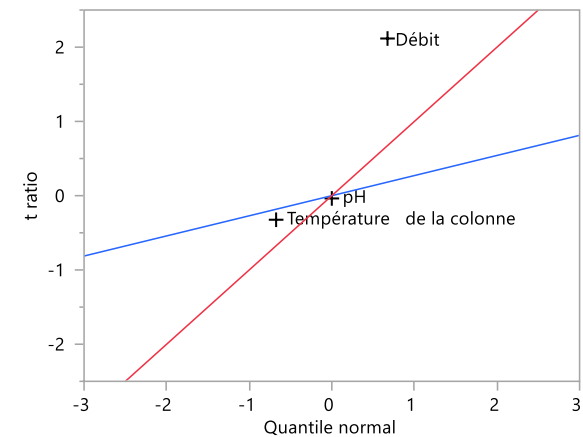
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	11,051651	3,68388	1,5286
Erreur	9	21,689796	2,40998	Prob. > F
Total corrigé	12	32,741446		0,2729

Profileur de prévision



Droite de Henry



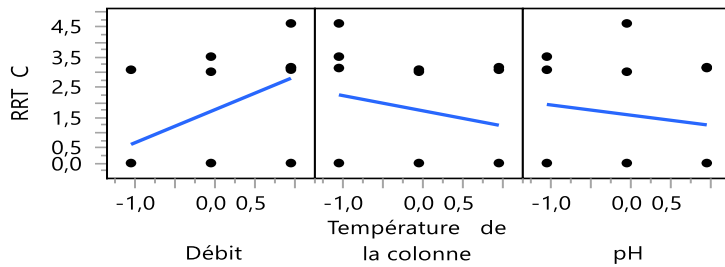
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour TRR C

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	1,8179	0,445	4,0853	0,0027*
Débit	1,0928	0,5074	2,1539	0,0597
Température de la colonne	-0,502	0,5074	-0,99	0,3481
pH	-0,338	0,5074	-0,666	0,5219
Statistique	Valeur			
RMSE	1,6044			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



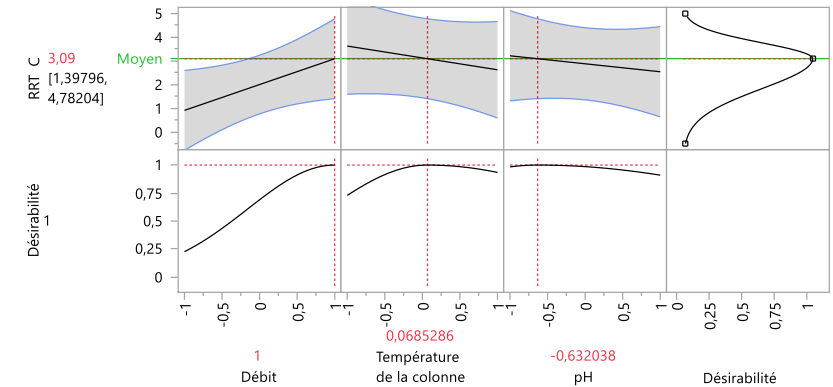
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Débit	1,224		0,05966
Température de la colonne	0,458		0,34812
pH	0,282		0,52188

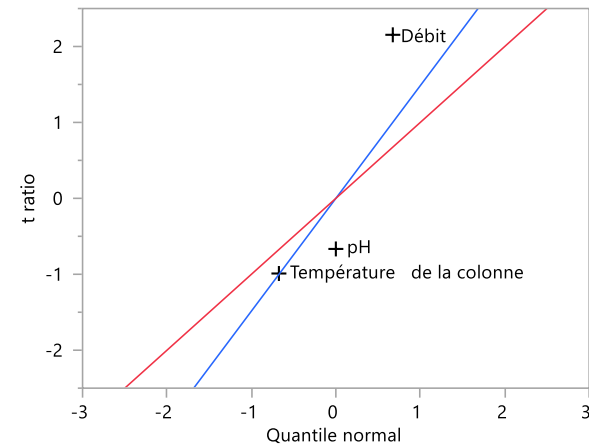
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	15,607283	5,20243	2,0210
Erreur	9	23,167556	2,57417	Prob. > F
Total corrigé	12	38,774839		0,1815

Profilur de prévision



Droite de Henry



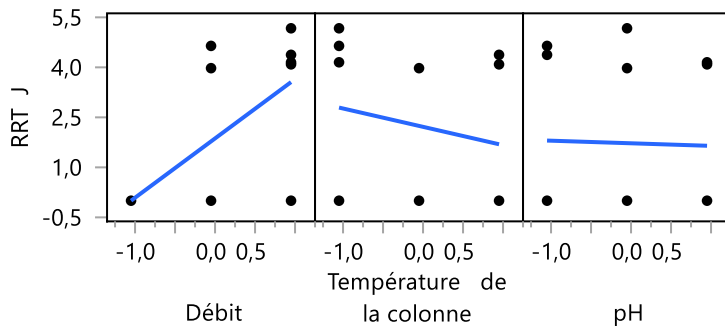
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour TRR J

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	2,0311	0,4965	4,091	0,0027*
Débit	1,7786	0,5661	3,142	0,0119*
Température de la colonne	-0,55	0,5661	-0,972	0,3565
pH	-0,078	0,5661	-0,137	0,8937
Statistique	Valeur			
RMSE	1,7901			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Débit	1,925		0,01189
Température de la colonne	0,448		0,35655
pH	0,049		0,89371

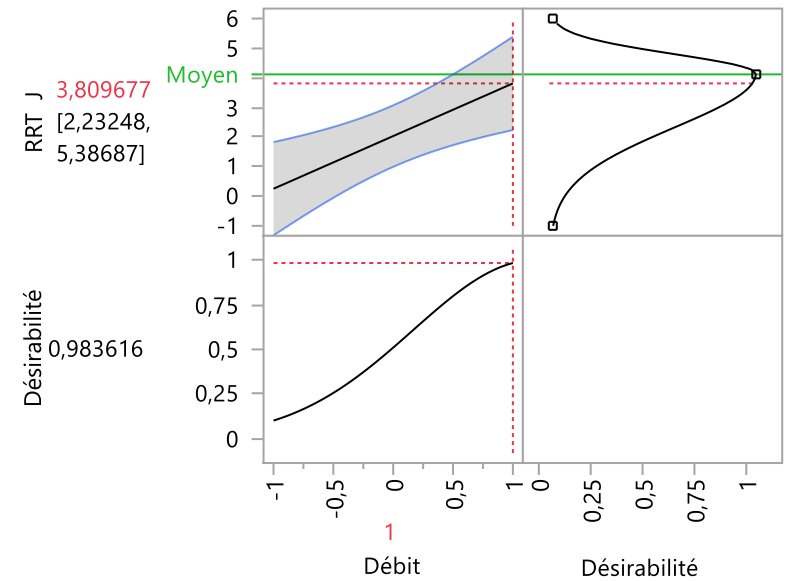
Réduction du modèle

Source	LogWorth		P-value
Débit	2,151		0,00706

Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	1	31,634180	31,6342	10,8995
Erreur	11	31,925927	2,9024	Prob. > F
Total corrigé	12	63,560107		0,0071*

Profilur de prévision



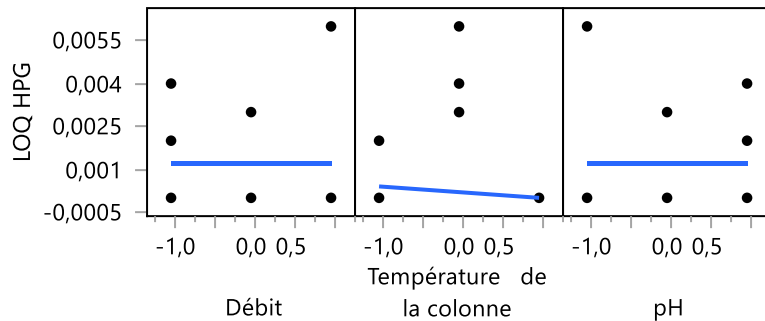
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour % HPG

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,0043	0,0006	7,5689	<,0001*
Débit	0	0,0003	0	1,0000
Température de la colonne	-2e-4	0,0003	-0,638	0,5414
pH	0	0,0003	0	1,0000
Température de la colonne*Température de la colonne	-0,004	0,0007	-6,332	0,0002*
Statistique	Valeur			
RMSE	0,001			
Degrés de liberté	8			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Température de la colonne*Température de la colonne	3,648		0,00022
Température de la colonne	0,266		0,54143
Débit	0,000		1,00000
pH	0,000		1,00000

Réduction du modèle

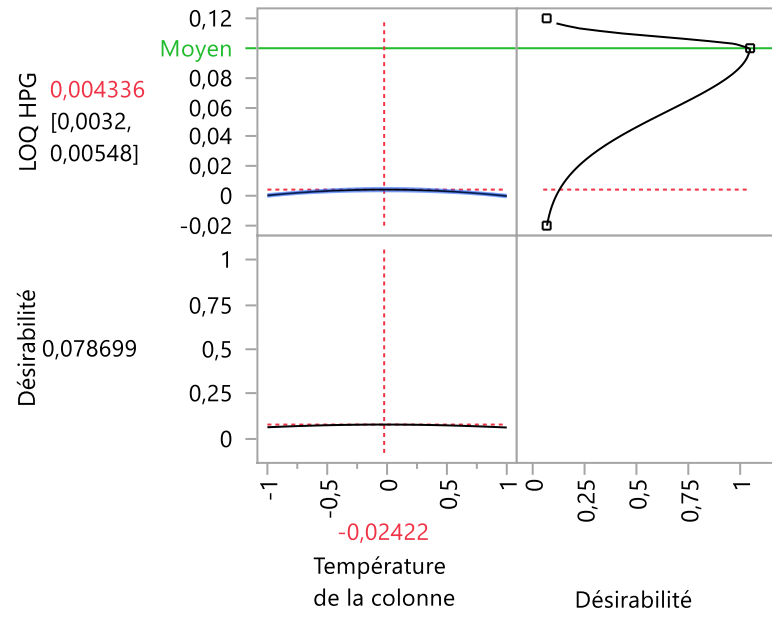
Source	LogWorth		P-value
Température de la colonne*Température de la colonne	4,471		0,00003
Température de la colonne	0,308		0,49210

Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	2	0,00003983	0,000020	25,3129
Erreur	10	0,00000787	7,867e-7	Prob. > F
Total corrigé	12	0,00004769		0,0001*

Chapitre II : Résultats

Profilur de prévision



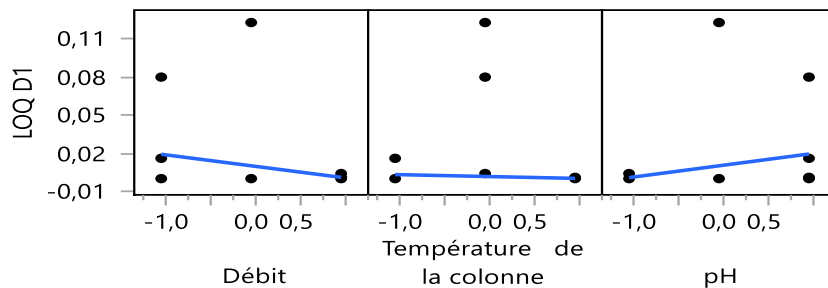
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour % D1

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,123	0,0208	5,9065	0,0097*
Débit	-0,009	0,0066	-1,382	0,2609
Température de la colonne	-0,002	0,0066	-0,228	0,8345
pH	0,0093	0,0066	1,4122	0,2527
Débit*Température de la colonne	0,0188	0,0095	1,9648	0,1442
Débit*pH	0,0148	0,0095	1,5456	0,2199
Température de la colonne*pH	-0,019	0,0095	-1,939	0,1479
Débit*Débit	-0,033	0,016	-2,063	0,1311
Température de la colonne*Température de la colonne	-0,071	0,016	-4,454	0,0211*
pH*pH	-0,033	0,016	-2,079	0,1292
Statistique	Valeur			
RMSE	0,0208			
Degrés de liberté	3			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Température de la colonne*Température de la colonne	1,677		0,02106
pH*pH	0,889		0,12917
Débit*Débit	0,882		0,13111
Débit*Température de la colonne	0,841		0,14418
Température de la colonne*pH	0,830		0,14792
Débit*pH	0,658		0,21991
pH	0,597		0,25274
Débit	0,583		0,26094
Température de la colonne	0,079		0,83446

Réduction du modèle

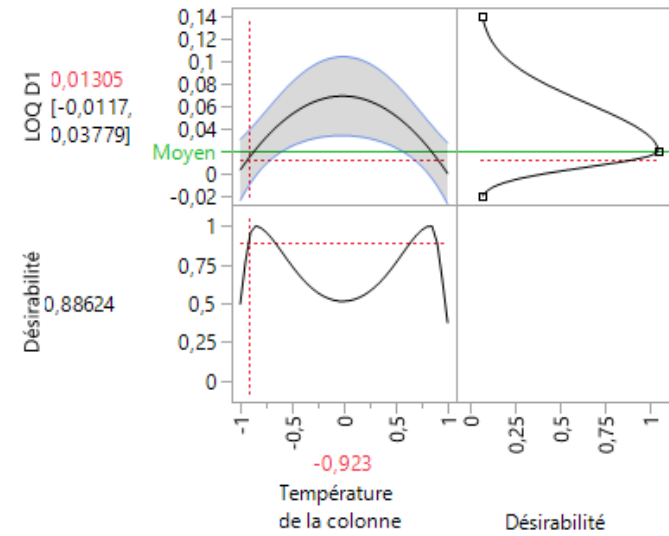
Source	LogWorth		P-value
Température de la colonne*Température de la colonne	2,416		0,00384
Température de la colonne	0,063		0,86566

Chapitre II : Résultats

Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	2	0,01047471	0,005237	7,0134
Erreur	10	0,00746760	0,000747	Prob. > F
Total corrigé	12	0,01794231		0,0125*

Profil de prévision



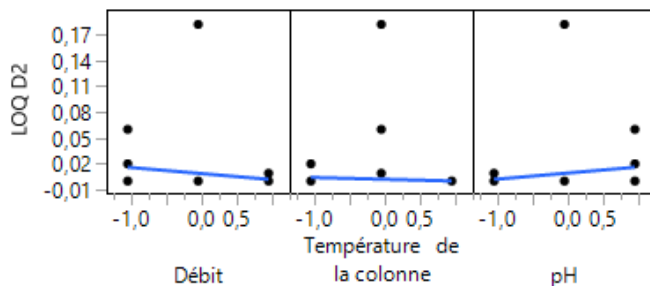
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour % D2

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,182	0,0124	14,653	0,0007*
Débit	-0,007	0,0039	-1,782	0,1727
Température de la colonne	-0,002	0,0039	-0,535	0,6300
pH	0,0071	0,0039	1,8077	0,1684
Débit*Température de la colonne	0,0324	0,0057	5,6925	0,0107*
Débit*pH	0,0274	0,0057	4,814	0,0171*
Température de la colonne*pH	-0,032	0,0057	-5,692	0,0107*
Débit*Débit	-0,06	0,0095	-6,268	0,0082*
Température de la colonne*Température de la colonne	-0,089	0,0095	-9,36	0,0026*
pH*pH	-0,06	0,0095	-6,321	0,0080*
Statistique	Valeur			
RMSE	0,0124			
Degrés de liberté	3			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

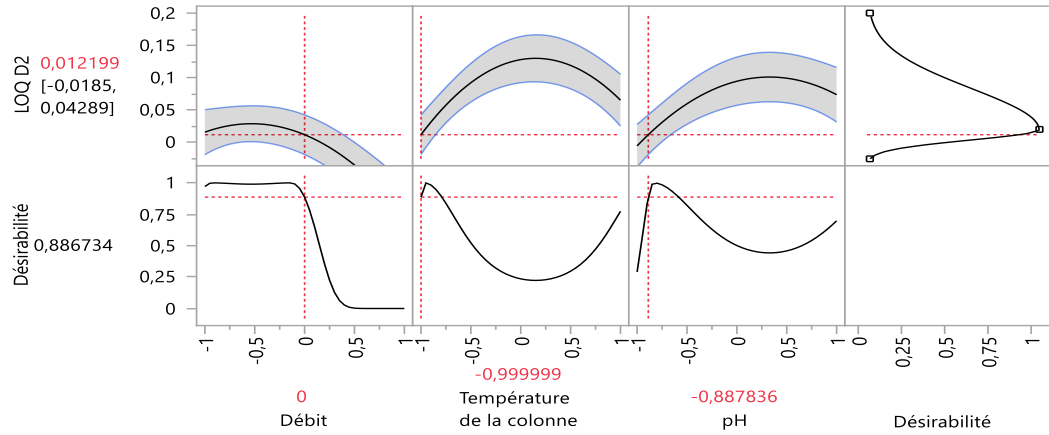
Source	LogWorth		P-value
Température de la colonne*Température de la colonne	2,588		0,00258
pH*pH	2,097		0,00801
Débit*Débit	2,086		0,00820
Débit*Température de la colonne	1,969		0,01075
Température de la colonne*pH	1,969		0,01075
Débit*pH	1,768		0,01707
pH	0,774		0,16838
Débit	0,763		0,17273
Température de la colonne	0,201		0,62997

Analyse de la variance

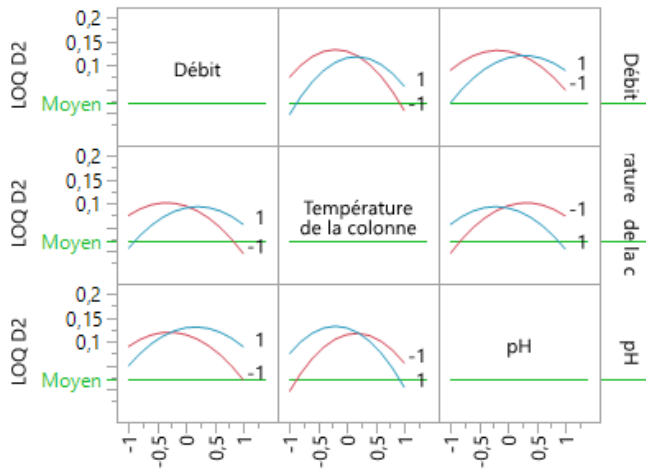
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	9	0,03105212	0,003450	22,3654
Erreur	3	0,00046280	0,000154	Prob. > F
Total corrigé	12	0,03151492		0,0134*

Chapitre II : Résultats

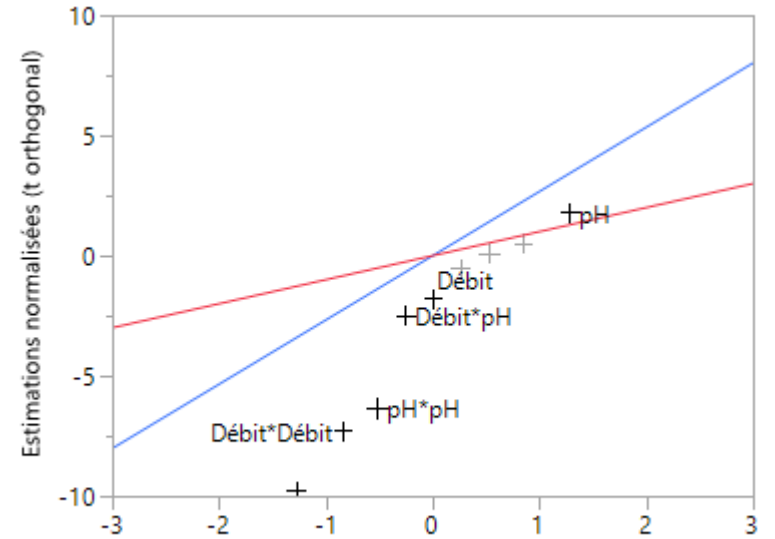
Profil de prévision



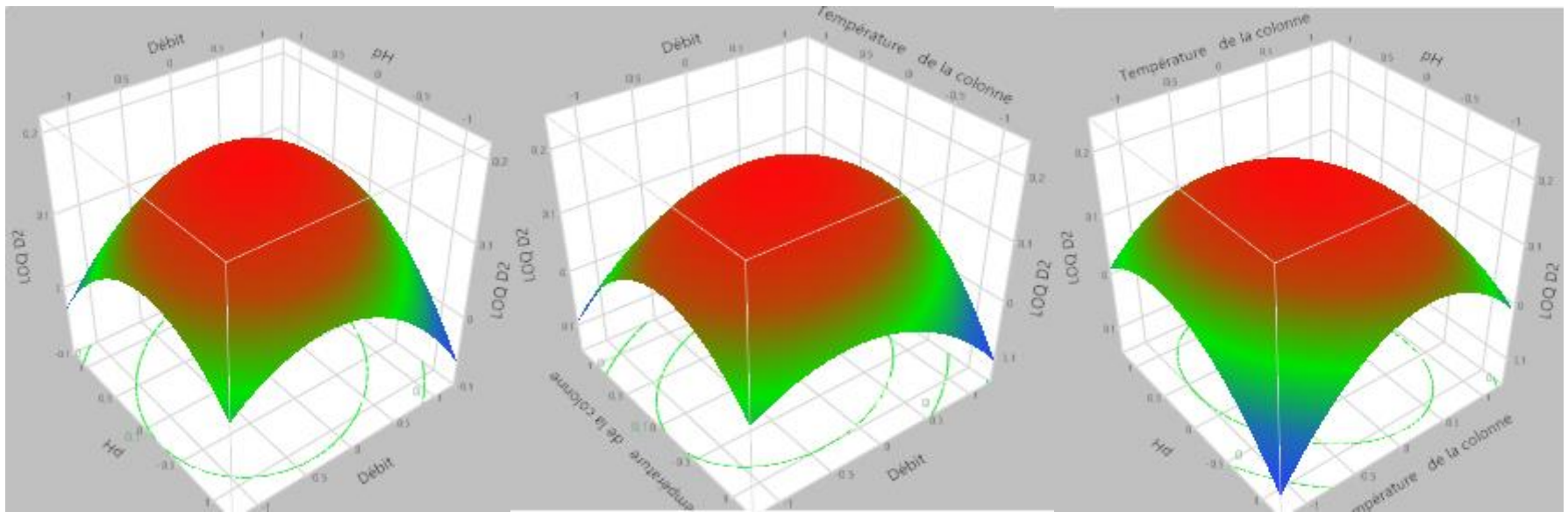
Profils d'interaction



Droite de Henry



Chapitre II : Résultats



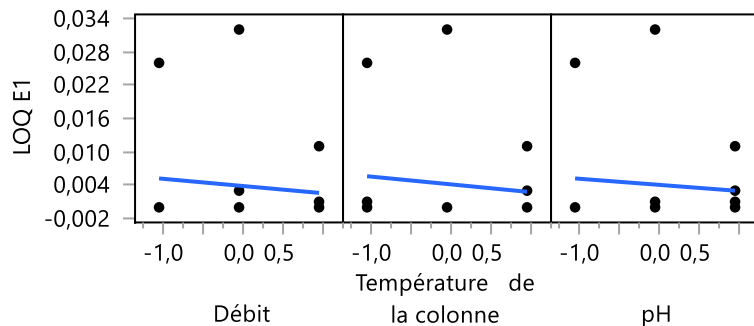
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour % E1

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,032	0,0048	6,6532	0,0069*
Débit	-0,001	0,0015	-0,855	0,4555
Température de la colonne	-0,001	0,0015	-0,92	0,4252
pH	-0,001	0,0015	-0,723	0,5218
Débit*Température de la colonne	0,0115	0,0022	5,1949	0,0139*
Débit*pH	0,0117	0,0022	5,3083	0,0131*
Température de la colonne*pH	-0,002	0,0022	-1,112	0,3474
Débit*Débit	-0,006	0,0037	-1,665	0,1946
Température de la colonne*Température de la colonne	-0,014	0,0037	-3,762	0,0328*
pH*pH	-0,014	0,0037	-3,83	0,0314*
Statistique	Valeur			
RMSE	0,0048			
Degrés de liberté	3			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Débit*pH	1,884		0,01305
Débit*Température de la colonne	1,858		0,01386
pH*pH	1,504		0,03136
Température de la colonne*Température de la colonne	1,484		0,03284
Débit*Débit	0,711		0,19457
Température de la colonne*pH	0,459		0,34739
Température de la colonne	0,371		0,42521
Débit	0,341		0,45553
pH	0,282		0,52183

Réduction du modèle

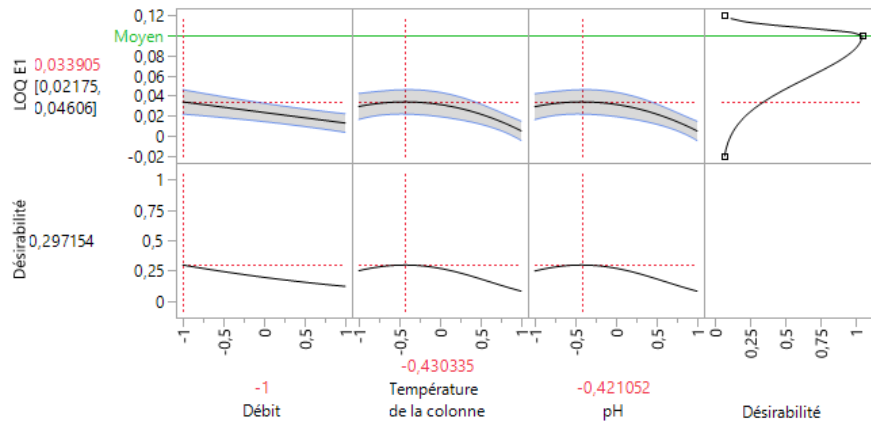
Source	LogWorth		P-value
Débit*pH	2,391		0,00406
Débit*Température de la colonne	2,348		0,00449
pH*pH	1,820		0,01513
Température de la colonne*Température de la colonne	1,791		0,01618
Température de la colonne	0,361		0,43527
Débit	0,331		0,46682
pH	0,272		0,53485

Chapitre II : Résultats

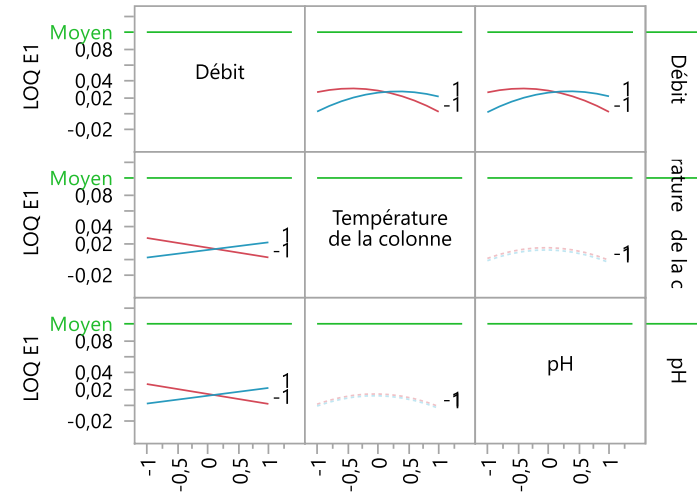
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	7	0,00127441	0,000182	6,6756
Erreur	5	0,00013636	0,000027	Prob. > F
Total corrigé	12	0,00141077		0,0264*

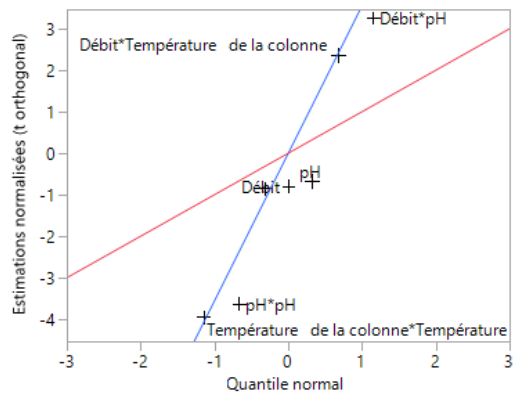
Profileur de prévision



Profils d'interaction

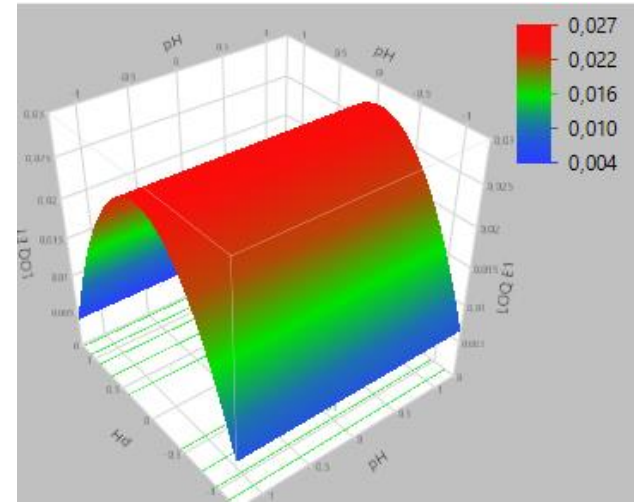
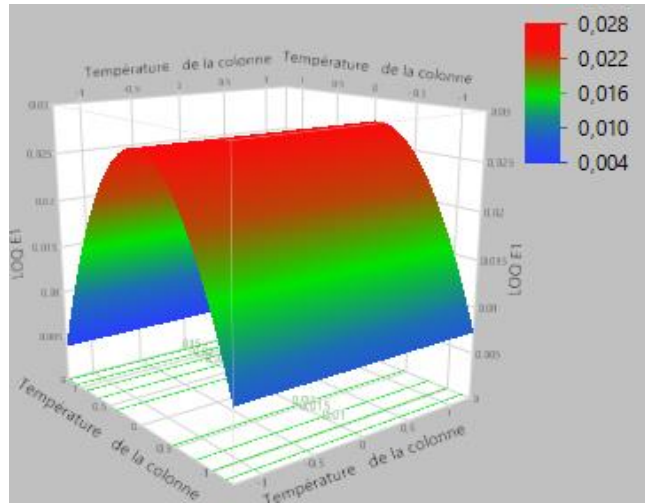


Droite de Henry



Chapitre II : Résultats

Profileurs de surface



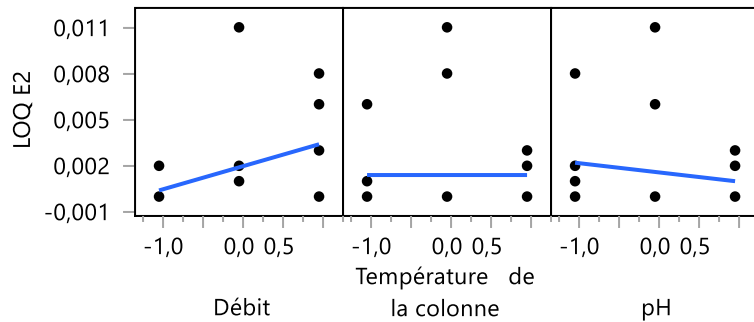
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour % E2

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,0025	0,0011	2,4163	0,0388*
Débit	0,0015	0,0012	1,2523	0,2420
Température de la colonne	0	0,0012	0	1,0000
pH	-0,001	0,0012	-0,501	0,6285
Statistique	Valeur			
RMSE	0,0038			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



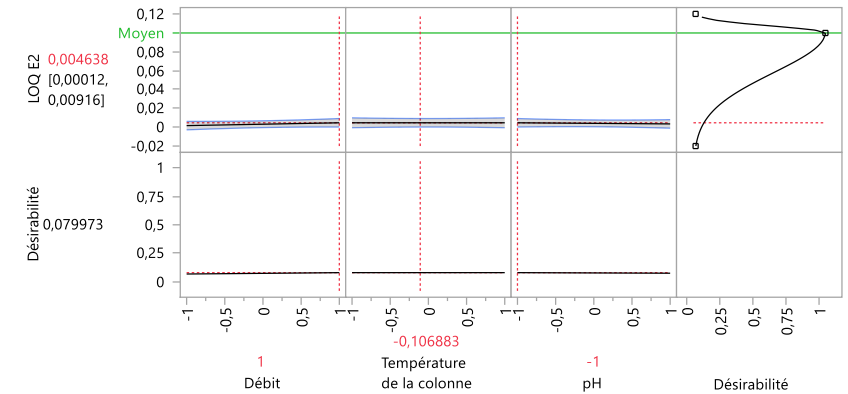
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Débit	0,616		0,24203
pH	0,202		0,62846
Température de la colonne	0,000		1,00000

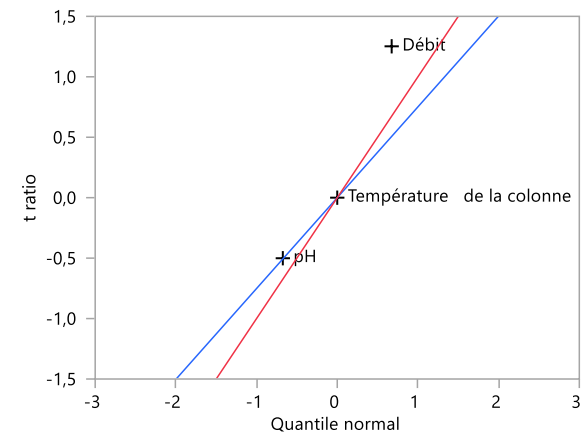
Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	0,00002610	8,7e-6	0,6064
Erreur	9	0,00012913	0,000014	Prob. > F
Total corrigé	12	0,00015523		0,6273

Profil de prévision



Droite de Henry



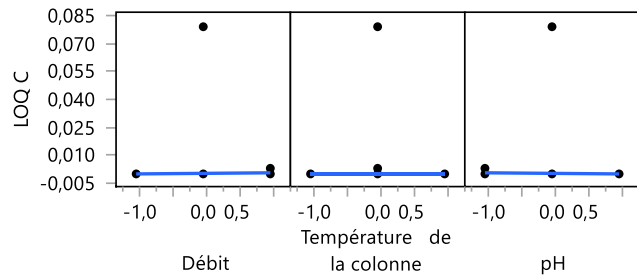
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour % C

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,079	0,0009	83,273	<,0001*
Débit	0,0003	0,0003	1	0,3910
Température de la colonne	0	0,0003	0	1,0000
pH	-3e-4	0,0003	-1	0,3910
Débit*Température de la colonne	0,0155	0,0004	35,653	<,0001*
Débit*pH	0,0155	0,0004	35,653	<,0001*
Température de la colonne*pH	-0,016	0,0004	-35,65	<,0001*
Débit*Débit	-0,031	0,0007	-42,54	<,0001*
Température de la colonne*Température de la colonne	-0,033	0,0007	-44,6	<,0001*
pH*pH	-0,031	0,0007	-42,54	<,0001*
Statistique	Valeur			
RMSE	0,0009			
Degrés de liberté	3			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

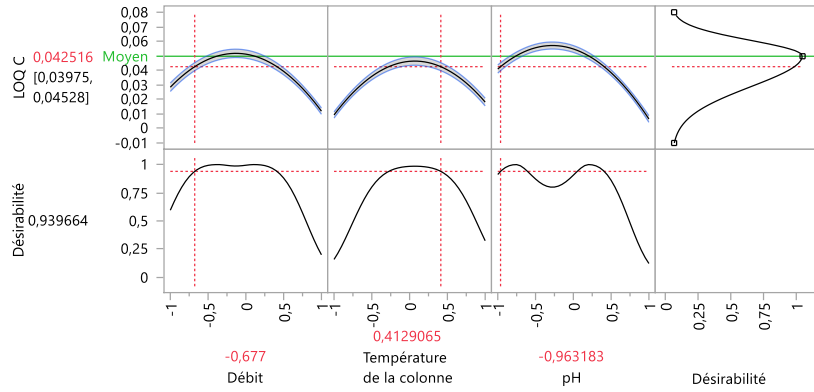
Source	LogWorth		P-value
Température de la colonne*Température de la colonne	4,605		0,00002
Débit*Débit	4,544		0,00003
pH*pH	4,544		0,00003
Débit*Température de la colonne	4,314		0,00005
Débit*pH	4,314		0,00005
Température de la colonne*pH	4,314		0,00005
Débit	0,408		0,39100
pH	0,408		0,39100
Température de la colonne	0,000		1,00000

Analyse de la variance

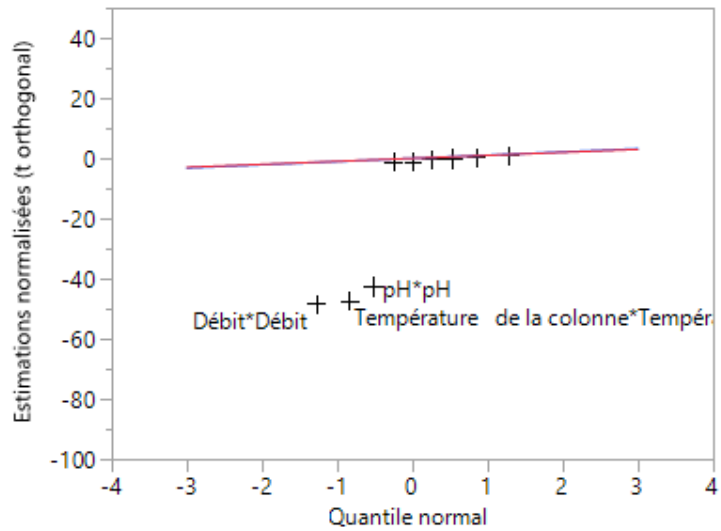
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	9	0,00573007	0,000637	707,4160
Erreur	3	0,00000270	9e-7	Prob. > F
Total corrigé	12	0,00573277		<,0001*

Chapitre II : Résultats

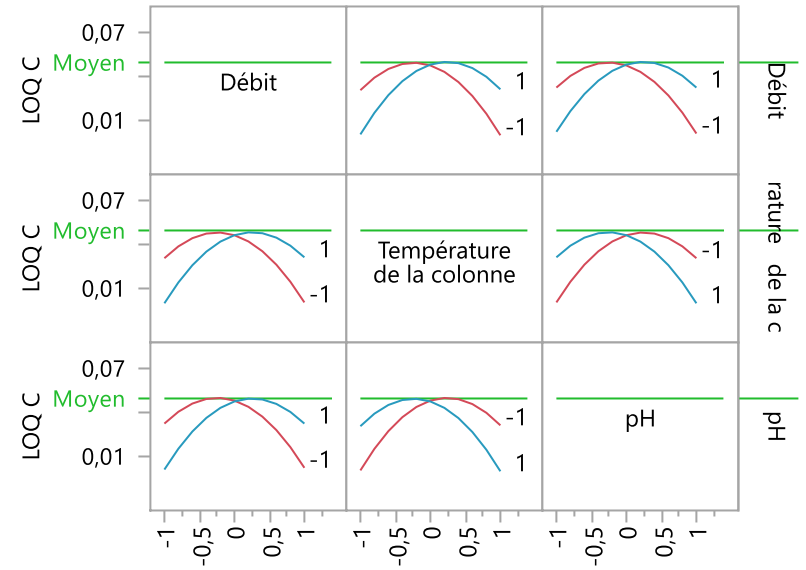
Profil de prévision



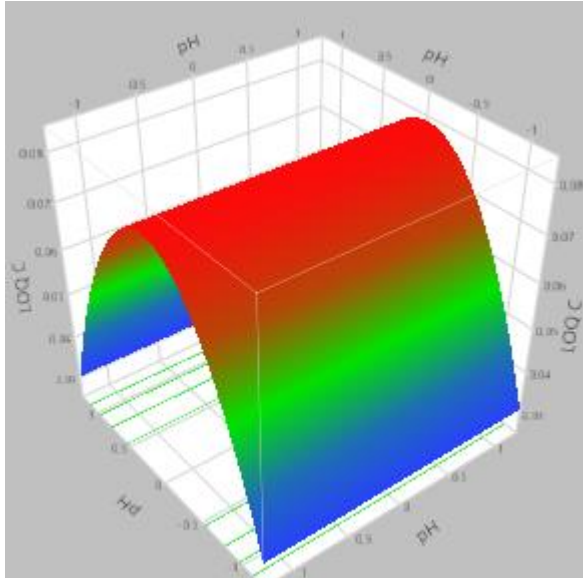
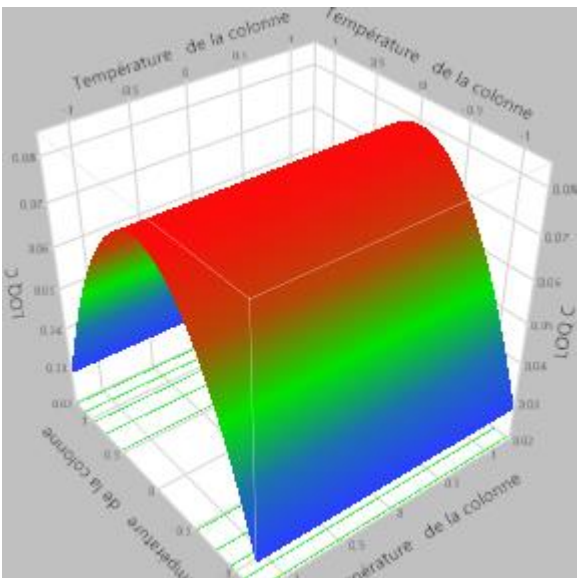
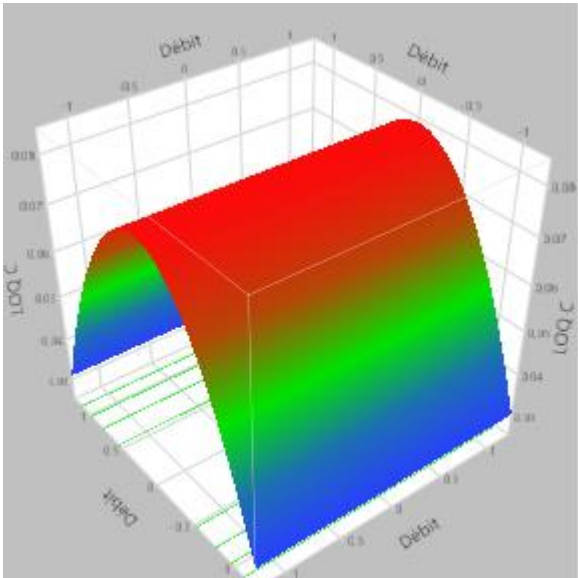
Droite de Henry



Profils d'interaction



Chapitre II : Résultats
Profiteurs de surface



Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour % J

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,152	0,0008	186,16	<,0001*
Débit	0,0003	0,0003	1,1619	0,3293
Température de la colonne	0	0,0003	0	1,0000
pH	0,0001	0,0003	0,3873	0,7244
Débit*Température de la colonne	0,0305	0,0004	81,515	<,0001*
Débit*pH	0,0305	0,0004	81,515	<,0001*
Température de la colonne*pH	-0,03	0,0004	-80,18	<,0001*
Débit*Débit	-0,061	0,0006	-96,47	<,0001*
Température de la colonne*Température de la colonne	-0,061	0,0006	-96,47	<,0001*
pH*pH	-0,061	0,0006	-97,26	<,0001*
Statistique	Valeur			
RMSE	0,0008			
Degrés de liberté	3			

Résumé des effets

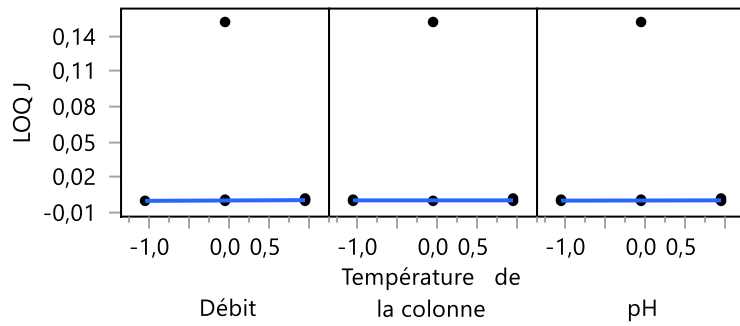
Source	LogWorth		P-value
pH*pH	5,621		0,00000
Débit*Débit	5,610		0,00000
Température de la colonne*Température de la colonne	5,610		0,00000
Débit*Température de la colonne	5,390		0,00000
Débit*pH	5,390		0,00000
Température de la colonne*pH	5,369		0,00000
Débit	0,482		0,32932
pH	0,140		0,72438
Température de la colonne	0,000		1,00000

Analyse de la variance

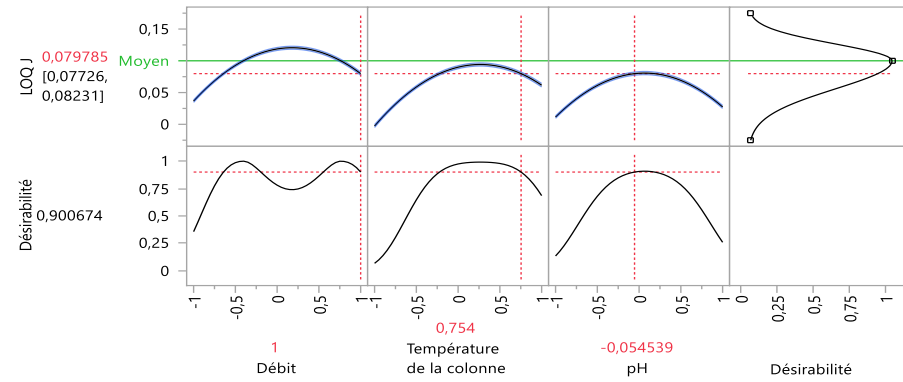
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	9	0,02123600	0,002360	3539,333
Erreur	3	0,00000200	6,667e-7	Prob. > F
Total corrigé	12	0,02123800		<,0001*

Chapitre II : Résultats

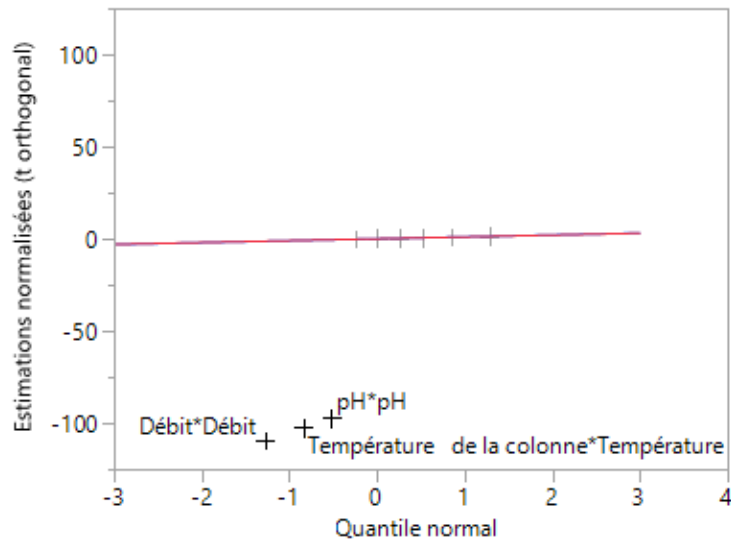
Graphique des effets principaux



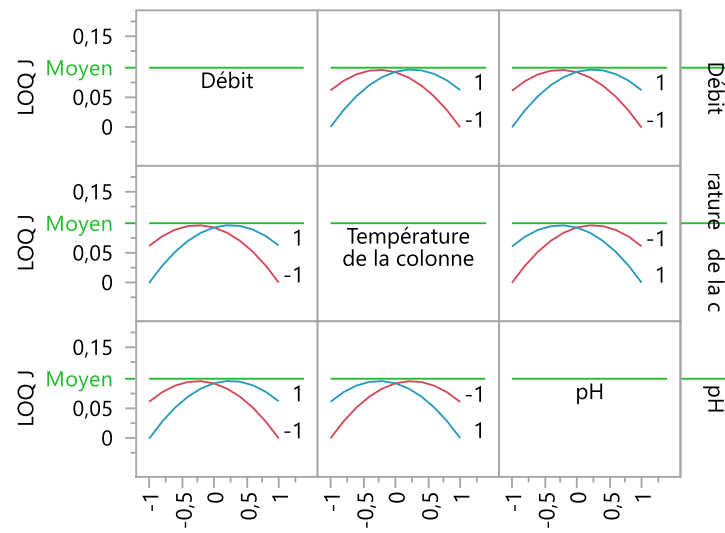
Profil de prévision



Droite de Henry

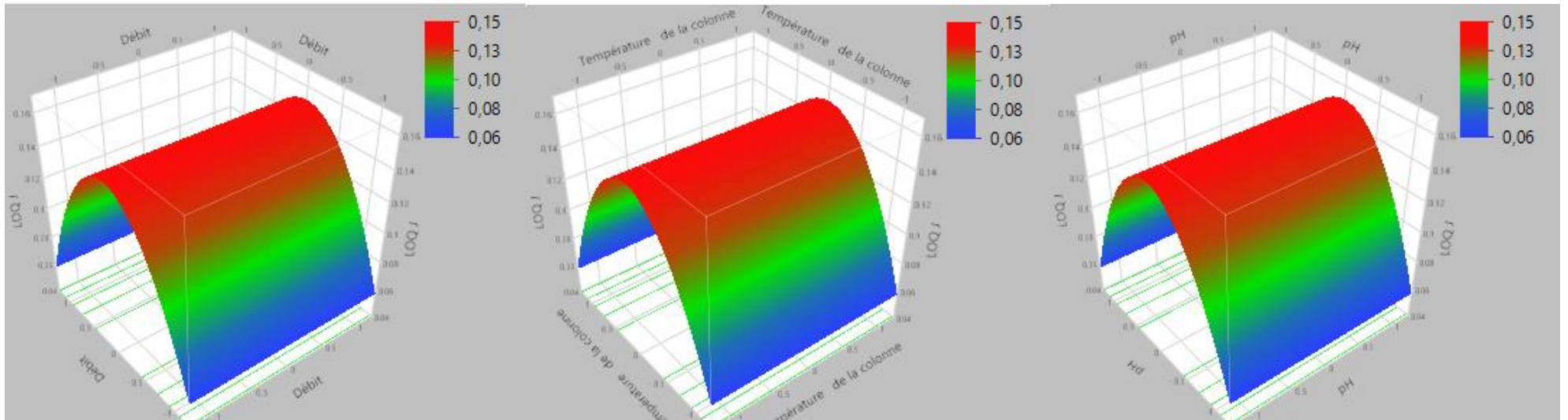


Profils d'interaction



Chapitre II : Résultats

Profileurs de surface



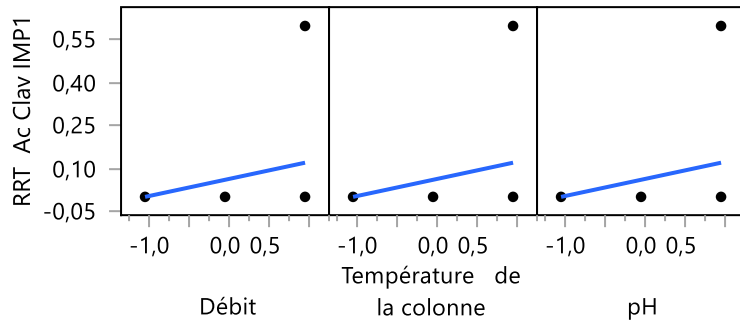
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour TRR Ac Clav IMP1

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,046	0,0436	1,0541	0,3193
Débit	0,0598	0,0498	1,2019	0,2601
Température de la colonne	0,0598	0,0498	1,2019	0,2601
pH	0,0598	0,0498	1,2019	0,2601
Statistique	Valeur			
RMSE	0,1573			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



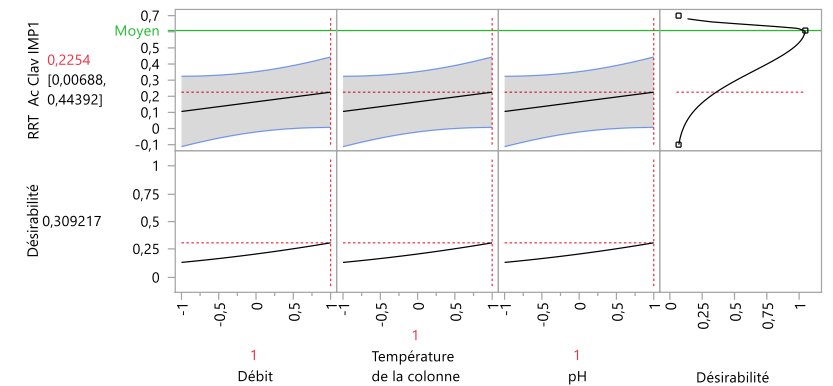
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Débit	0,585		0,26009
pH	0,585		0,26009
Température de la colonne	0,585		0,26009

Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	0,10728120	0,035760	1,4444
Erreur	9	0,22281480	0,024757	Prob. > F
Total corrigé	12	0,33009600		0,2935

Profil de prévision



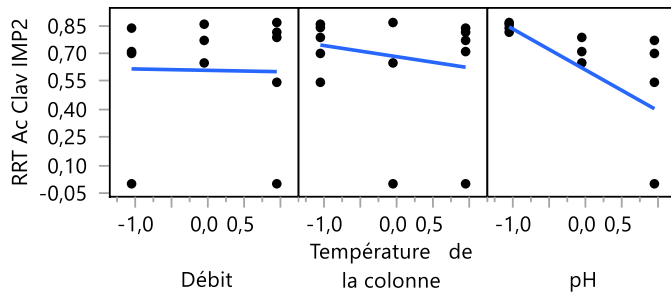
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour TRR Ac Clav IMP2

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,644	0,0693	9,2887	<,0001*
Débit	-0,007	0,0791	-0,094	0,9275
Température de la colonne	-0,06	0,0791	-0,755	0,4694
pH	-0,22	0,0791	-2,779	0,0214*
Statistique	Valeur			
RMSE	0,25			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
pH	1,669		0,02143
Température de la colonne	0,328		0,46942
Débit	0,033		0,92747

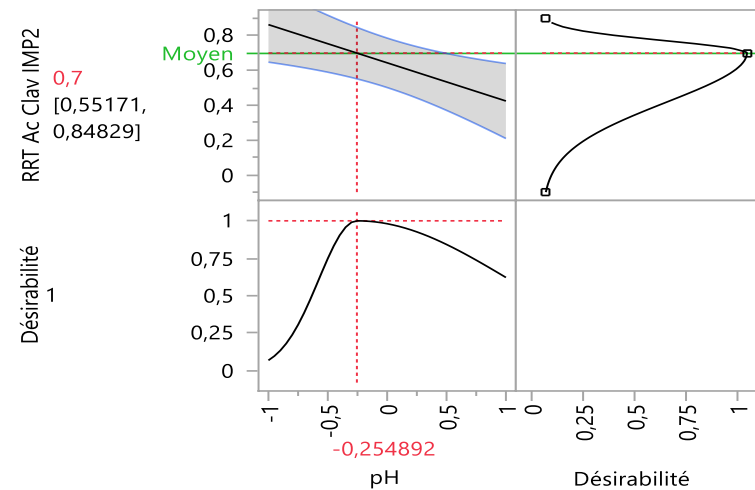
Réduction du modèle

Source	LogWorth		P-value
pH	1,901		0,01256

Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	1	0,4826809	0,482681	8,8700
Erreur	11	0,5985911	0,054417	Prob. > F
Total corrigé	12	1,0812720		0,0126*

Profil de prévision



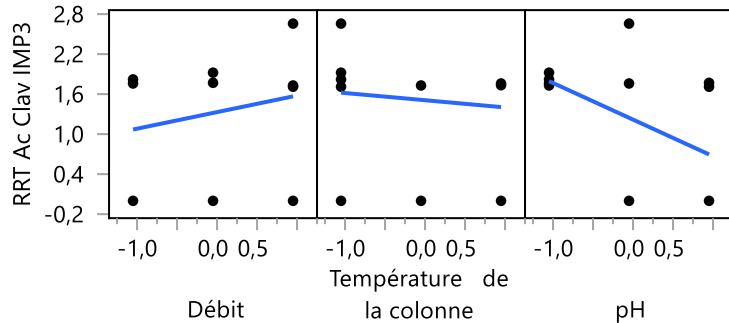
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour TRR Ac Clav IMP3

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	1,2979	0,2394	5,4224	0,0004*
Débit	0,2485	0,2729	0,9105	0,3863
Température de la colonne	-0,108	0,2729	-0,396	0,7013
pH	-0,549	0,2729	-2,013	0,0750
Statistique	Valeur			
RMSE	0,863			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



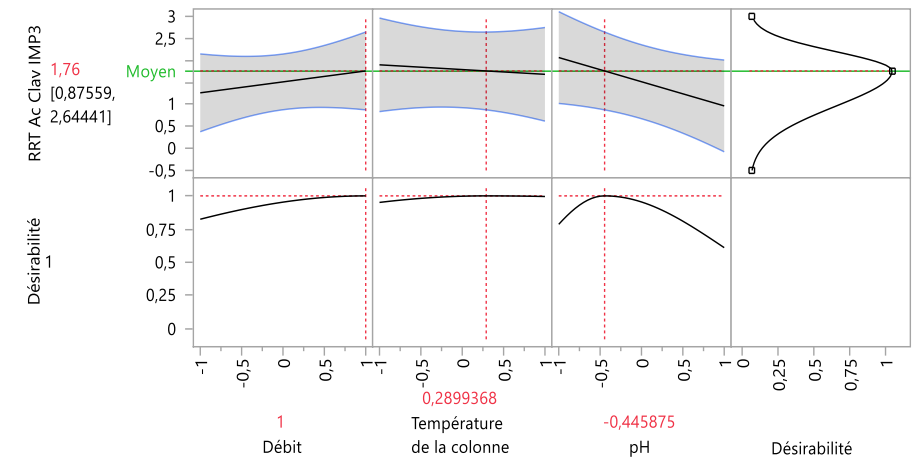
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
pH	1,125		0,07500
Débit	0,413		0,38628
Température de la colonne	0,154		0,70126

Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	3,751684	1,25056	1,6790
Erreur	9	6,703515	0,74484	Prob. > F
Total corrigé	12	10,455199		0,2402

Profil de prévision



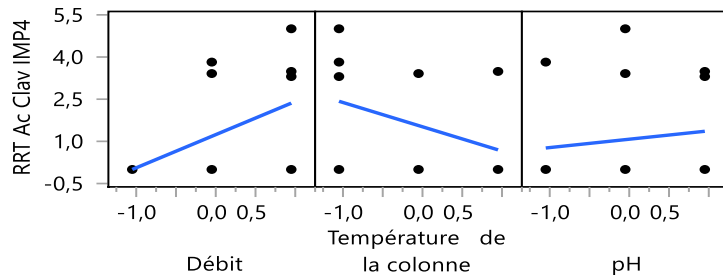
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour TRR Ac Clav IMP4

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	1,4637	0,4552	3,2158	0,0106*
Débit	1,1797	0,519	2,2732	0,0491*
Température de la colonne	-0,864	0,519	-1,665	0,1302
pH	0,2973	0,519	0,5729	0,5808
Statistique	Valeur			
RMSE	1,6411			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
Débit	1,309		0,04910
Température de la colonne	0,885		0,13021
pH	0,236		0,58075

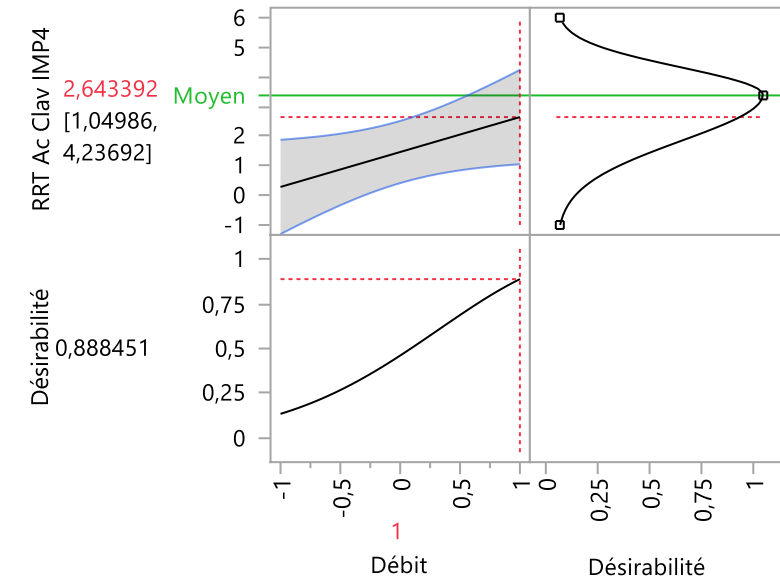
Réduction du modèle

Source	LogWorth		P-value
Débit	1,276		0,05302

Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	1	13,916921	13,9169	4,6972
Erreur	11	32,590666	2,9628	Prob. > F
Total corrigé	12	46,507587		0,0530

Profil de prévision



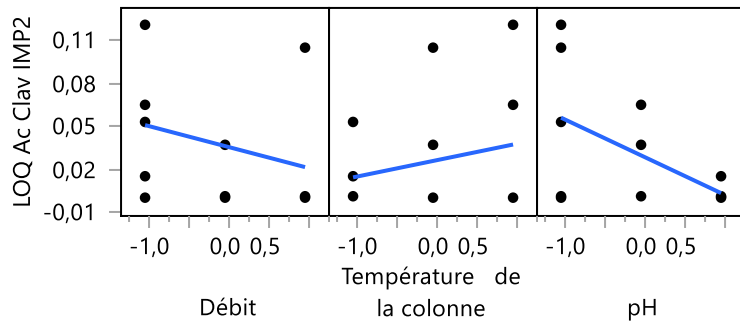
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour % Ac Clav IMP2

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,0307	0,01	3,0827	0,0131*
Débit	-0,015	0,0114	-1,295	0,2276
Température de la colonne	0,0115	0,0114	1,0131	0,3375
pH	-0,026	0,0114	-2,326	0,0451*
Statistique	Valeur			
RMSE	0,0359			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
pH	1,346		0,04507
Débit	0,643		0,22757
Température de la colonne	0,472		0,33749

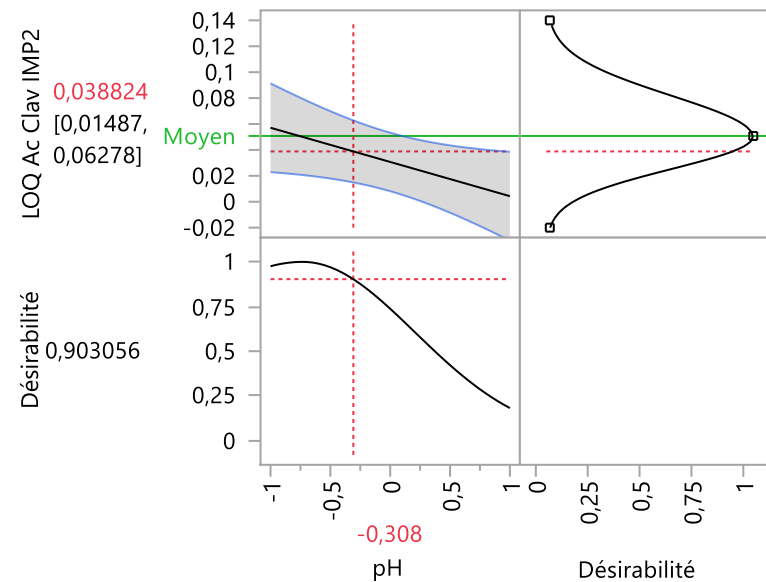
Réduction du modèle

Source	LogWorth		P-value
pH	1,342		0,04552

Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	1	0,00696960	0,006970	5,0835
Erreur	11	0,01508117	0,001371	Prob. > F
Total corrigé	12	0,02205077		0,0455*

Profileur de prévision



Chapitre II : Résultats

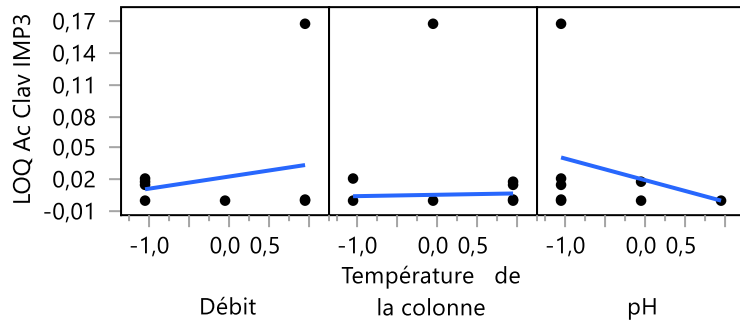


Ajuster le criblage définitif pour % Ac Clav IMP3

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,0172	0,013	1,317	0,2204
Débit	0,0115	0,0149	0,7744	0,4586
Température de la colonne	0,0013	0,0149	0,0875	0,9322
pH	-0,021	0,0149	-1,38	0,2008
Statistique	Valeur			
RMSE	0,047			
Degrés de liberté	9			

Graphique des effets principaux



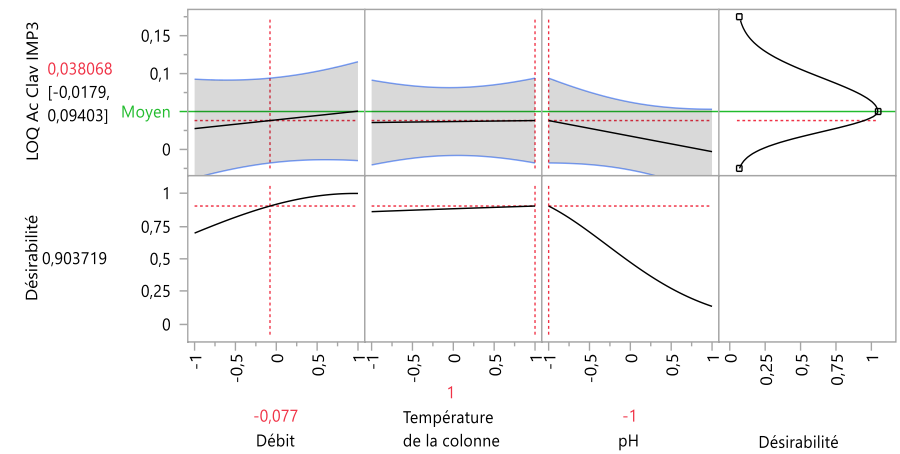
Résumé des effets

Source	LogWorth		P-value
pH	0,697		0,20077
Débit	0,339		0,45856
Température de la colonne	0,031		0,93216

Analyse de la variance

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	3	0,00554190	0,001847	0,8377
Erreur	9	0,01984779	0,002205	Prob. > F
Total corrigé	12	0,02538969		0,5065

Profileur de prévision



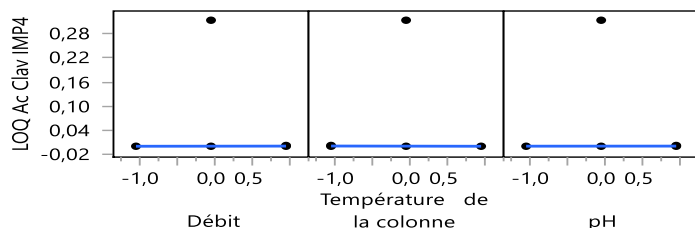
Chapitre II : Résultats

➤ Ajuster le criblage définitif pour % Ac Clav IMP4

Estimations des paramètres du modèle combiné

Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
Constante	0,314	0,0006	518,55	<,0001*
Débit	0,0002	0,0002	1,0445	0,3730
Température de la colonne	-3e-4	0,0002	-1,567	0,2152
pH	0,0001	0,0002	0,5222	0,6376
Débit*Température de la colonne	0,0625	0,0003	225,23	<,0001*
Débit*pH	0,063	0,0003	227,04	<,0001*
Température de la colonne*pH	-0,063	0,0003	-227	<,0001*
Débit*Débit	-0,126	0,0005	-270,9	<,0001*
Température de la colonne*Température de la colonne	-0,126	0,0005	-269,8	<,0001*
pH*pH	-0,125	0,0005	-268,7	<,0001*
Statistique	Valeur			
RMSE	0,0006			
Degrés de liberté	3			

Graphique des effets principaux



Résumé des effets

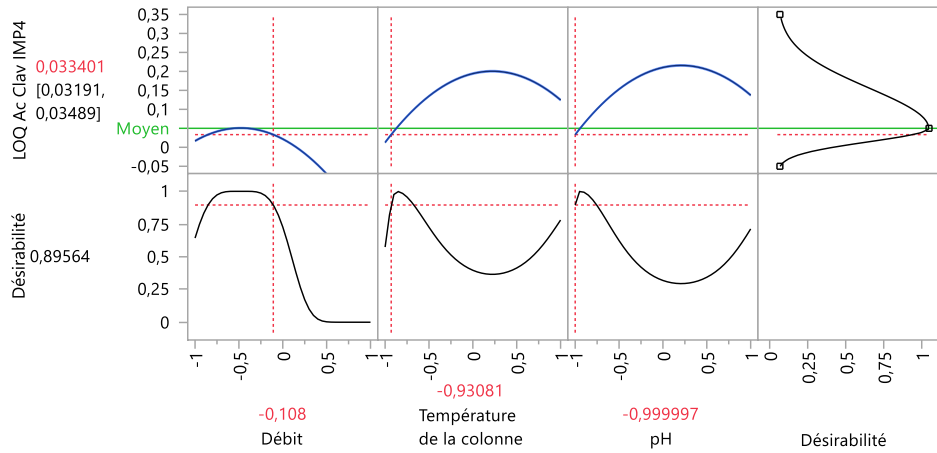
Source	LogWorth		P-value
Débit*Débit	6,955		0,00000
Température de la colonne*Température de la colonne	6,950		0,00000
pH*pH	6,945		0,00000
Débit*pH	6,725		0,00000
Température de la colonne*pH	6,725		0,00000
Débit*Température de la colonne	6,714		0,00000
Température de la colonne	0,667		0,21517
Débit	0,428		0,37302
pH	0,195		0,63762

Analyse de la variance

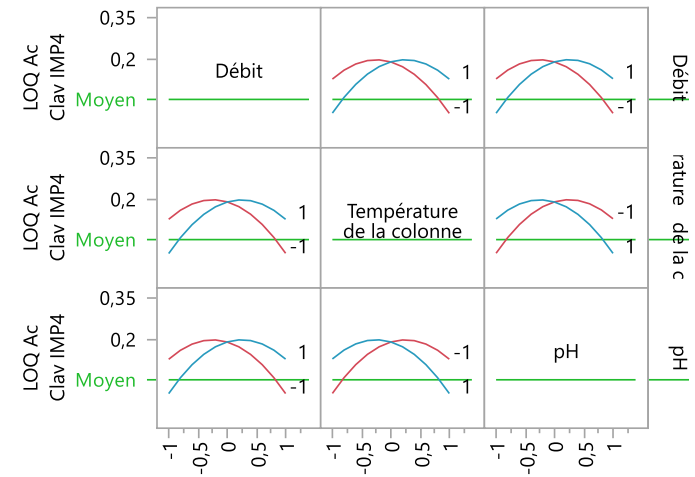
Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F
Modèle	9	0,09086998	0,010097	27536,36
Erreur	3	0,00000110	3,667e-7	Prob. > F
Total corrigé	12	0,09087108		<,0001*

Chapitre II : Résultats

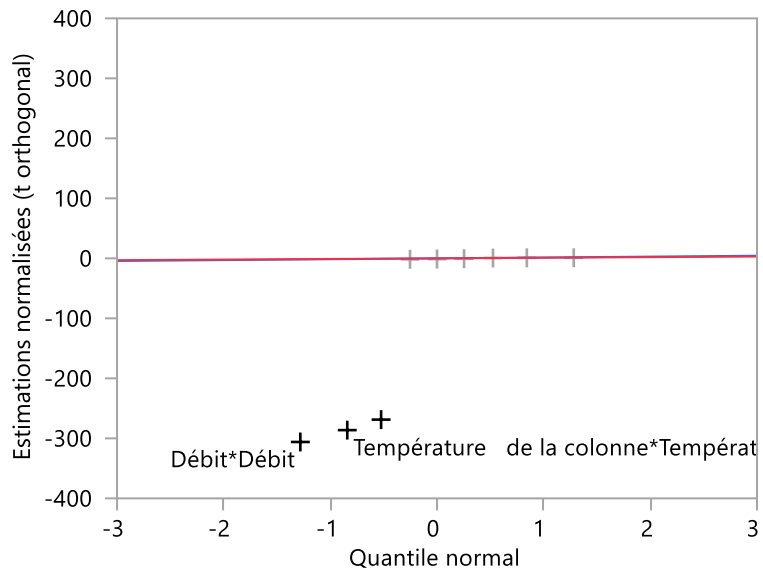
Profil de prévision



Profils d'interaction

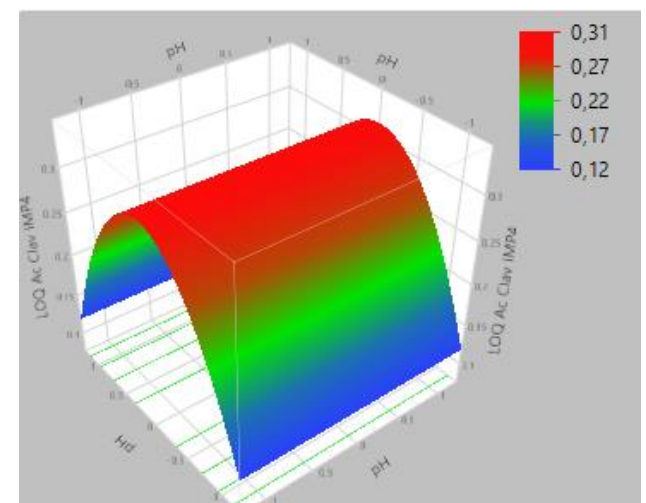
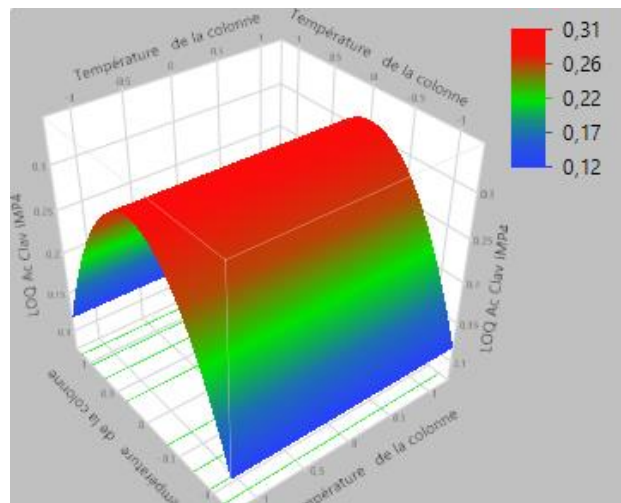
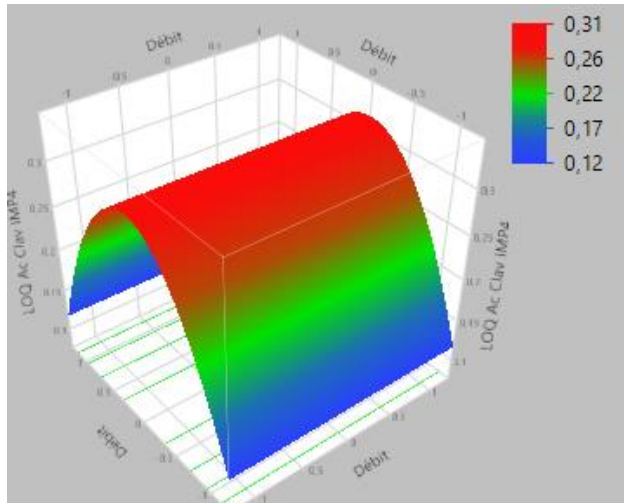


Droite de Henry



Chapitre II : Résultats

Profiteurs de surface



Chapitre II : Résultats

2-4-6 : Etablissement du MODR

L'analyse et le regroupement des résultats ont abouti à création d'un MODR (Figure 63) illustré sous forme d'une région

(Zone blanche) qui respecte les différentes conditions simultanément.

➤ Profilur d'isoréponses

Facteur		X			
Débit		0,945122			
Température de la colonne		-0,371951			
pH		0,097561			
	Réponse	Isoréponses	Y calculé	Lim. inf.	Lim. sup.
—	% E1	0,05	0,0207761	0,001	0,05
—	N Amoxicilline	3000000	3521990,6	2000	6435282
—	N Acide Clavulanique	750000	858735,91	2000	1564966
—	TRR HPG	0,15	0,1680218	0,15	0,306
—	TRR D1	0,25	0,4843034	0,25	0,545
—	TRR D2	0,4	0,6582749	0,381	0,818
—	TRR E 1	1,75	2,0614051	1,75	3,663
—	TRR E 2	2	3,2084264	2	4,455
—	TRR C	2,25	4,0310526	2,25	4,615
—	TRR J	2,5	4,4068636	2,5	5,171
—	% HPG	0,05	0,0031568	0,002	0,1
—	% D1	0,05	0,0716535	0,001	0,123
—	% D2	0,0875	0,1028252	0,001	0,182
—	% E2	0,05	0,0096804	0,001	0,05
—	% C	0,035	0,0433148	0,003	0,05
—	% J	0,075	0,0824797	0,001	0,1
—	TRR Ac Clav IMP2	0,4	0,4720065	0,4	0,649
—	TRR Ac Clav IMP3	1,25	0,8229019	0,19	1,76
—	TRR Ac Clav IMP4	2,5	4,0735552	2,5	4,2
—	% Ac Clav IMP2	0,05	0,0371142	0,001	0,05
—	% Ac Clav IMP3	0,075	0,0422574	0,001	0,05
—	% Ac Clav IMP4	0,15	0,1693317	0,001	0,18

Chapitre II : Résultats

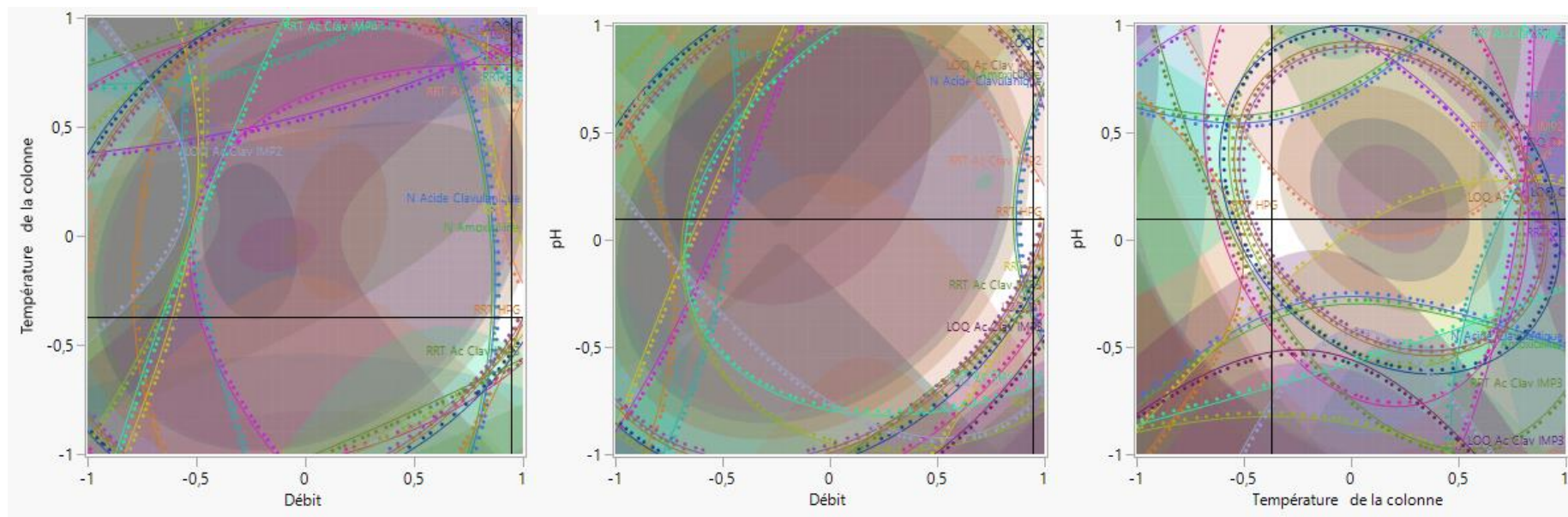


Figure 63 : MODR pour la méthode RP-UHPLC (Dosage des impuretés)

Chapitre II : Résultats

2-5 : Validation de la méthode

Les résultats de la conformité du système et le plan détaillé de la validation de la méthode de dosage sont représentés dans les Tableaux 72 et 73 respectivement.

Les chromatogrammes correspondants à chaque étape sont disponibles en annexe.

Tableau 72 : Résultats de la conformité du système

Critère		Résultat	Critères d'acceptation
RSD de l'aire du pic de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique pour les 5 injections	Amoxicilline	0,055%	NMT 2,0%
	Acide clavulanique	0,076%	
Facteur de trainée du pic de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique	Amoxicilline	0,8	NMT 1,5
	Acide clavulanique	1,2	
Nombre de plateaux théoriques du pic de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique	Amoxicilline	6165	NLT 550
	Acide clavulanique	6048	
Résolution entre le pic de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique		14,3	NLT 3,5

Chapitre II : Résultats

Tableau 73 : Organisation des essais du plan d'étalonnage pour la méthode RP-HPLC (Dosage et uniformité de teneur)

Niveaux de concentrations	Séries	Composés	Quantité théorique des échantillons de validation (mg)	Quantité des échantillons de validation (Pesée) (mg)	Mesurages (Aires des pics)		
					Répétitions		
					1	2	3
1 (60%)	1	Amoxicilline	86,20	86,18	5648186	5629750	5622257
		Acide clavulanique	10,99	10,89	803744	799936	797057
	2	Amoxicilline	86,20	86,30	5658563	5635354	5612263
		Acide clavulanique	10,99	10,85	825089	819673	814296
	3	Amoxicilline	86,20	86,30	5663575	5643366	5616076
		Acide clavulanique	10,99	10,83	787576	781793	781647
2 (80%)	1	Amoxicilline	114,94	115,15	7530981	7523915	7509287
		Acide clavulanique	14,65	14,70	1108471	1107043	1102533
	2	Amoxicilline	114,94	114,91	7538659	7533152	7455868
		Acide clavulanique	14,65	14,60	1092820	1089083	1081639
	3	Amoxicilline	114,94	114,89	7504202	7485751	7502716
		Acide clavulanique	14,65	14,69	1112149	1107972	1102716

Chapitre II : Résultats
(Suite)

(100%)	1	Amoxicilline	143,68	143,31	9463300	9466315	9398172
		Acide clavulanique	18,32	18,80	1427141	1425983	1415690
	2	Amoxicilline	143,68	143,27	9378433	9363174	9345409
		Acide clavulanique	18,32	18,75	1417791	1416768	1410462
	3	Amoxicilline	143,68	143,12	9394941	9336483	9366588
		Acide clavulanique	18,32	18,19	1365971	1368110	1362175
(120%)	1	Amoxicilline	172,41	172,40	11269351	11252063	11254725
		Acide clavulanique	21,98	22,05	1570836	1570423	1565324
	2	Amoxicilline	172,41	172,38	11251341	11252877	11219165
		Acide clavulanique	21,98	22,04	1552356	1539996	1537447
	3	Amoxicilline	172,41	172,41	11265366	11242486	11233101
		Acide clavulanique	21,98	21,90	1577074	1561883	1559453
(140%)	1	Amoxicilline	201,15	201,11	13126968	13132528	13100496
		Acide clavulanique	25,64	25,50	1892612	1890379	1885791
	2	Amoxicilline	201,15	201,20	13180718	13220201	13152497
		Acide clavulanique	25,64	25,70	1959831	1957979	1950928
	3	Amoxicilline	201,15	201,00	13186558	13169924	13130737
		Acide clavulanique	25,64	25,60	1950396	1947171	1940779

Chapitre II : Résultats

Nous avons commencé à analyser les résultats bruts des essais pour l'amoxicilline puis l'acide clavulanique en testant différents modèles mathématiques afin de choisir à la fin le modèle le plus adéquat à utiliser en routine.

2-5-1 : L'amoxicilline

2-5-1-1: Modèle linéaire passant par l'origine

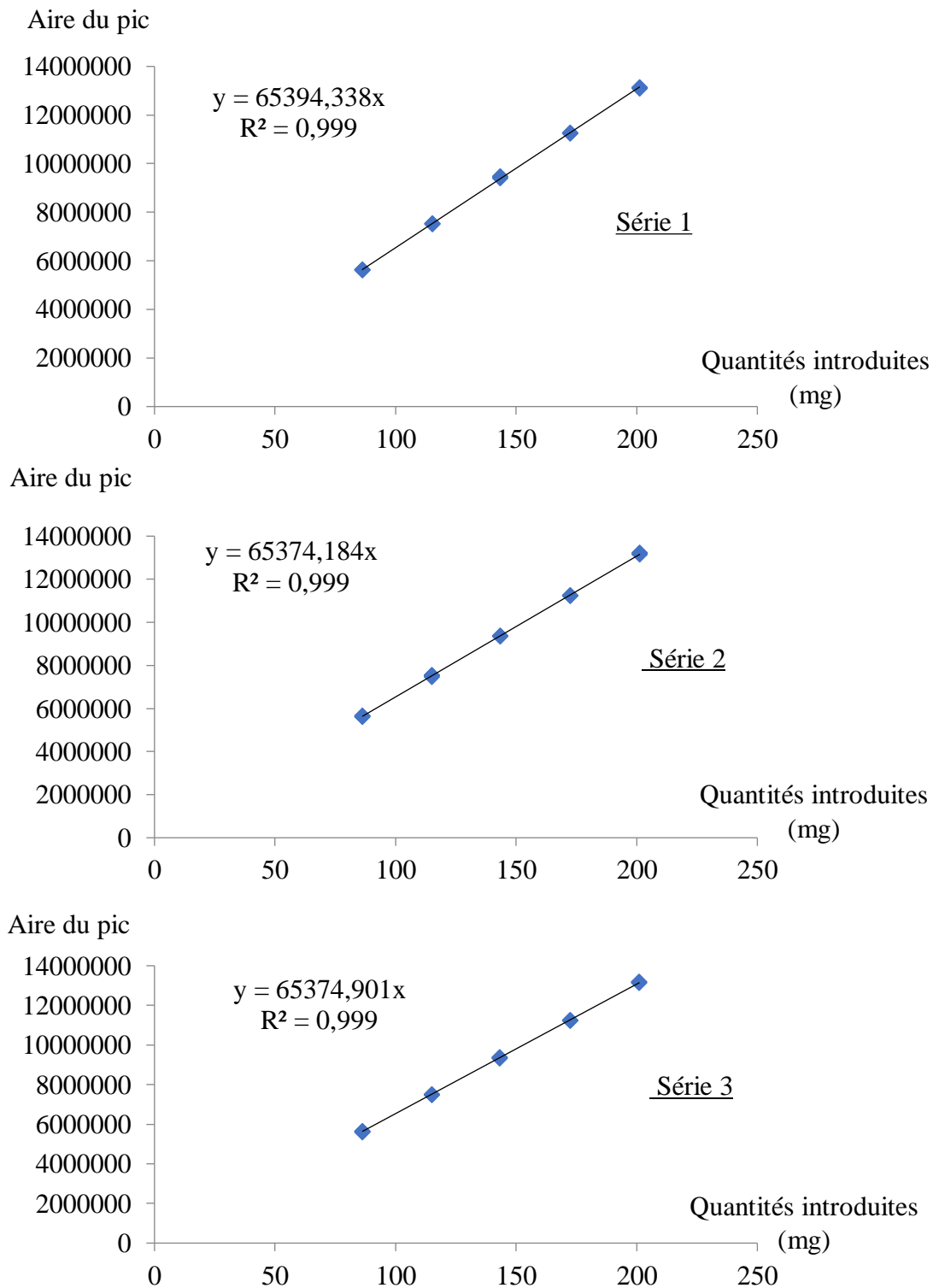
Les pentes et les ordonnées à l'origine calculées pour le modèle en fonction des séries sont représentées dans le Tableau 74.

Tableau74 : Estimations des paramètres du modèle en fonction des séries pour l'amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)

Série 1		Série 2		Série 3	
Pente	65394,338	Pente	65374,184	Pente	65374,901
Ordonnée à l'origine	0	Ordonnée à l'origine	0	Ordonnée à l'origine	0

Chapitre II : Résultats

Les droites d'étalonnage correspondantes sont représentées dans la Figure 64.



Chapitre II : Résultats

Figure 64 : Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la justesse sont regroupés dans le Tableau 75.

Tableau 75 : Critères de justesse pour l'amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)

Niveaux	Répétitions	Biais absolu	Biais relatif	Recouvrement	Exactitude relative			Exactitude relative (Moyenne)
					Série 1	Série 2	Série 3	
1	1	-0,049	-0,056	99,944	0,222	0,297	0,385	0,301
	2				-0,105	-0,114	0,027	-0,064
	3				-0,238	-0,523	-0,457	-0,406
2	1	-0,128	-0,111	99,889	0,011	0,353	-0,089	0,091
	2				-0,083	0,280	-0,335	-0,046
	3				-0,277	-0,749	-0,109	-0,379
3	1	0,391	0,273	100,273	0,978	0,131	0,411	0,507
	2				1,010	-0,032	-0,213	0,255
	3				0,283	-0,222	0,108	0,057
4	1	-0,345	-0,200	99,800	-0,041	-0,158	-0,053	-0,084
	2				-0,194	-0,145	-0,256	-0,198
	3				-0,171	-0,444	-0,339	-0,318
5	1	0,111	0,055	100,055	-0,186	0,209	0,352	0,125
	2				-0,144	0,509	0,225	0,197
	3				-0,387	-0,006	-0,073	-0,156

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la fidélité sont regroupés dans le Tableau 76.

Tableau 76 : Critères de fidélité pour l'amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)

Niveaux	Répétitions	Ecart type de répétabilité	Ecart type intersérie	Ecart type de Fidélité intermédiaire	CV répétabilité	CV fidélité intermédiaire
1	1	0,281	0,000	0,281	0,325	0,325
	2					
	3					
2	1	0,430	0,000	0,399	0,374	0,347
	2					
	3					
3	1	0,451	0,615	0,763	0,315	0,533
	2					
	3					
4	1	0,238	0,000	0,226	0,138	0,131
	2					
	3					
5	1	0,421	0,476	0,636	0,209	0,316
	2					
	3					

Chapitre II : Résultats

Les éléments qui ont servi à tracer le profil d'exactitude (Figure 65) sont résumés dans le Tableau 77.

Tableau 77 : Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)

Niveaux	Quantités introduites (mg)	Répétitions	Erreur totale absolue	Erreur totale relative (%)	Limite de tolérance inférieure (%)	Limite de tolérance supérieure (%)	Biais	Limite d'acceptabilité basse	Limite d'acceptabilité haute
1	86,26	1	0,329	0,382	-0,706	0,594	-0,056	-10	10
		2							
		3							
2	114,98	1	0,527	0,458	-0,804	0,582	-0,111	-10	10
		2							
		3							
3	143,23	1	1,154	0,805	-1,131	1,677	0,273	-10	10
		2							
		3							
4	172,40	1	0,571	0,331	-0,462	0,062	-0,200	-10	10
		2							
		3							
5	201,10	1	0,747	0,371	-0,772	0,882	0,055	-10	10
		2							
		3							

Chapitre II : Résultats

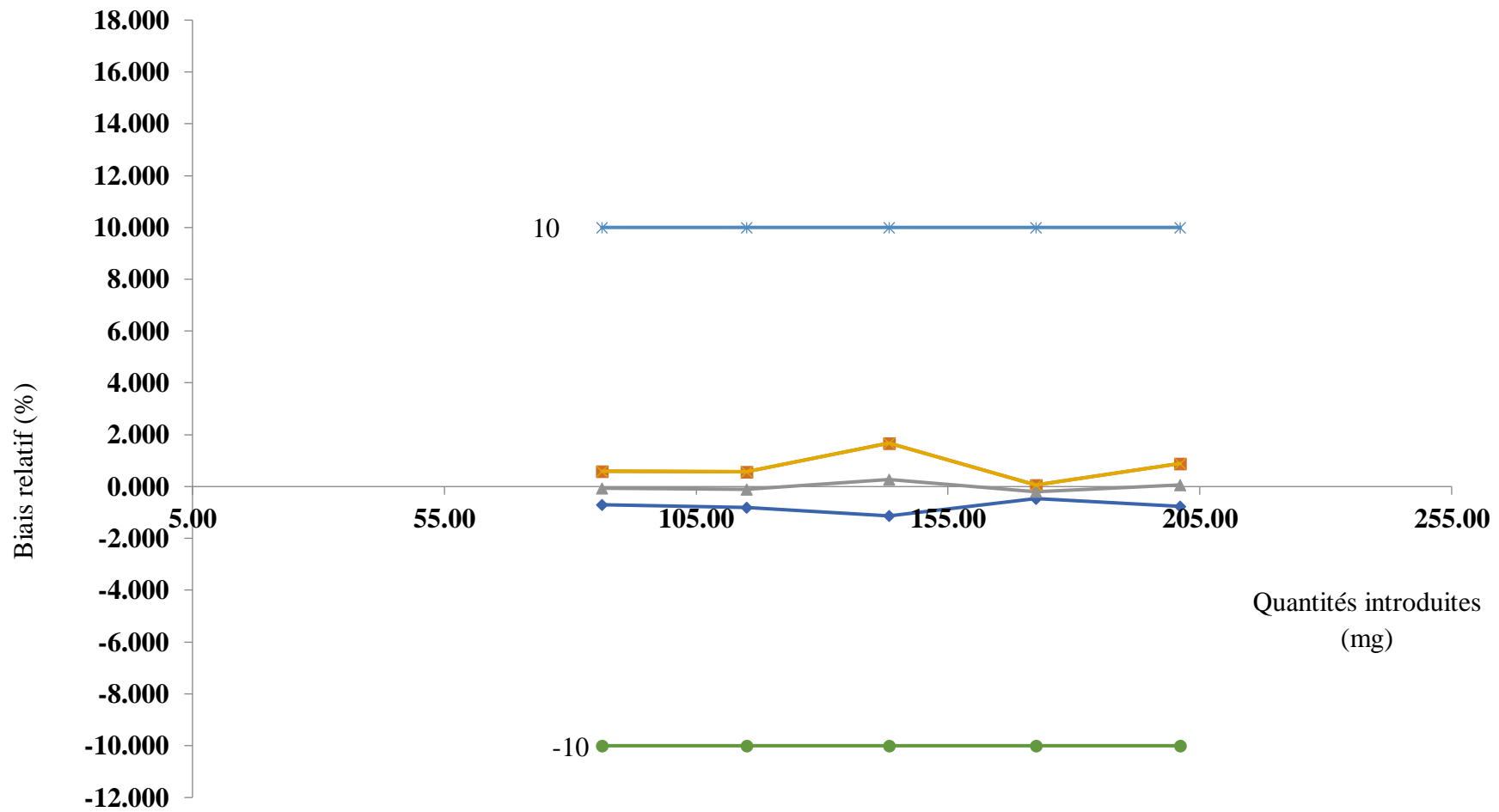


Figure 65 : Profil d'exactitude pour l'amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)

Chapitre II : Résultats

Enfin, nous avons exploré la linéarité du modèle (Quantités prédites= f (Quantités introduites)) en comparant l'ordonnée et la pente de la droite de régression (Figure 66) avec 0 et 1 respectivement (Tableau 78).

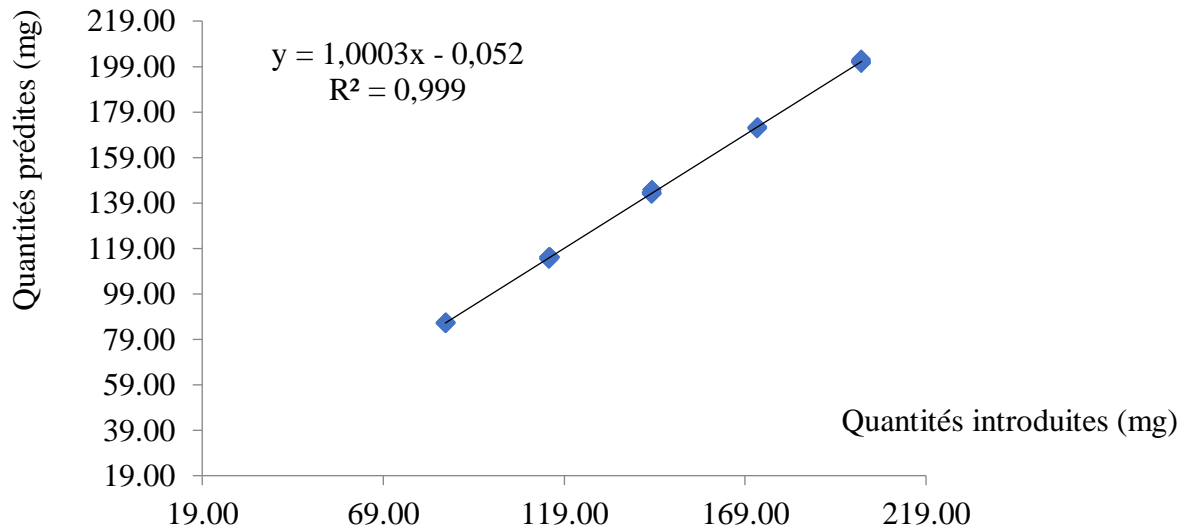


Figure 66 : Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)

Tableau 78 : Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)

Pente	1,0003	Ordonnée	-0,052
Ecart type	0,040	Ecart type	0,277
Variance	0,002	Variance	0,077
Ordonnée non statistiquement différente de 0 (Risque 5%)			
			0,189
t (0,05 ; 43)			2,021
Pente non statistiquement différente de 1 (Risque 5%)			
			0,008
t (0,05 ; 43)			2,021
Courbe de régression valide			
			1,456
F (0,05 ; 3 ; 40)			2,840

Chapitre II : Résultats

2-5-1-2: Modèle linéaire

Les pentes et les ordonnées à l'origine calculées pour le modèle en fonction des séries sont représentées dans le Tableau 79.

Tableau 79 : Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'amoxicilline (Modèle linéaire)

Série 1		Série 2		Série 3	
Pente	65165,148	Pente	65548,698	Pente	65495,516
Ordonnée à l'origine	35549,461	Ordonnée à l'origine	-27067,994	Ordonnée à l'origine	- 18 696,968

Chapitre II : Résultats

Les droites d'étalonnage correspondantes sont représentées dans la Figure 67.

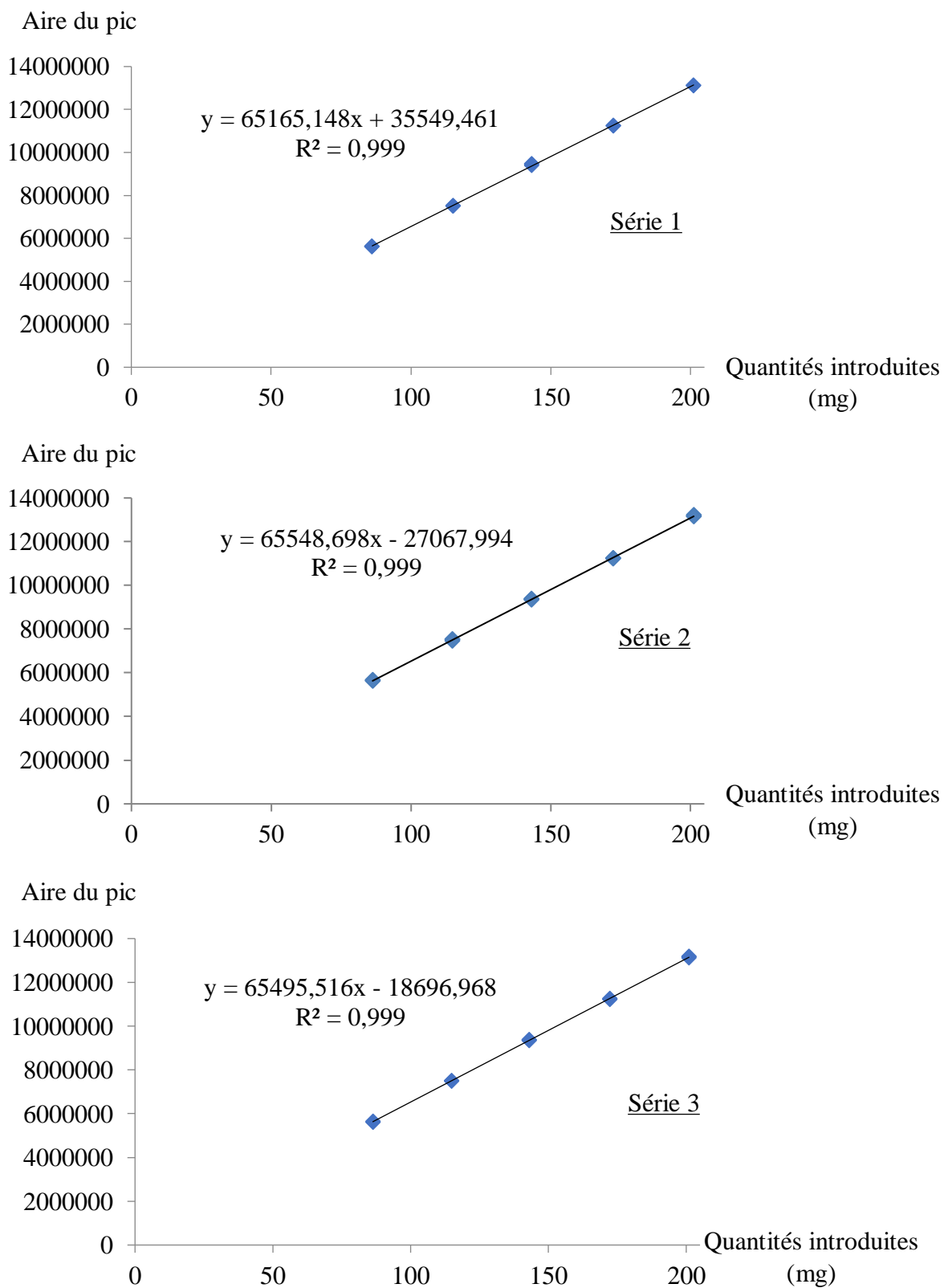


Figure 67 : Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'amoxicilline (Modèle linéaire)

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la justesse sont regroupés dans le Tableau 80.

Tableau 80 : Critères de justesse pour l'amoxicilline (Modèle linéaire)

Niveaux	Répétitions	Biais absolu	Biais relatif	Recouvrement	Exactitude relative			Exactitude relative (Moyenne)
					Série 1	Série 2	Série 3	
1	1	0,000	0,000	100,000	-0,059	0,509	0,621	0,357
	2				-0,387	0,098	0,263	-0,008
	3				-0,520	-0,310	-0,220	-0,350
2	1	-0,088	-0,077	99,923	-0,111	0,445	0,042	0,125
	2				-0,205	0,372	-0,203	-0,012
	3				-0,400	-0,654	0,023	-0,344
3	1	0,422	0,294	100,294	0,952	0,153	0,480	0,528
	2				0,985	-0,010	-0,144	0,277
	3				0,255	-0,199	0,177	0,078
4	1	-0,325	-0,188	99,812	-0,006	-0,185	-0,026	-0,072
	2				-0,160	-0,171	-0,229	-0,187
	3				-0,136	-0,470	-0,312	-0,306
5	1	0,120	0,060	100,060	-0,106	0,147	0,347	0,129
	2				-0,064	0,446	0,221	0,201
	3				-0,308	-0,067	-0,077	-0,151

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la fidélité sont regroupés dans le Tableau 81.

Tableau 81 : Critères de fidélité pour l'amoxicilline (Modèle linéaire)

Niveaux	Répétitions	Ecart type de répétabilité	Ecart type intersérie	Ecart type de Fidélité intermédiaire	CV répétabilité	CV fidélité intermédiaire
1	1	0,316	0,255	0,406	0,400	0,500
	2					
	3					
2	1	0,429	0,000	0,376	0,400	0,300
	2					
	3					
3	1	0,452	0,552	0,714	0,300	0,500
	2					
	3					
4	1	0,237	0,084	0,252	0,100	0,100
	2					
	3					
5	1	0,420	0,309	0,522	0,200	0,300
	2					
	3					

Chapitre II : Résultats

Les éléments qui ont servi à tracer le profil d'exactitude (Figure 68) sont résumés dans le Tableau 82.

Tableau 82 : Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'amoxicilline (Modèle linéaire)

Niveaux	Quantités introduites (mg)	Répétitions	Erreur totale absolue	Erreur totale relative (%)	Limite de tolérance inférieure (%)	Limite de tolérance supérieure (%)	Biais	Limite d'acceptabilité basse	Limite d'acceptabilité haute
1	86,26	1	0,406	0,471	-0,791	0,790	0,000	-10	10
		2							
		3							
2	114,98	1	0,465	0,404	-0,565	0,411	-0,077	-10	10
		2							
		3							
3	143,23	1	1,135	0,793	-0,616	1,205	0,294	-10	10
		2							
		3							
4	172,40	1	0,576	0,334	-0,408	0,032	-0,188	-10	10
		2							
		3							
5	201,10	1	0,642	0,319	-0,357	0,477	0,060	-10	10
		2							
		3							

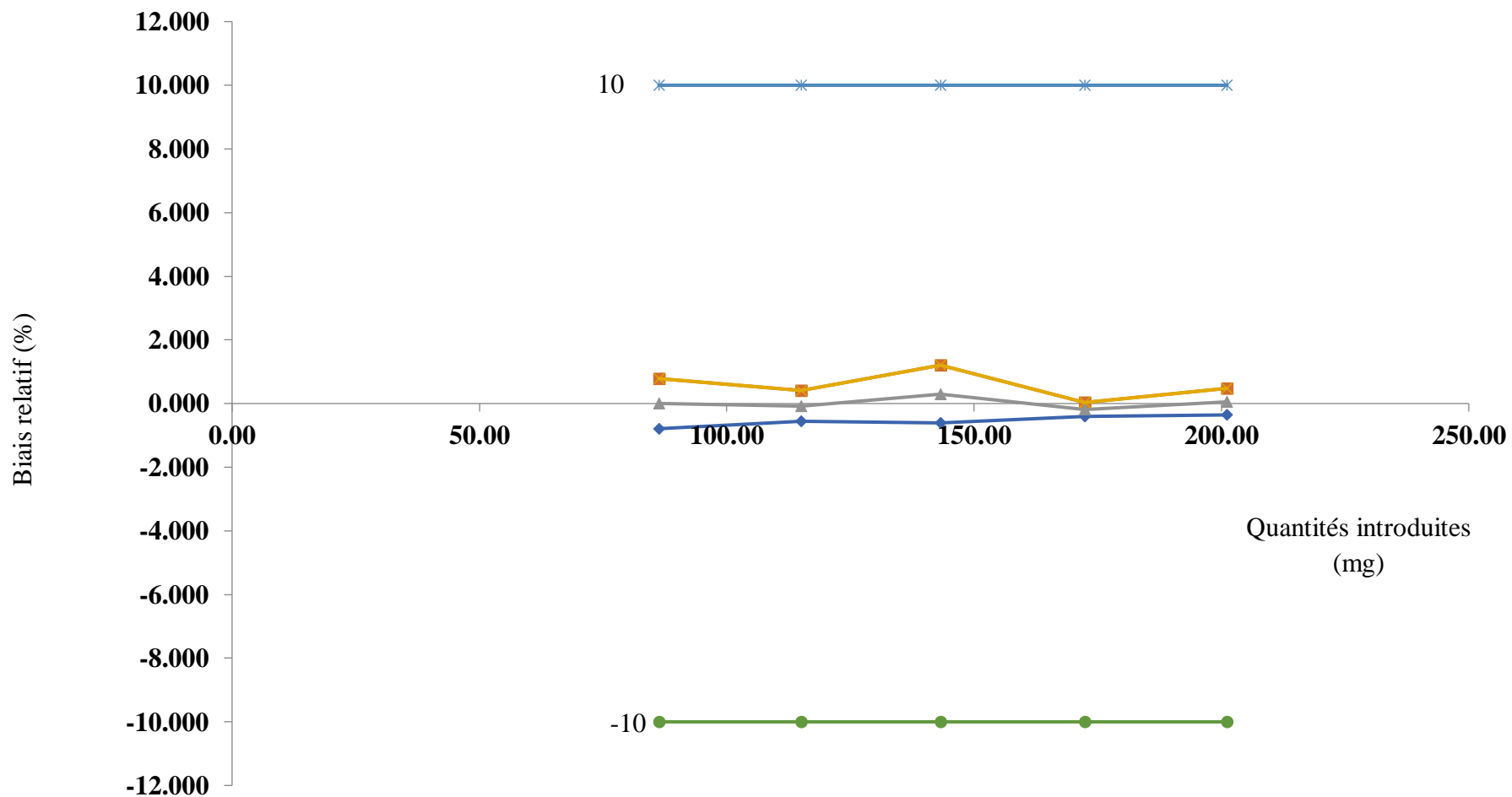


Figure 68 : Profil d'exactitude pour l'amoxicilline (Modèle linéaire)

Chapitre II : Résultats

Enfin, nous avons exploré la linéarité du modèle (Quantités prédites= f (Quantités introduites)) en comparant l'ordonnée et la pente de la droite de régression (Figure 69) avec 0 et 1 respectivement (Tableau 83).

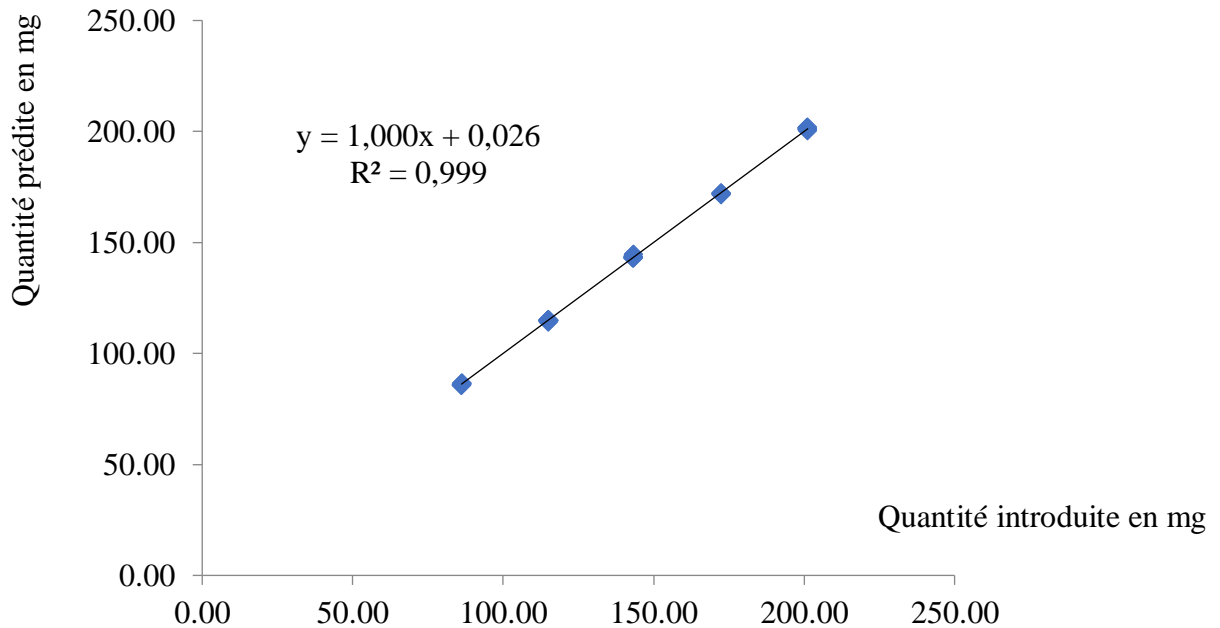


Figure 69 : Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)

Tableau 83 : Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'amoxicilline (Modèle linéaire passant par l'origine)

Pente	1,000	Ordonnée	0,026
Ecart type	0,040	Ecart type	0,270
Variance	0,001	Variance	0,073
Ordonnée non statistiquement différente de 0			
	0,096		
t (0,05 ; 43)	2,021		
Pente non statistiquement différente de 1			
	2,090E-05		
t (0,05 ; 43)	2,021		
Courbe de régression valide			
	1,557		

Chapitre II : Résultats

F (0,05 ; 3 ; 40)	2,840
--------------------------	-------

Chapitre II : Résultats

2-5-1-3 : Après transformation logarithmique des données

Les pentes et les ordonnées à l'origine calculées pour le modèle en fonction des séries sont représentées dans le Tableau 84.

Tableau 84 : Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)

Série 1		Série 2		Série 3	
Pente	0,999	Pente	1,002	Pente	1,001
Ordonnée à l'origine	11,088	Ordonnée à l'origine	11,077	Ordonnée à l'origine	11,080

Chapitre II : Résultats

Les droites d'étalonnage correspondantes sont représentées dans la Figure 70.

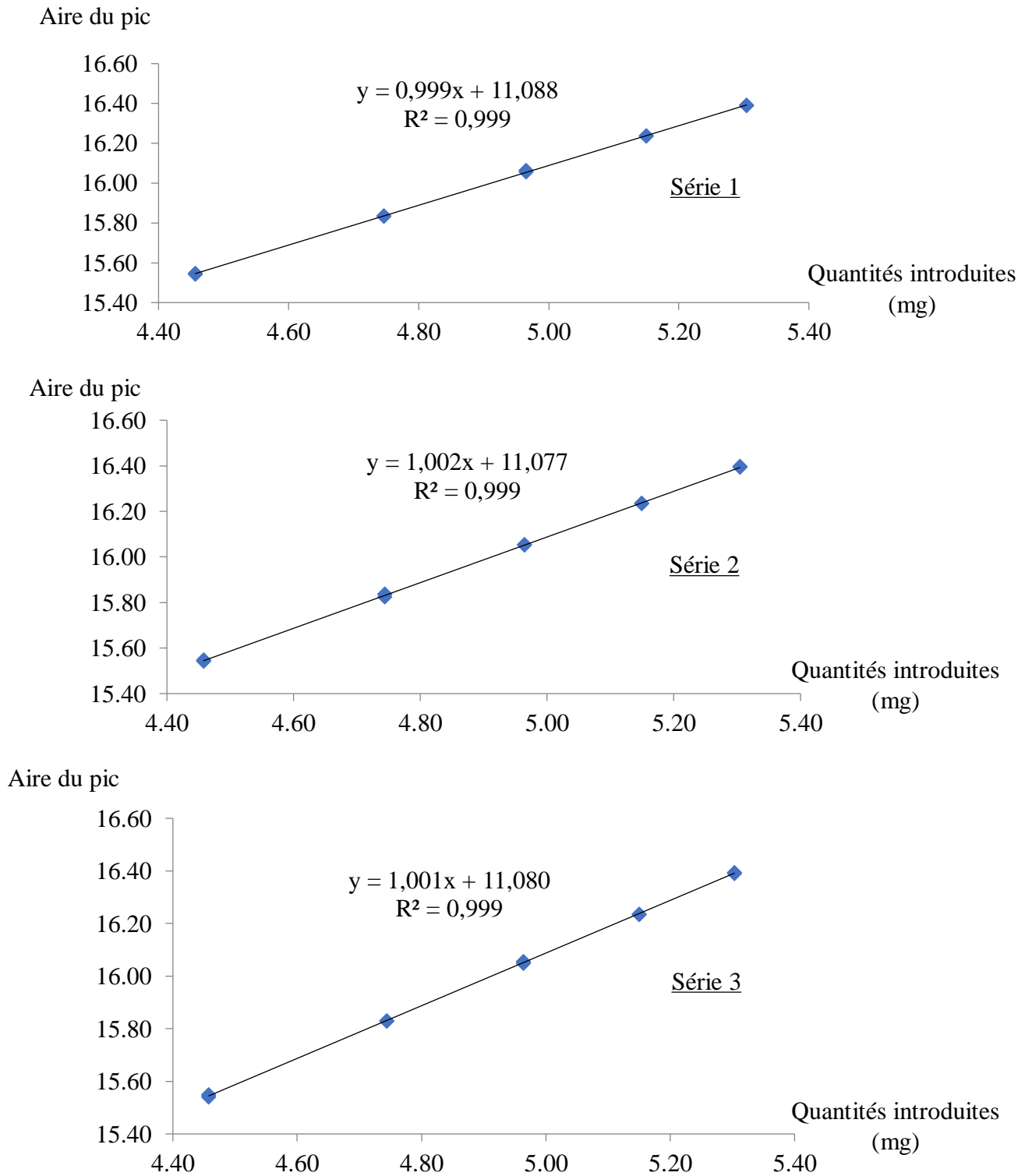


Figure 70 : Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la justesse sont regroupés dans le Tableau 85.

Tableau 85 : Critères de justesse pour l'amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)

Niveaux	Répétitions	Biais absolu	Biais relatif	Recouvrement	Exactitude relative			Exactitude relative (Moyenne)
					Série 1	Série 2	Série 3	
1	1	0,000	0,000	100,000	0,035	0,098	0,108	0,080
	2				-0,039	0,006	0,028	-0,002
	3				-0,068	-0,086	-0,081	-0,078
2	1	-0,001	-0,020	99,980	-0,013	0,091	-0,008	0,023
	2				-0,033	0,075	-0,060	-0,006
	3				-0,074	-0,142	-0,013	-0,076
3	1	0,003	0,052	100,052	0,181	0,032	0,085	0,099
	2				0,187	-0,001	-0,040	0,049
	3				0,041	-0,039	0,025	0,009
4	1	-0,002	-0,046	99,954	-0,024	-0,033	-0,013	-0,023
	2				-0,053	-0,030	-0,053	-0,045
	3				-0,049	-0,089	-0,069	-0,069
5	1	0,000	0,000	100,000	-0,051	0,031	0,058	0,013
	2				-0,043	0,087	0,035	0,026
	3				-0,089	-0,010	-0,022	-0,040

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la fidélité sont regroupés dans le Tableau 86.

Tableau 86 : Critères de fidélité pour l'amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)

Niveaux	Répétitions	Ecart type de répétabilité	Ecart type intersérie	Ecart type de Fidélité intermédiaire	CV répétabilité	CV fidélité intermédiaire
1	1	0,004	0,000	0,004	0,079	0,079
	2					
	3					
2	1	0,004	0,000	0,003	0,079	0,071
	2					
	3					
3	1	0,003	0,004	0,005	0,063	0,097
	2					
	3					
4	1	0,001	0,000	0,001	0,027	0,024
	2					
	3					
5	1	0,002	0,003	0,003	0,039	0,063
	2					
	3					

Chapitre II : Résultats

Les éléments qui ont servi à tracer le profil d'exactitude (Figure 71) sont résumés dans le Tableau 87.

Tableau 87 : Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)

Niveaux	Quantités introduites (mg)	Répétitions	Erreur totale absolue	Erreur totale relative (%)	Limite de tolérance inférieure (%)	Limite de tolérance supérieure (%)	Biais	Limite d'acceptabilité basse	Limite d'acceptabilité haute
1	86,26	1	0,004	0,079	-0,157	0,158	0,000	-10	10
		2							
		3							
2	114,98	1	0,004	0,090	-0,161	0,122	-0,020	-10	10
		2							
		3							
3	143,23	1	0,007	0,149	-0,201	0,306	0,052	-10	10
		2							
		3							
4	172,40	1	0,004	0,070	-0,093	0,002	-0,046	-10	10
		2							
		3							
5	201,10	1	0,003	0,063	-0,165	0,165	0,000	-10	10
		2							
		3							

Chapitre II : Résultats

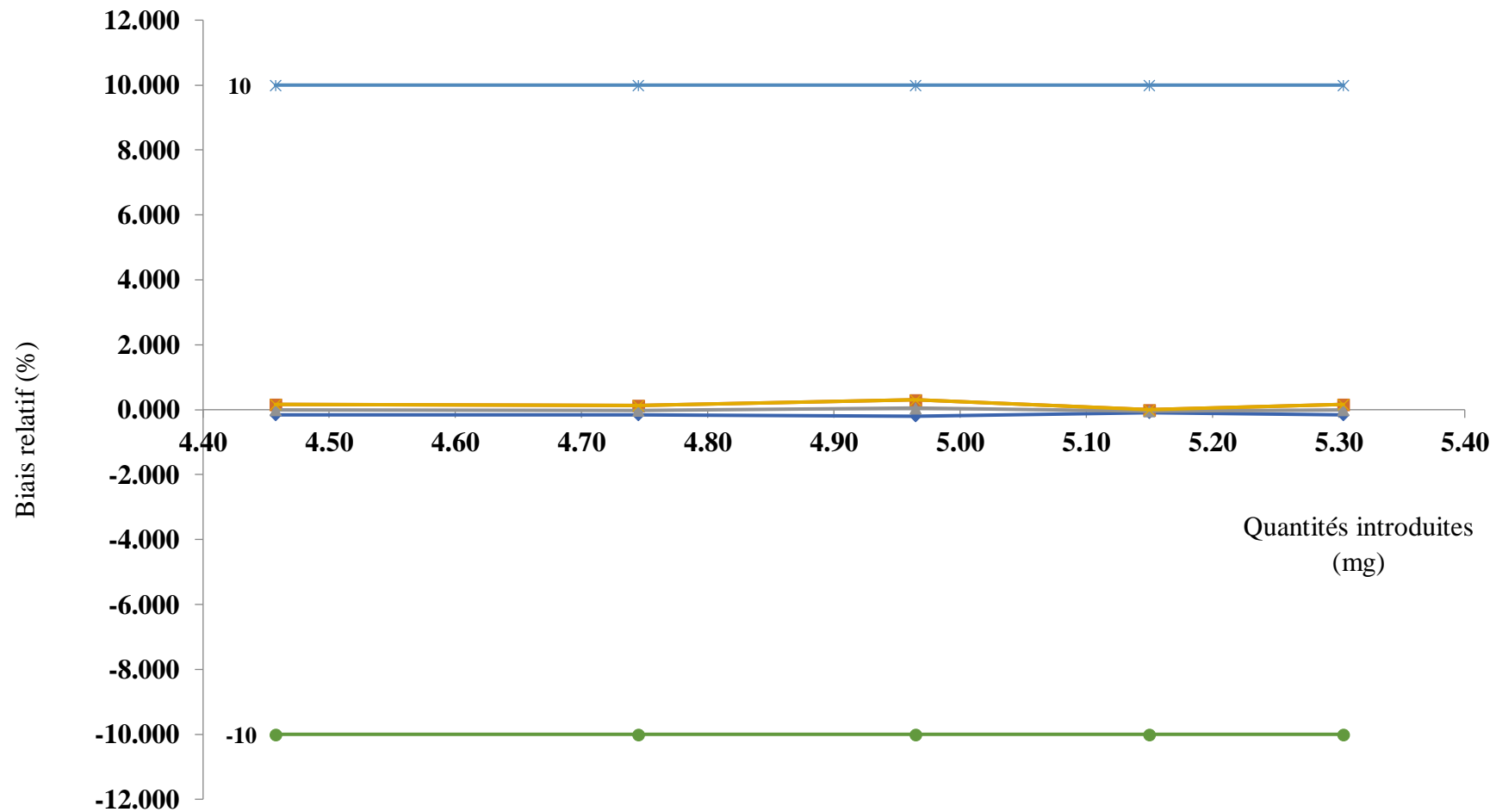


Figure 71 : Profil d'exactitude pour l'amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)

Chapitre II : Résultats

Enfin, nous avons exploré la linéarité du modèle (Quantités prédites= f (Quantités introduites)) en comparant l'ordonnée et la pente de la droite de régression (Figure 72) avec 0 et 1 respectivement (Tableau 88).

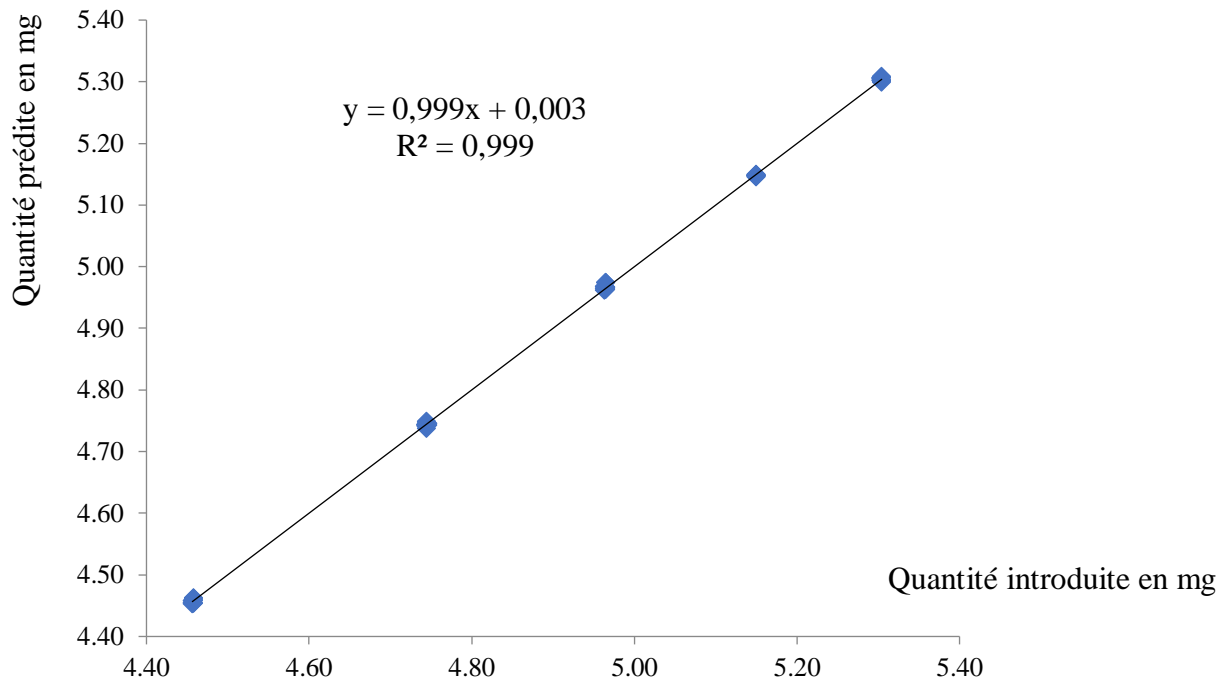


Figure 72 : Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)

Tableau 88 : Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'amoxicilline (Après transformation logarithmique des données)

Pente	0,999	Ordonnée	0,003
Ecart type	0,0003	Ecart type	0,009
Variance	6,699E-08	Variance	7,305E-05
Ordonnée non statistiquement différente de 0			
			0,330
t (0,05 ; 43)			2,021
Pente statistiquement différente de 1			
			2,326E+00
t (0,05 ; 43)			2,021
Courbe de régression valide			
			1,286
F (0,05 ; 3 ; 40)			2,840

Chapitre II : Résultats

2-5-1-4: Après transformation racine carrée des données

Les pentes et les ordonnées à l'origine calculées pour le modèle en fonction des séries sont représentées dans le Tableau 89.

Tableau 89 : Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)

Série 1		Série 2		Série 3	
Pente	255,150	Pente	256,270	Pente	256,080
Ordonnée à l'origine	7,428	Ordonnée à l'origine	-7,381	Ordonnée à l'origine	- 4,981

Chapitre II : Résultats

Les droites d'étalonnage correspondantes sont représentées dans la Figure 73.

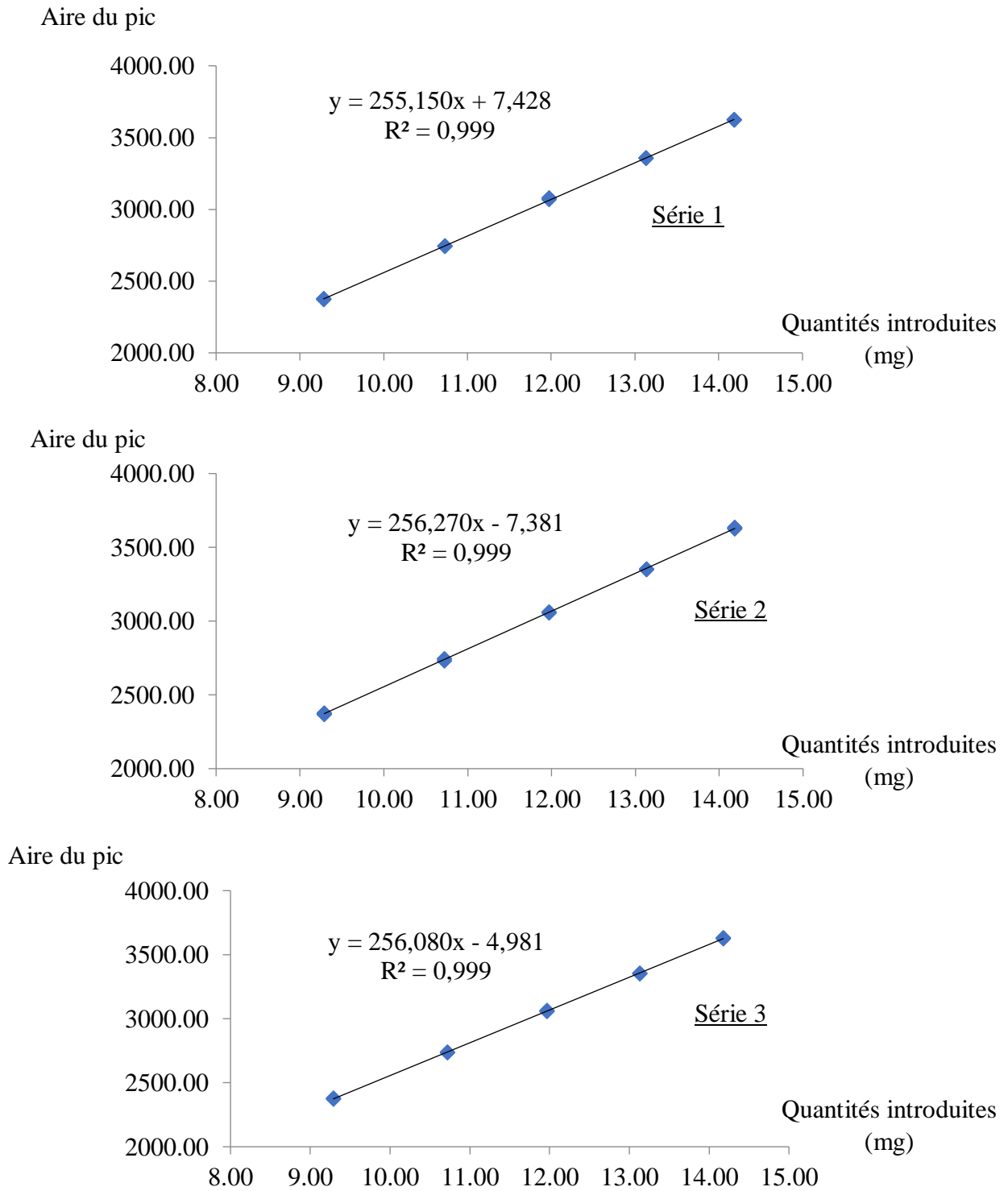


Figure 73 : Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la justesse sont regroupés dans le Tableau 90.

Tableau 90 : Critères de justesse pour l'amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)

Niveaux	Répétitions	Biais absolu	Biais relatif	Recouvrement	Exactitude relative			Exactitude relative (Moyenne)
					Série 1	Série 2	Série 3	
1	1	0,000	0,000	100,000	0,046	0,235	0,255	0,178
	2				-0,118	0,029	0,076	-0,004
	3				-0,184	-0,175	-0,166	-0,175
2	1	-0,005	-0,048	99,952	-0,041	0,217	-0,017	0,053
	2				-0,088	0,181	-0,140	-0,016
	3				-0,186	-0,333	-0,027	-0,182
3	1	0,015	0,129	100,129	0,453	0,076	0,209	0,246
	2				0,469	-0,005	-0,103	0,120
	3				0,107	-0,100	0,058	0,022
4	1	-0,015	-0,117	99,883	-0,046	-0,091	-0,041	-0,059
	2				-0,123	-0,085	-0,142	-0,117
	3				-0,111	-0,234	-0,184	-0,176
5	1	0,000	0,000	100,000	-0,112	0,074	0,147	0,036
	2				-0,091	0,223	0,084	0,072
	3				-0,213	-0,033	-0,065	-0,103

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la fidélité sont regroupés dans le Tableau 91.

Tableau 91 : Critères de fidélité pour l'amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)

Niveaux	Répétitions	Ecart type de répétabilité	Ecart type intersérie	Ecart type de Fidélité intermédiaire	CV répétabilité	CV fidélité intermédiaire
1	1	0,017	0,004	0,017	0,183	0,188
	2					
	3					
2	1	0,020	0,000	0,018	0,187	0,167
	2					
	3					
3	1	0,019	0,022	0,029	0,157	0,245
	2					
	3					
4	1	0,009	0,000	0,008	0,069	0,063
	2					
	3					
5	1	0,015	0,016	0,022	0,104	0,153
	2					
	3					

Chapitre II : Résultats

Les éléments qui ont servi à tracer le profil d'exactitude (Figure 74) sont résumés dans le Tableau 92.

Tableau 92 : Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)

Niveaux	Quantités introduites (mg)	Répétitions	Erreur totale absolue	Erreur totale relative (%)	Limite de tolérance inférieure (%)	Limite de tolérance supérieure (%)	Biais	Limite d'acceptabilité basse	Limite d'acceptabilité haute
1	86,26	1	0,018	0,189	-0,283	0,282	0,000	-10	10
		2							
		3							
2	114,98	1	0,023	0,215	-0,297	0,201	-0,048	-10	10
		2							
		3							
3	143,23	1	0,045	0,374	-0,317	0,576	0,129	-10	10
		2							
		3							
4	172,40	1	0,024	0,181	-0,212	-0,023	-0,117	-10	10
		2							
		3							
5	201,10	1	0,022	0,154	-0,276	0,279	0,002	-10	10
		2							
		3							

Chapitre II : Résultats

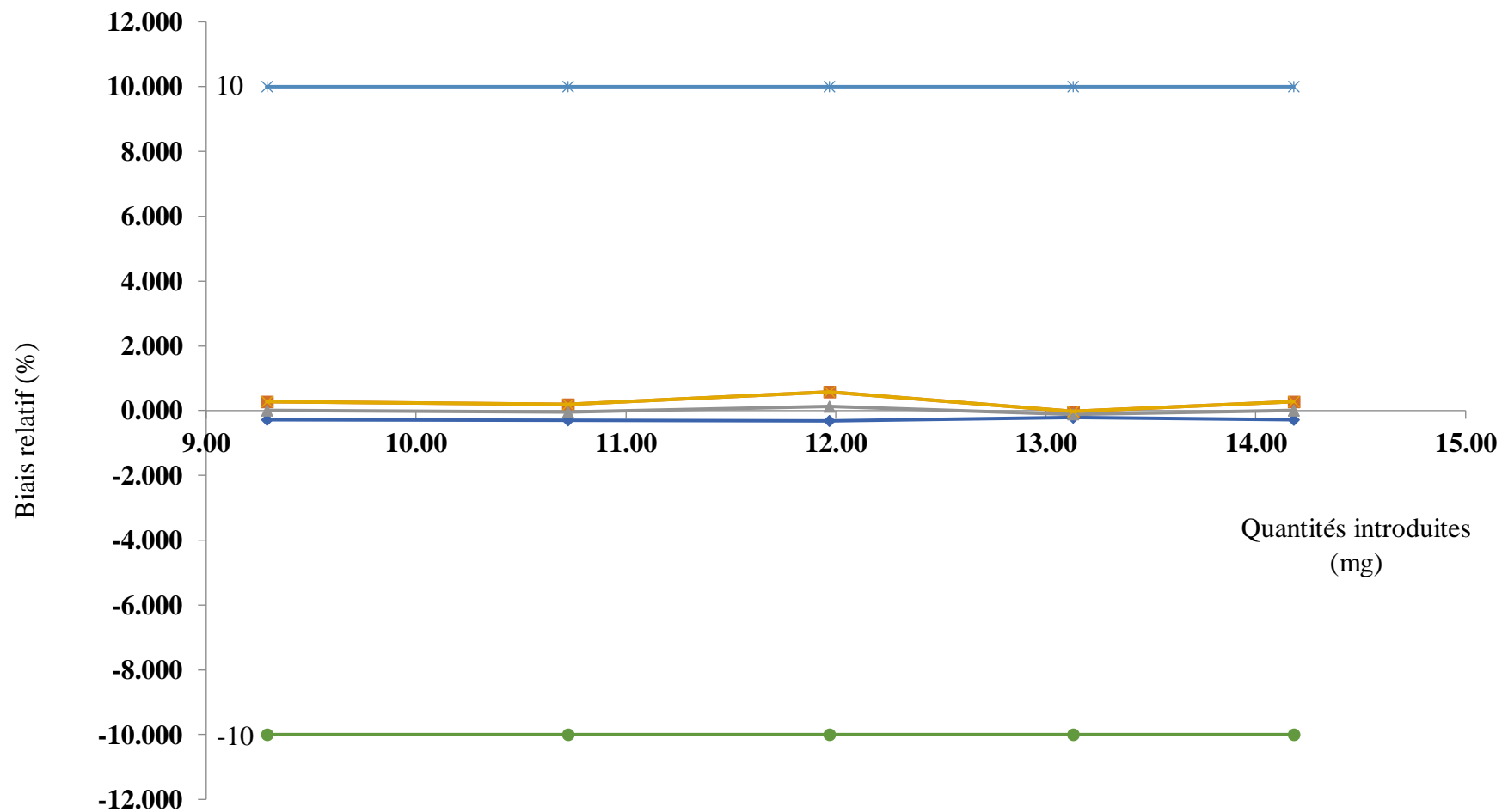


Figure 74 : Profil d'exactitude pour l'amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)

Chapitre II : Résultats

Enfin, nous avons exploré la linéarité du modèle (Quantités prédites= f (Quantités introduites)) en comparant l'ordonnée et la pente de la droite de régression (Figure 75) avec 0 et 1 respectivement (Tableau 93).

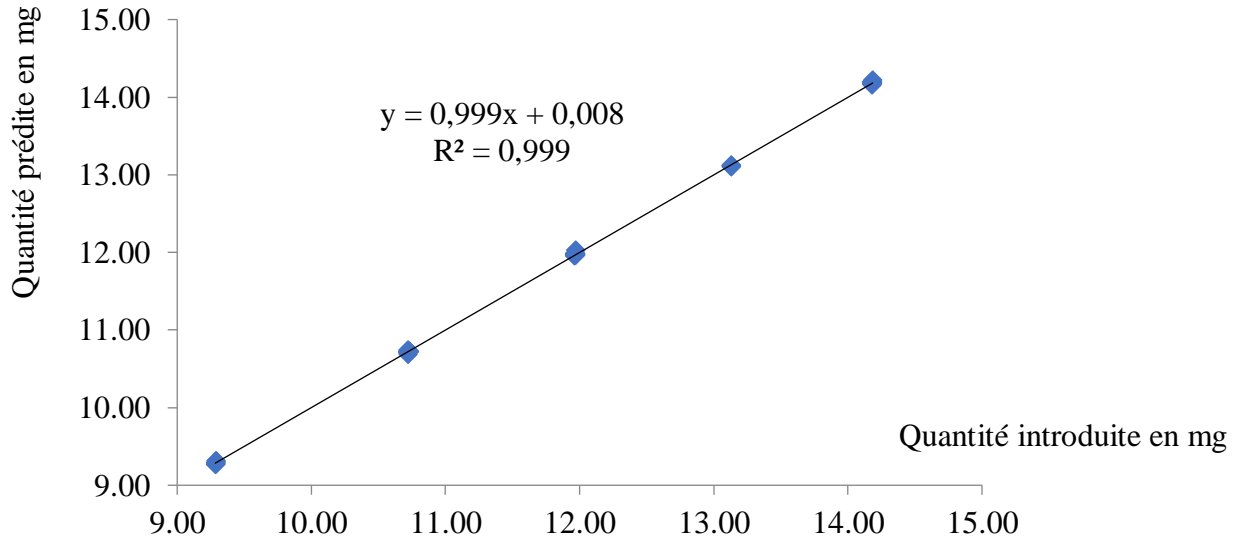


Figure 75 : Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)

Tableau 93 : Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'amoxicilline (Après transformation racine carrée des données)

Pente	0,999	Ordonnée	0,008
Ecart type	0,002	Ecart type	0,021
Variance	2,399E-06	Variance	0,0004
Ordonnée non statistiquement différente de 0			
	0,381		
t (0,05 ; 43)	2,021		
Pente non statistiquement différente de 1			
	4,916E-01		
t (0,05 ; 43)	2,021		
Courbe de régression valide			
	1,449		
F (0,05 ; 3 ; 40)	2,840		

Chapitre II : Résultats

2-5-2 : L'acide clavulanique

2-5-2-1: Modèle linéaire passant par l'origine

Les pentes et les ordonnées à l'origine calculées pour le modèle en fonction des séries sont représentées dans le Tableau 94.

Tableau 94 : Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'acide clavulanique
(Modèle linéaire passant par l'origine)

Série 1		Série 2		Série 3	
Pente	73717,113	Pente	74149,346	Pente	74329,642
Ordonnée à l'origine	0	Ordonnée à l'origine	0	Ordonnée à l'origine	0

Chapitre II : Résultats

Les droites d'étalonnage correspondantes sont représentées dans la Figure 76.

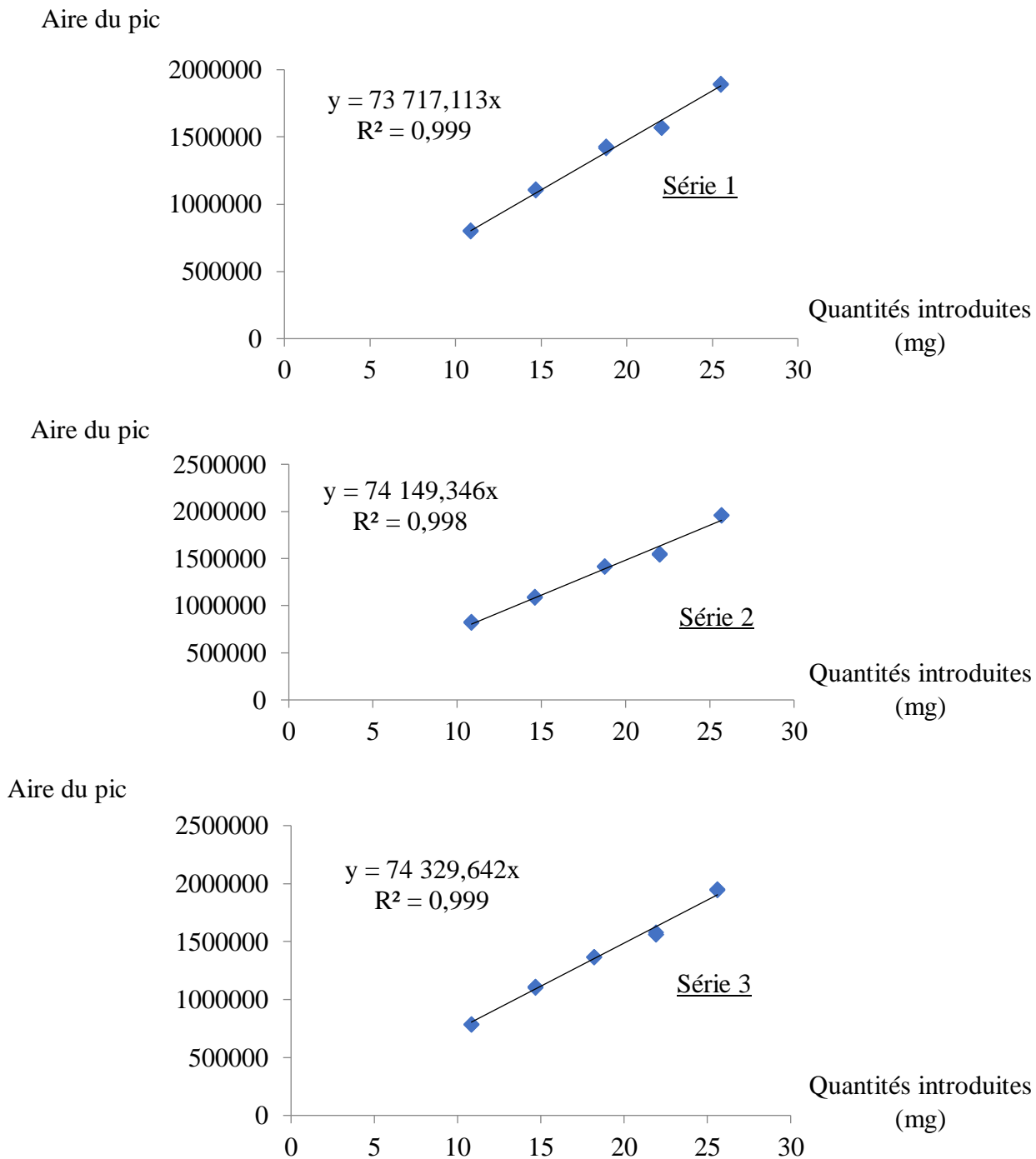


Figure 76 : Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la justesse sont regroupés dans le Tableau 95.

Tableau 95 : Critères de justesse pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)

Niveaux	Répétitions	Biais absolu	Biais relatif	Recouvrement	Exactitude relative			Exactitude relative (Moyenne)
					Série 1	Série 2	Série 3	
1	1	-0,039	-0,358	99,642	0,120	2,557	-2,163	0,171
	2				-0,354	1,883	-2,882	-0,451
	3				-0,713	1,215	-2,900	-0,799
2	1	0,195	1,332	101,332	2,291	0,946	1,854	1,697
	2				2,160	0,601	1,472	1,411
	3				1,743	-0,087	0,990	0,882
3	1	0,339	1,822	101,822	2,977	1,977	1,029	1,995
	2				2,894	1,904	1,187	1,995
	3				2,151	1,450	0,748	1,450
4	1	-0,942	-4,281	95,719	-3,361	-5,011	-3,117	-3,830
	2				-3,386	-5,768	-4,051	-4,401
	3				-3,700	-5,923	-4,200	-4,608
5	1	0,466	1,820	101,820	0,682	2,844	2,499	2,008
	2				0,564	2,747	2,330	1,880
	3				0,319	2,377	1,994	1,563

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la fidélité sont regroupés dans le Tableau 96.

Tableau 96 : Critères de fidélité pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)

Niveaux	Répétitions	Ecart type de répétabilité	Ecart type intersérie	Ecart type de Fidélité intermédiaire	CV répétabilité	CV fidélité intermédiaire
1	1	0,056	0,256	0,262	0,517	2,411
	2					
	3					
2	1	0,062	0,166	0,178	0,426	1,212
	2					
	3					
3	1	0,063	0,486	0,490	0,338	2,640
	2					
	3					
4	1	0,100	0,228	0,249	0,453	1,131
	2					
	3					
5	1	0,059	0,387	0,391	0,232	1,528
	2					
	3					

Chapitre II : Résultats

Les éléments qui ont servi à tracer le profil d'exactitude (Figure 77) sont résumés dans le Tableau 97.

Tableau 97 : Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)

Niveaux	Quantités introduites (mg)	Répétitions	Erreur totale absolue	Erreur totale relative (%)	Limite de tolérance inférieure (%)	Limite de tolérance supérieure (%)	Biais	Limite d'acceptabilité basse	Limite d'acceptabilité haute
1	10,86	1	0,301	2,770	-8,457	7,741	-0,358	-10	10
		2							
		3							
2	14,66	1	0,373	2,544	-2,714	5,378	1,332	-10	10
		2							
		3							
3	18,58	1	0,829	4,462	-7,066	10,710	1,822	-10	10
		2							
		3							
4	22,00	1	1,190	5,411	-8,041	-0,520	-4,281	-10	10
		2							
		3							
5	25,60	1	0,857	3,348	-3,320	6,961	1,820	-10	10
		2							
		3							

Chapitre II : Résultats

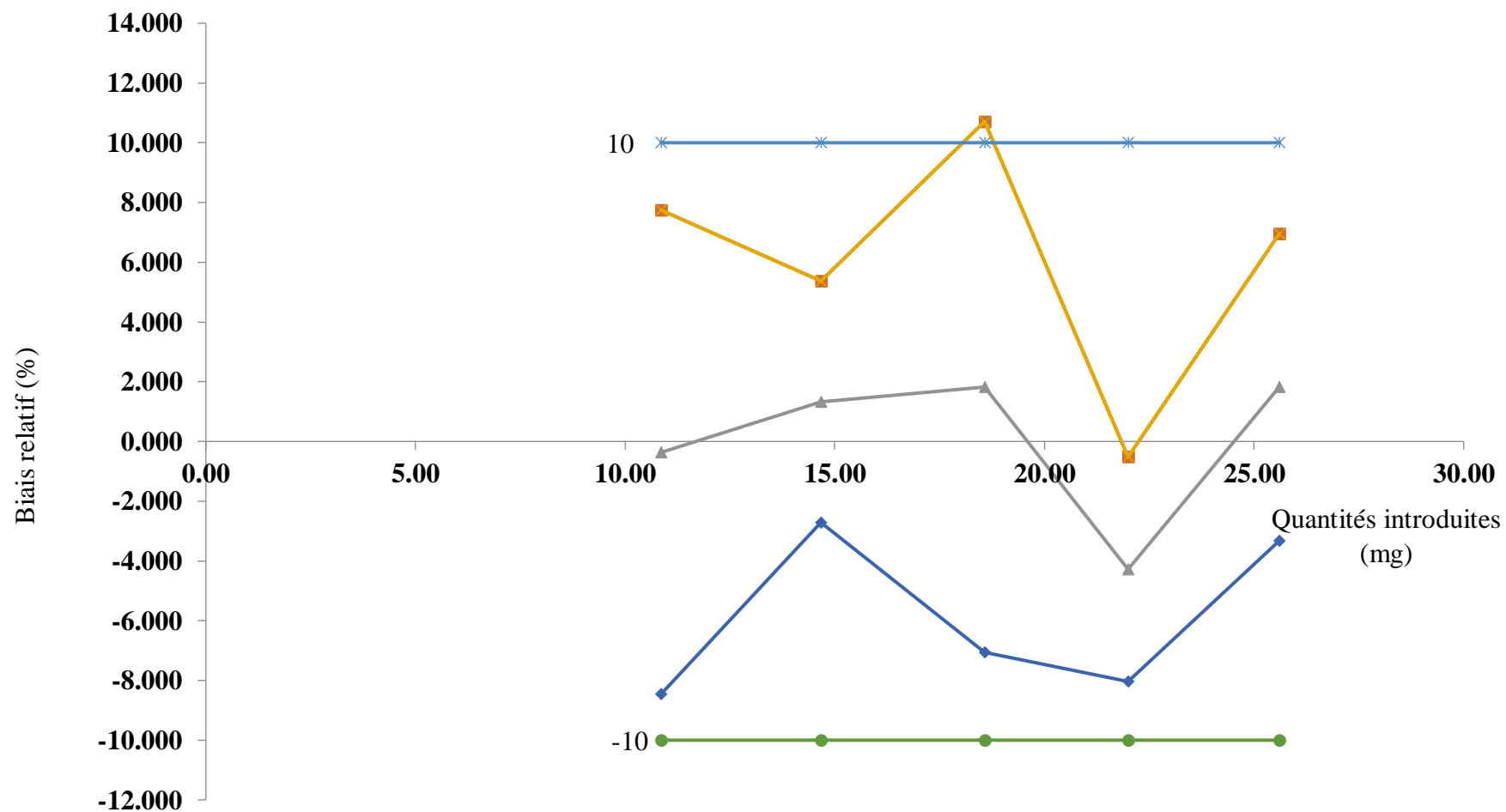


Figure 77 : Profil d'exactitude pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)

Chapitre II : Résultats

Enfin, nous avons exploré la linéarité du modèle (Quantités prédites= f (Quantités introduites)) en comparant l'ordonnée et la pente de la droite de régression (Figure 78) avec 0 et 1 respectivement (Tableau 98).

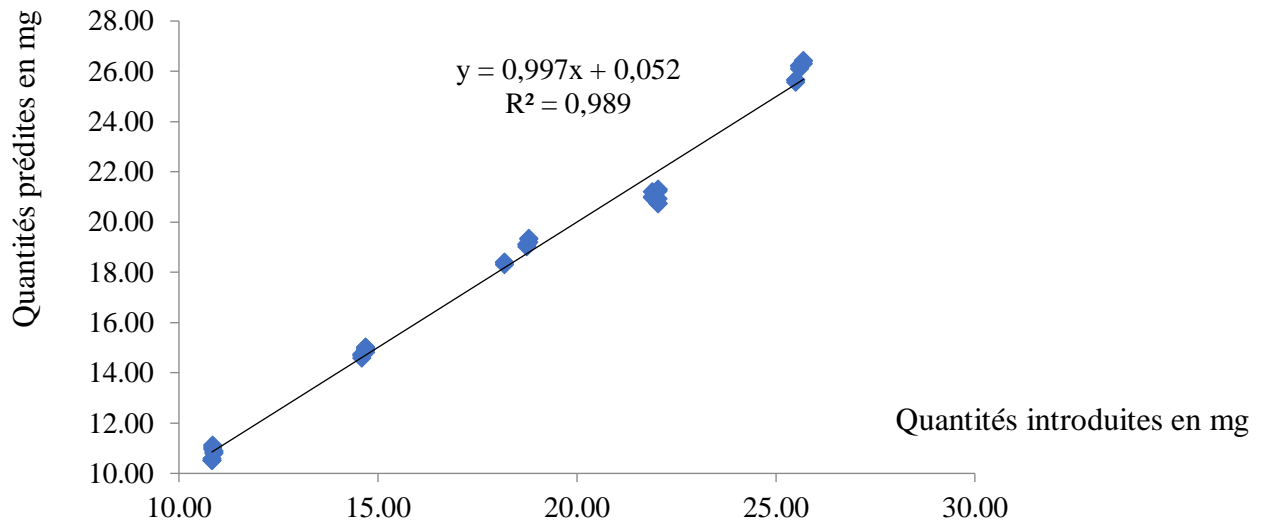


Figure 78 : Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)

Tableau 98 : Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire passant par l'origine)

Pente	0,997	Ordonnée	0,052
Ecart type	0,370	Ecart type	0,299
Variance	0,137	Variance	0,089
Ordonnée non statistiquement différente de 0			
			0,173
t (0,05 ; 43)			2,021
Pente non statistiquement différente de 1			
			7,048E-03
t (0,05 ; 43)			2,021
Courbe de régression non valide			
			31,508
F (0,05 ; 3 ; 40)			2,840

Chapitre II : Résultats

2-5-2-2: Modèle linéaire

Les pentes et les ordonnées à l'origine calculées pour le modèle en fonction des séries sont représentées dans le Tableau 99.

Tableau 99 : Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire)

Série 1		Série 2		Série 3	
Pente	72330,558	Pente	73515,336	Pente	75768,117
Ordonnée à l'origine	27516,561	Ordonnée à l'origine	12610,531	Ordonnée à l'origine	-28370,988

Chapitre II : Résultats

Les droites d'étalonnage correspondantes sont représentées dans la Figure 79.

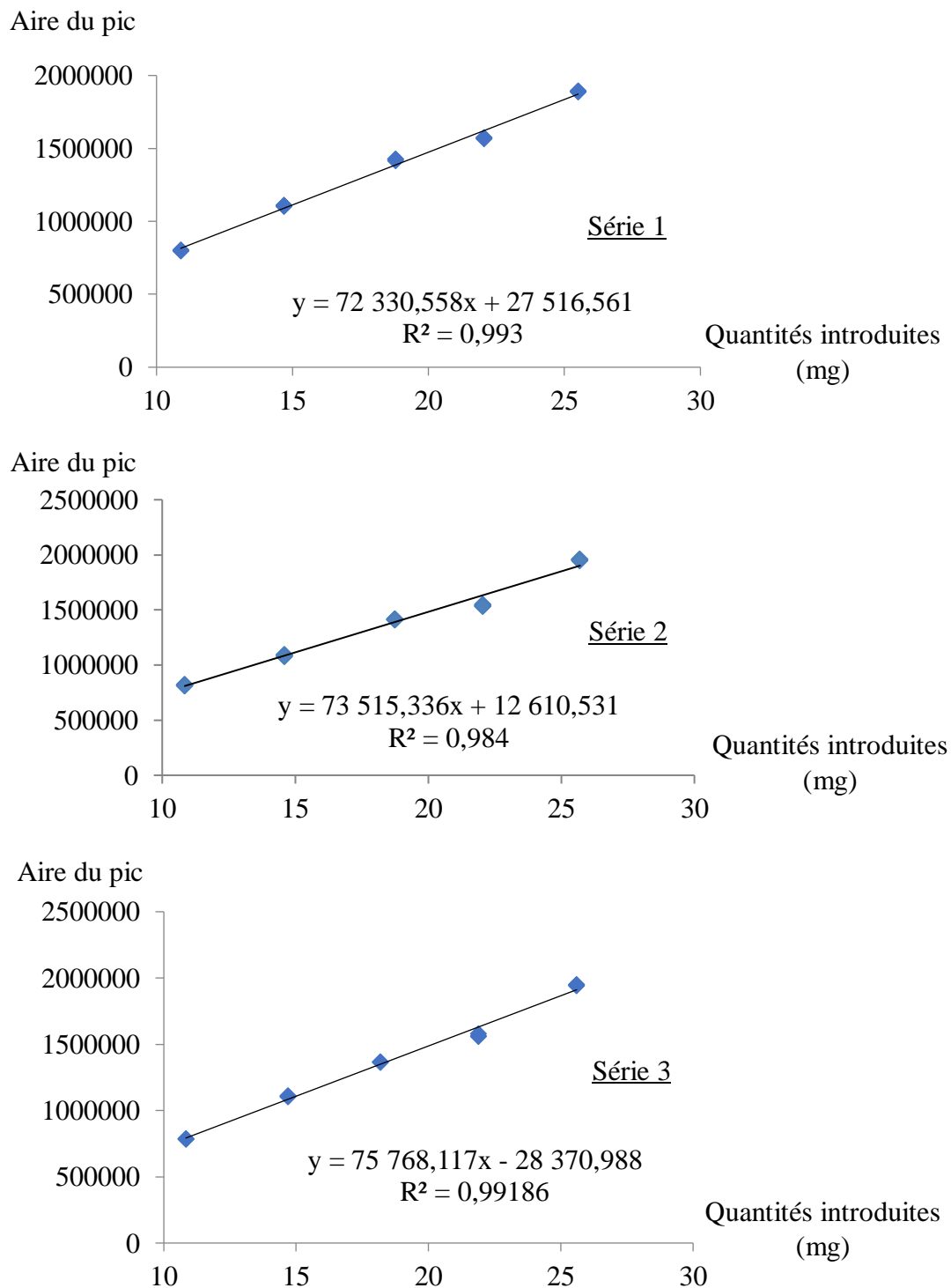


Figure 79 : Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire)

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la justesse sont regroupés dans le Tableau 100.

Tableau 100 : Critères de justesse pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire)

Niveaux	Répétitions	Biais absolu	Biais relatif	Recouvrement	Exactitude relative			Exactitude relative (Moyenne)
					Série 1	Série 2	Série 3	
1	1	-0,107	-0,981	99,019	-1,454	1,860	-1,752	-0,449
	2				-1,937	1,181	-2,457	-1,071
	3				-2,303	0,507	-2,475	-1,423
2	1	0,137	0,934	100,934	1,664	0,642	1,593	1,300
	2				1,530	0,293	1,218	1,014
	3				1,106	-0,400	0,746	0,484
3	1	0,298	1,606	101,606	2,928	1,942	0,462	1,777
	2				2,842	1,868	0,617	1,776
	3				2,086	1,410	0,186	1,227
4	1	-0,981	-4,461	95,539	-3,233	-4,970	-3,835	-4,013
	2				-3,259	-5,733	-4,750	-4,581
	3				-3,579	-5,890	-4,897	-4,789
5	1	0,438	1,710	101,710	1,120	3,063	1,513	1,899
	2				0,999	2,965	1,347	1,771
	3				0,751	2,592	1,017	1,453

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la fidélité sont regroupés dans le Tableau 101.

Tableau 101 : Critères de fidélité pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire)

Niveaux	Répétitions	Ecart type de répétabilité	Ecart type intersérie	Ecart type de Fidélité intermédiaire	CV répétabilité	CV fidélité intermédiaire
1	1	0,056	0,201	0,208	0,500	1,900
	2					
	3					
2	1	0,063	0,148	0,161	0,400	1,100
	2					
	3					
3	1	0,063	0,539	0,543	0,300	2,900
	2					
	3					
4	1	0,099	0,253	0,272	0,500	1,200
	2					
	3					
5	1	0,059	0,358	0,363	0,200	1,400
	2					
	3					

Chapitre II : Résultats

Les éléments qui ont servi à tracer le profil d'exactitude (Figure 80) sont résumés dans le Tableau 102.

Tableau 102 : Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire)

Niveaux	Quantités introduites (mg)	Répétitions	Erreur totale absolue	Erreur totale relative (%)	Limite de tolérance inférieure (%)	Limite de tolérance supérieure (%)	Biais	Limite d'acceptabilité basse	Limite d'acceptabilité haute
1	10,86	1	0,315	2,901	-5,134	3,172	-0,981	-10	10
		2							
		3							
2	14,66	1	0,298	2,032	-1,427	3,295	0,934	-10	10
		2							
		3							
3	18,58	1	0,842	4,529	-4,751	7,963	1,606	-10	10
		2							
		3							
4	22,00	1	1,253	5,695	-7,118	-1,803	-4,461	-10	10
		2							
		3							
5	25,60	1	0,800	3,127	-1,367	4,788	1,710	-10	10
		2							
		3							

Chapitre II : Résultats

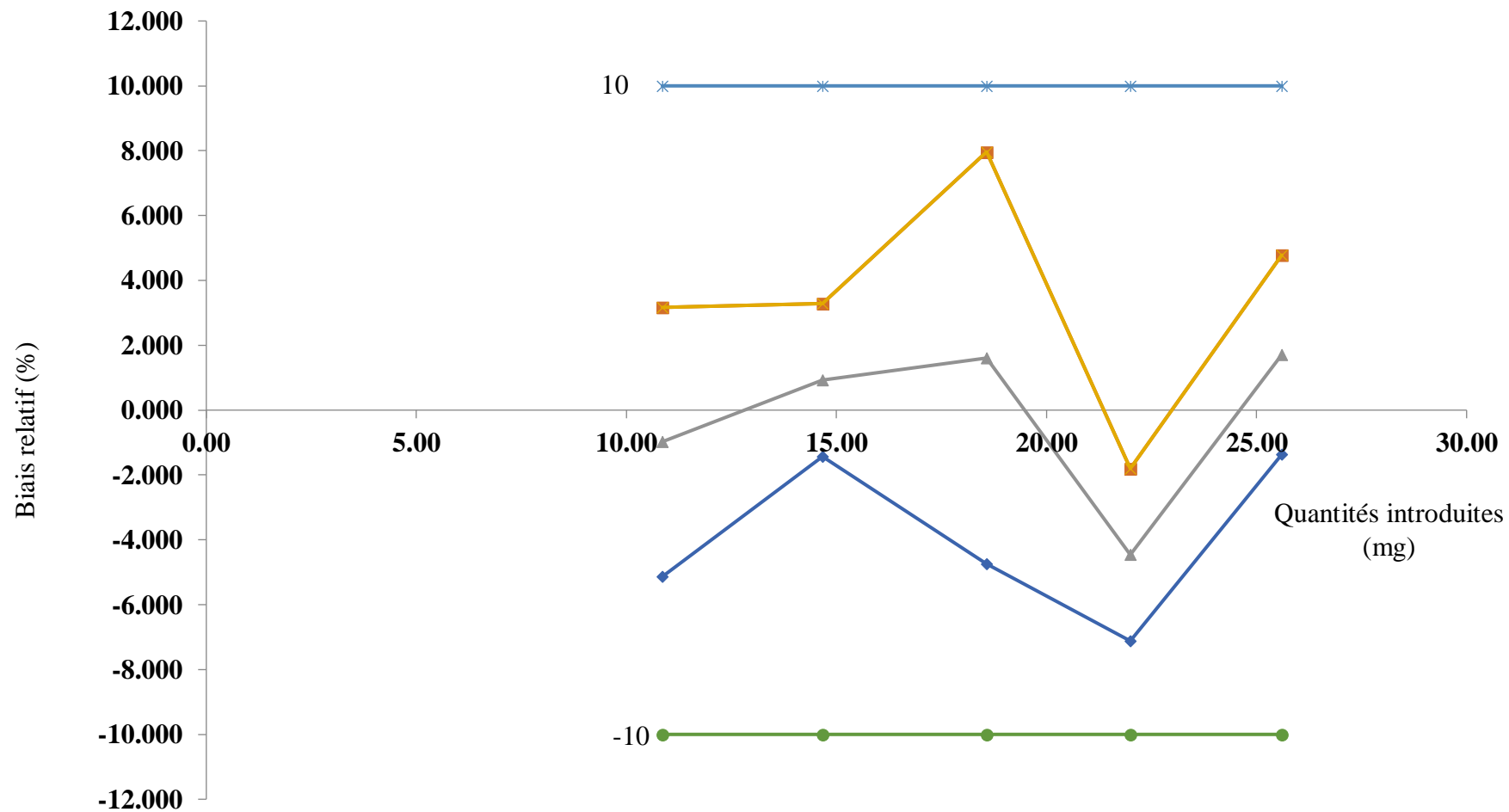


Figure 80 : Profil d'exactitude pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire)

Chapitre II : Résultats

Enfin, nous avons exploré la linéarité du modèle (Quantités prédites= f (Quantités introduites)) en comparant l'ordonnée et la pente de la droite de régression (Figure 81) avec 0 et 1 respectivement (Tableau 103).

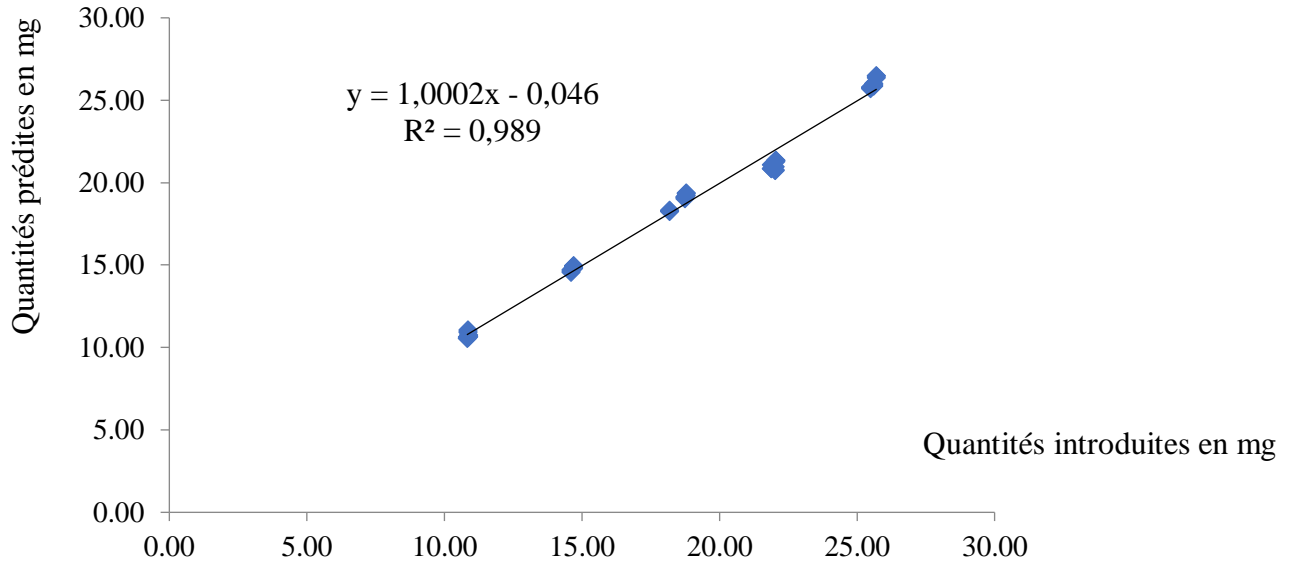


Figure 81 : Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire)

Tableau 103 : Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'acide clavulanique (Modèle linéaire)

Pente	1,0002	Ordonnée	-0,046
Ecart type	0,368	Ecart type	0,298
Variance	0,135	Variance	0,089
Ordonnée non statistiquement différente de 0			
			0,153
t (0,05 ; 43)			2,021
Pente non statistiquement différente de 1			
			4,182E-04
t (0,05 ; 43)			2,021
Courbe de régression non valide			
			32,886
F (0,05 ; 3 ; 40)			2,840

Chapitre II : Résultats

2-5-2-3: Après transformation logarithmique des données

Les pentes et les ordonnées à l'origine calculées pour le modèle en fonction des séries sont représentées dans le Tableau 104.

Tableau 104 : Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'acide clavulanique
(Après transformation logarithmique des données)

Série 1		Série 2		Série 3	
Pente	0,986	Pente	0,975	Pente	1,023
Ordonnée à l'origine	11,252	Ordonnée à l'origine	11,288	Ordonnée à l'origine	11,146

Chapitre II : Résultats

Les droites d'étalonnage correspondantes sont représentées dans la Figure 82.

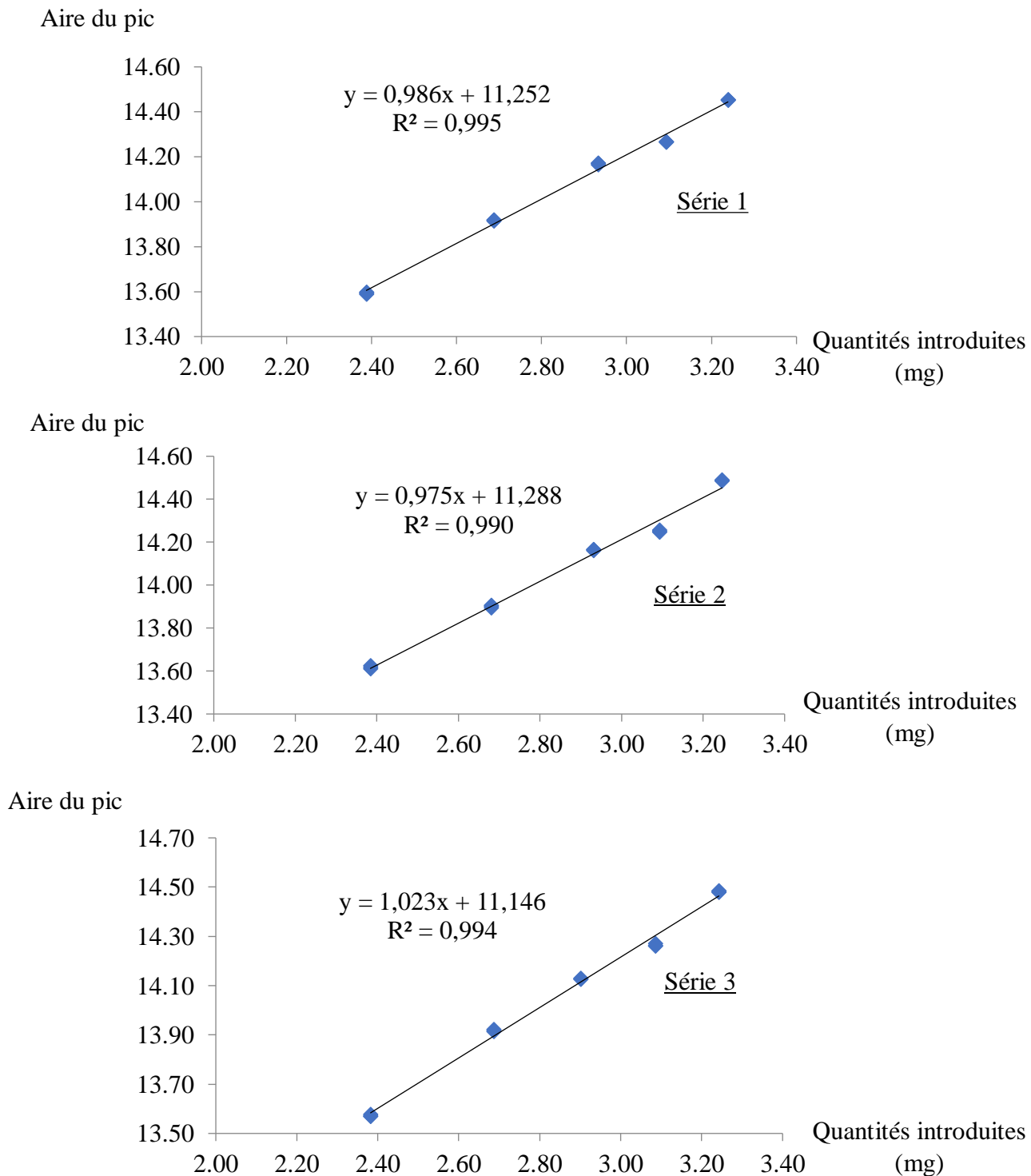


Figure 82 : Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la justesse sont regroupés dans le Tableau 105.

Tableau 105 : Critères de justesse pour l'acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)

Niveaux	Répétitions	Biais absolu	Biais relatif	Recouvrement	Exactitude relative			Exactitude relative (Moyenne)
					Série 1	Série 2	Série 3	
1	1	-0,008	-0,337	99,663	-0,373	0,376	-0,338	-0,111
	2				-0,575	0,090	-0,642	-0,376
	3				-0,729	-0,196	-0,649	-0,525
2	1	0,012	0,450	100,450	0,663	0,128	0,968	0,586
	2				0,614	-0,004	0,830	0,480
	3				0,460	-0,269	0,657	0,282
3	1	0,020	0,691	100,691	0,976	0,790	0,489	0,752
	2				0,948	0,764	0,542	0,751
	3				0,697	0,606	0,395	0,566
4	1	-0,041	-1,319	98,681	-1,077	-1,439	-0,981	-1,166
	2				-1,086	-1,707	-1,289	-1,361
	3				-1,192	-1,763	-1,339	-1,431
5	1	0,024	0,727	100,727	0,331	1,339	0,686	0,786
	2				0,294	1,309	0,636	0,746
	3				0,218	1,194	0,537	0,649

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la fidélité sont regroupés dans le Tableau 106.

Tableau 106 : Critères de fidélité pour l'acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)

Niveaux	Répétitions	Ecart type de répétabilité	Ecart type intersérie	Ecart type de Fidélité intermédiaire	CV répétabilité	CV fidélité intermédiaire
1	1	0,005	0,008	0,010	0,220	0,406
	2					
	3					
2	1	0,004	0,015	0,016	0,160	0,595
	2					
	3					
3	1	0,003	0,024	0,024	0,114	0,829
	2					
	3					
4	1	0,005	0,008	0,009	0,154	0,296
	2					
	3					
5	1	0,002	0,020	0,020	0,071	0,631
	2					
	3					

Chapitre II : Résultats

Les éléments qui ont servi à tracer le profil d'exactitude (Figure 83) sont résumés dans le Tableau 107.

Tableau 107 : Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)

Niveaux	Quantités introduites (mg)	Répétitions	Erreur totale absolue	Erreur totale relative (%)	Limite de tolérance inférieure (%)	Limite de tolérance supérieure (%)	Biais	Limite d'acceptabilité basse	Limite d'acceptabilité haute
1	10,86	1	0,018	0,743	-1,413	0,739	-0,337	-10	10
		2							
		3							
2	14,66	1	0,028	1,045	-1,545	2,445	0,450	-10	10
		2							
		3							
3	18,58	1	0,044	1,520	-2,101	3,482	0,691	-10	10
		2							
		3							
4	22,00	1	0,050	1,615	-2,293	-0,346	-1,319	-10	10
		2							
		3							
5	25,60	1	0,044	1,358	-1,397	2,852	0,727	-10	10
		2							
		3							

Chapitre II : Résultats

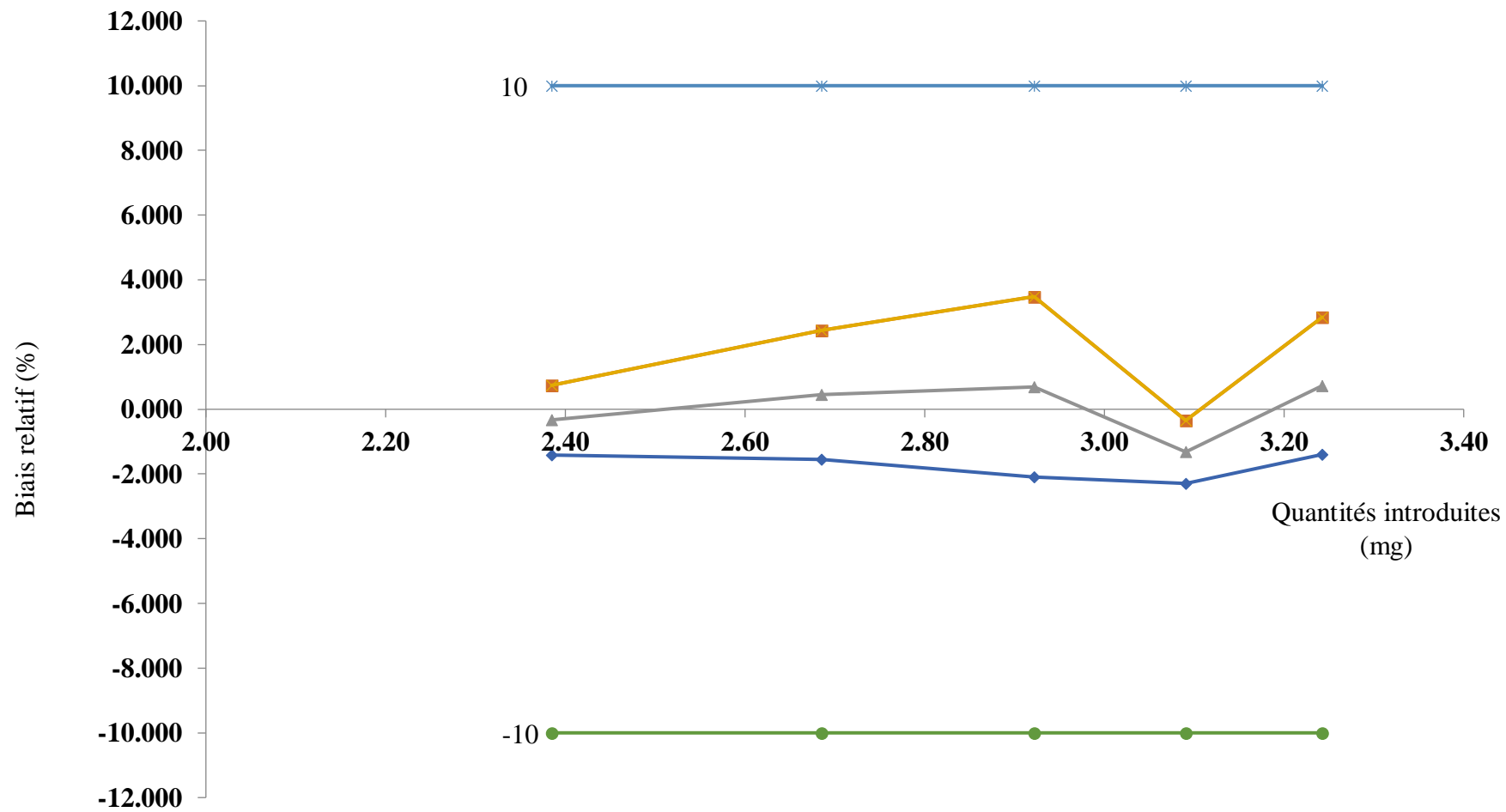


Figure 83 : Profil d'exactitude pour l'acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)

Chapitre II : Résultats

Enfin, nous avons exploré la linéarité du modèle (Quantités prédites= f (Quantités introduites)) en comparant l'ordonnée et la pente de la droite de régression (Figure 84) avec 0 et 1 respectivement (Tableau 108).

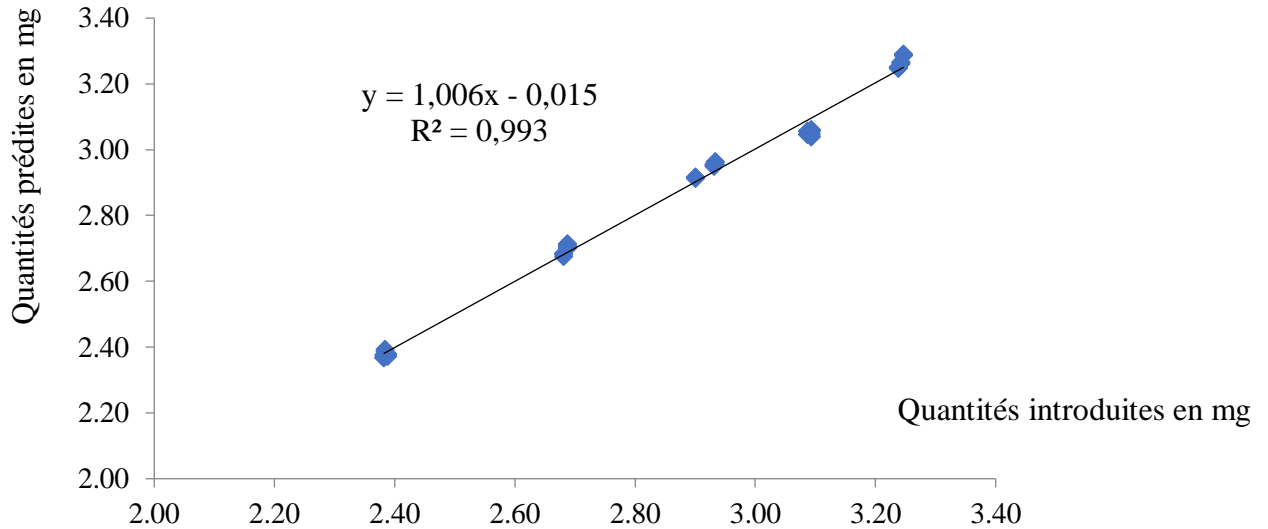


Figure 84 : Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)

Tableau 108 : Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'acide clavulanique (Après transformation logarithmique des données)

Pente	1,006	Ordonnée	-0,015
Ecart type	0,014	Ecart type	0,037
Variance	0,0002	Variance	0,001
Ordonnée non statistiquement différente de 0			
	0,410		
t (0,05 ; 43)	2,021		
Pente non statistiquement différente de 1			
	4,002E-01		
t (0,05 ; 43)	2,021		
Courbe de régression non valide			
	27,501		
F (0,05 ; 3 ; 40)	2,840		

Chapitre II : Résultats

2-5-2-4: Après transformation racine carrée des données

Les pentes et les ordonnées à l'origine calculées pour le modèle en fonction des séries sont représentées dans le Tableau 109.

Tableau 109 : Estimations des paramètres des modèles en fonction des séries pour l'acide clavulanique
(Après transformation racine carrée des données)

Série 1		Série 2		Série 3	
Pente	266,910	Pente	267,550	Pente	278,010
Ordonnée à l'origine	20,748	Ordonnée à l'origine	20,879	Ordonnée à l'origine	-24,236

Chapitre II : Résultats

Les droites d'étalonnage correspondantes sont représentées dans la Figure 85.

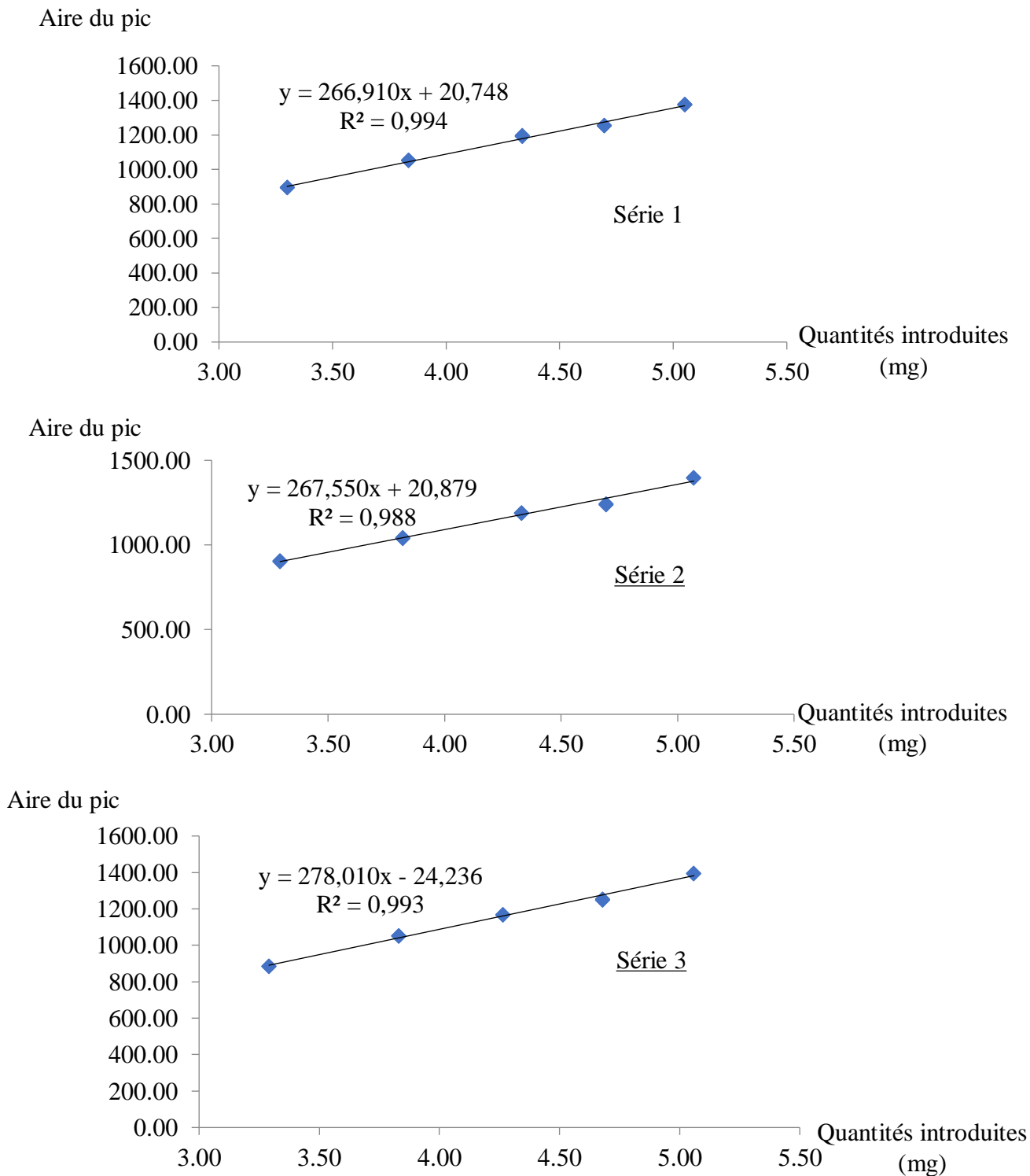


Figure 85 : Droites d'étalonnage en fonction des séries pour l'acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la justesse sont regroupés dans le Tableau 110.

Tableau 110 : Critères de justesse pour l'acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)

Niveaux	Répétitions	Biais absolu	Biais relatif	Recouvrement	Exactitude relative			Exactitude relative (Moyenne)
					Série 1	Série 2	Série 3	
1	1	-0,015	-0,448	99,552	-0,614	0,530	-0,453	-0,179
	2				-0,856	0,187	-0,812	-0,494
	3				-1,040	-0,155	-0,821	-0,672
2	1	0,023	0,605	100,605	0,864	0,238	1,266	0,789
	2				0,797	0,060	1,079	0,646
	3				0,587	-0,294	0,843	0,379
3	1	0,044	1,021	101,021	1,479	1,155	0,698	1,111
	2				1,437	1,117	0,776	1,110
	3				1,062	0,886	0,560	0,836
4	1	-0,094	-2,011	97,989	-1,600	-2,247	-1,489	-1,779
	2				-1,614	-2,648	-1,958	-2,073
	3				-1,776	-2,731	-2,033	-2,180
5	1	0,060	1,179	101,179	0,610	2,023	1,189	1,274
	2				0,549	1,974	1,107	1,210
	3				0,425	1,785	0,943	1,051

Chapitre II : Résultats

Les critères estimant la fidélité sont regroupés dans le Tableau 111.

Tableau 111 : Critères de fidélité pour l'acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)

Niveaux	Répétitions	Ecart type de répétabilité	Ecart type intersérie	Ecart type de Fidélité intermédiaire	CV répétabilité	CV fidélité intermédiaire
1	1	0,009	0,017	0,019	0,263	0,570
	2					
	3					
2	1	0,008	0,027	0,029	0,215	0,745
	2					
	3					
3	1	0,007	0,053	0,053	0,170	1,239
	2					
	3					
4	1	0,011	0,020	0,023	0,233	0,490
	2					
	3					
5	1	0,006	0,045	0,046	0,116	0,906
	2					
	3					

Chapitre II : Résultats

Les éléments qui ont servi à tracer le profil d'exactitude (Figure 86) sont résumés dans le Tableau 112.

Tableau 112 : Récapitulatif des éléments du profil d'exactitude pour l'acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)

Niveaux	Quantités introduites (mg)	Répétitions	Erreur totale absolue	Erreur totale relative (%)	Limite de tolérance inférieure (%)	Limite de tolérance supérieure (%)	Biais	Limite d'acceptabilité basse	Limite d'acceptabilité haute
1	10,86	1	0,034	1,018	-1,667	0,771	-0,448	-10	10
		2							
		3							
2	14,66	1	0,052	1,350	-1,005	2,215	0,605	-10	10
		2							
		3							
3	18,58	1	0,097	2,260	-1,674	3,715	1,021	-10	10
		2							
		3							
4	22,00	1	0,117	2,501	-3,058	-0,964	-2,011	-10	10
		2							
		3							
5	25,60	1	0,106	2,086	-0,792	3,150	1,179	-10	10
		2							
		3							

Chapitre II : Résultats

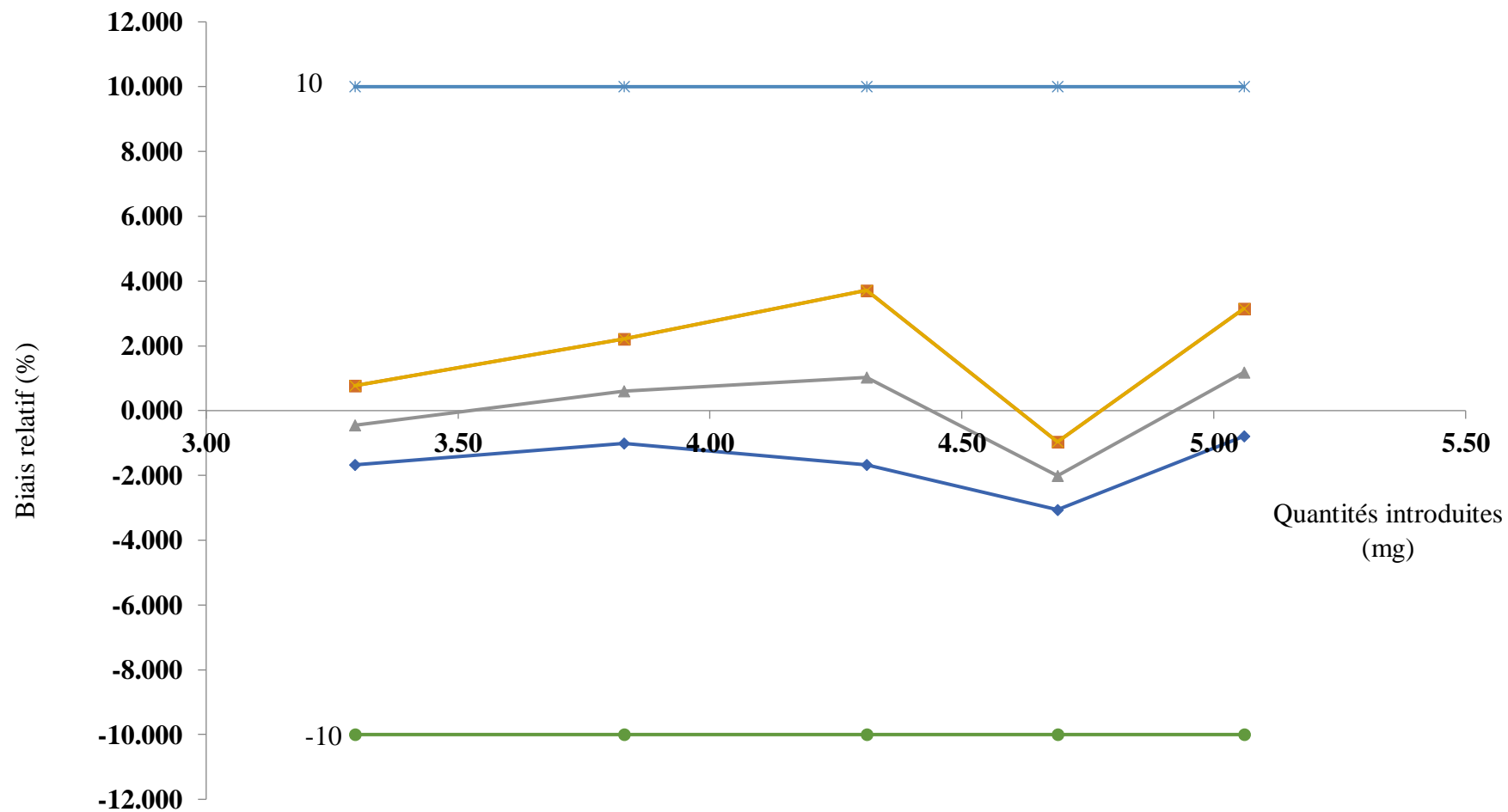


Figure 86 : Profil d'exactitude pour l'acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)

Chapitre II : Résultats

Enfin, nous avons exploré la linéarité du modèle (Quantités prédites= f (Quantités introduites)) en comparant l'ordonnée et la pente de la droite de régression (Figure 87) avec 0 et 1 respectivement (Tableau 113).

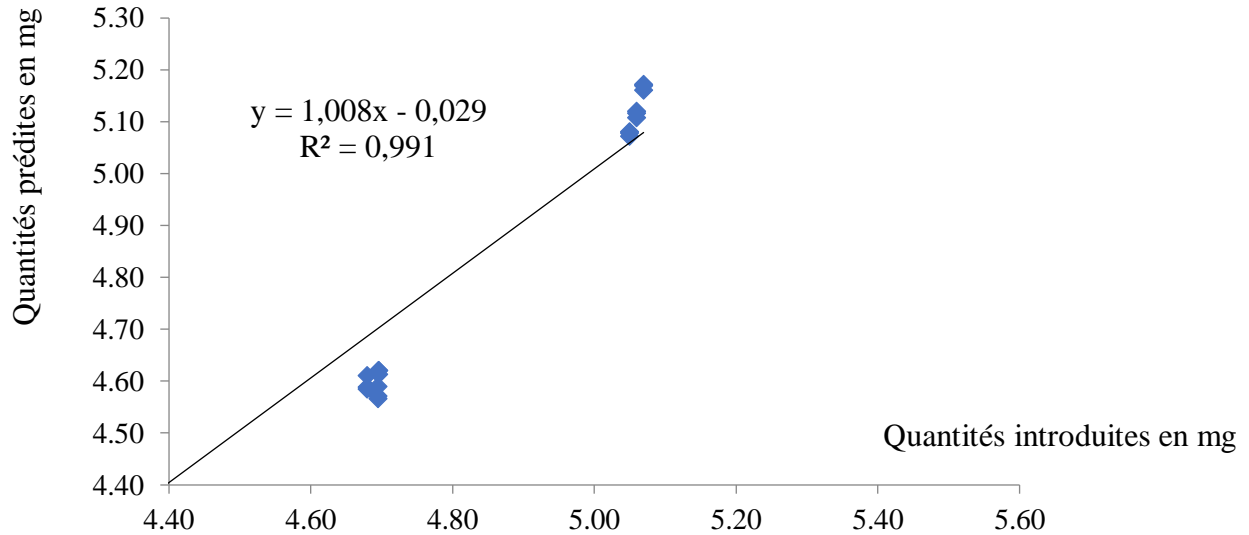


Figure 87 : Droite de régression entre les quantités introduites et les quantités prédites en retour pour l'acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)

Tableau 113 : Test de l'ordonnée et de la pente de la droite de régression pour l'acide clavulanique (Après transformation racine carrée des données)

Pente	1,008	Ordonnée	-0,029
Ecart type	0,037	Ecart type	0,061
Variance	0,001	Variance	0,004
Ordonnée non statistiquement différente de 0			
			0,465
t (0,05 ; 43)			2,021
Pente non statistiquement différente de 1			
			2,060E-01
t (0,05 ; 43)			2,021
Courbe de régression non valide			
			32,822
F (0,05 ; 3 ; 40)			2,840

Chapitre II : Résultats

2-6 : Etablissement des cartes contrôle

Les cartes de contrôle permettant de surveiller la résolution et le nombre de plateaux théoriques de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique, ainsi que les limites de contrôle supérieures et inférieures sont représentées dans les Figures 88, 89, 90 et les Tableaux 114, 115, 116 respectivement

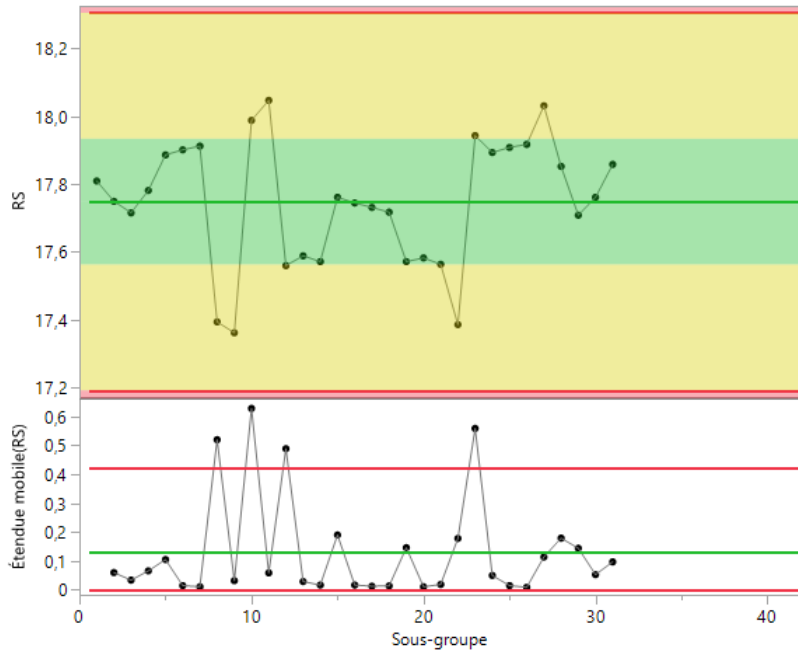


Figure 88 : Carte de contrôle de la résolution

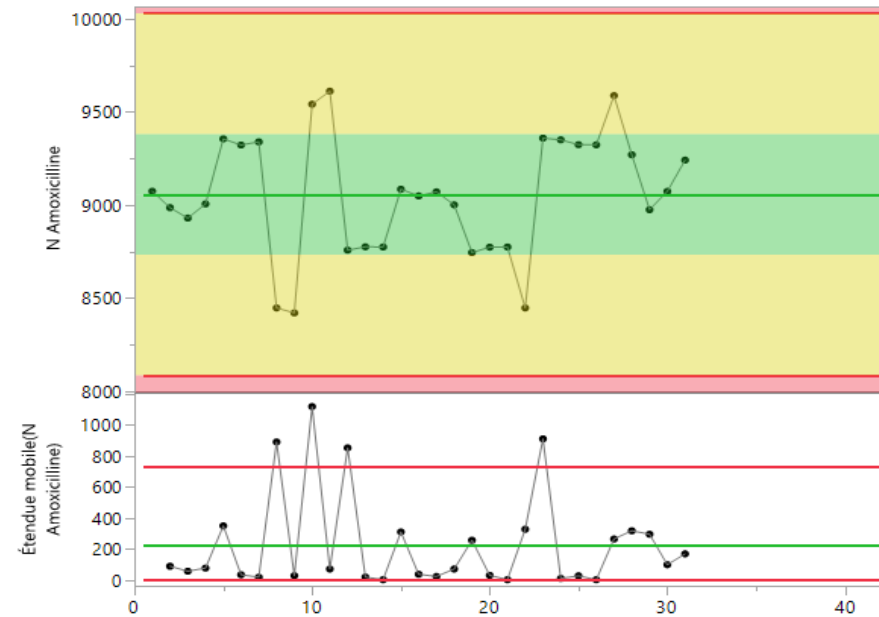


Figure 89 : Carte de contrôle du nombre de plateaux théoriques de l'amoxicilline

Tableau 114 : Limites de contrôle supérieures et inférieures de la résolution

Points tracés	Limite de contrôle inférieure	Moyenne	Limite de contrôle supérieure
Individuelle	17,19068	17,7479	18,30513

Tableau 115 : Limites de contrôle supérieures et inférieures du nombre de plateaux théoriques de l'amoxicilline

Points tracés	Limite de contrôle inférieure	Moyenne	Limite de contrôle supérieure
Individuelle	8086,429	9057,806	10029,18

Chapitre II : Résultats

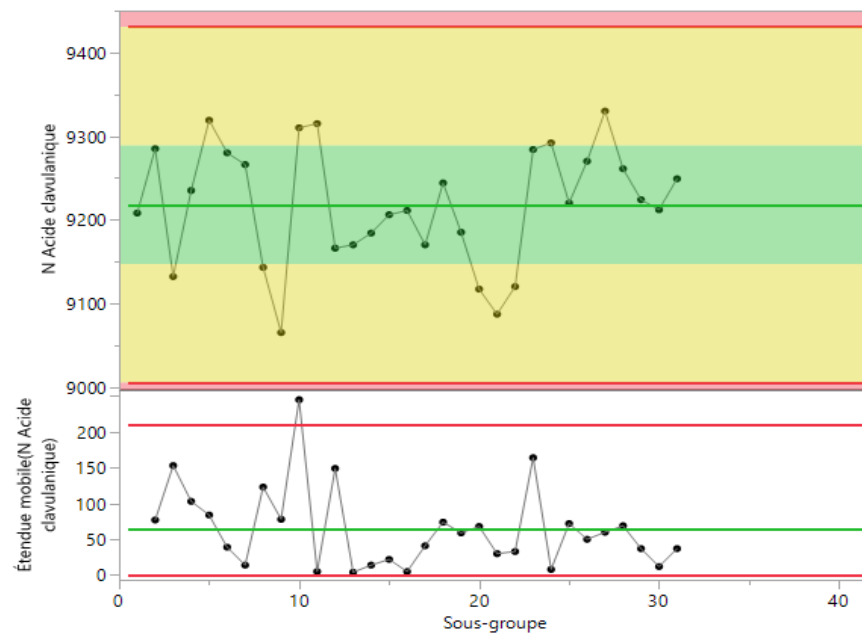


Figure 90 : Carte de contrôle du nombre de plateaux théoriques de l'acide clavulanique

Tableau 116 : Limites de contrôle supérieures et inférieures du nombre de plateaux théoriques de l'acide clavulanique

Points tracés	Limite de contrôle inférieure	Moyenne	Limite de contrôle supérieure
Individuelle	9005,306	9218,065	9430,823

Chapitre III
DISCUSSION

Chapitre III : Discussion

Discussion

1- Conception du produit

Le développement de produits pharmaceutiques, basé sur le concept QbD, vise à garantir une excellente qualité à travers un processus flexible, robuste et rentable. Cette approche systématique, basée sur les risques, commence par des objectifs prédéfinis et met l'accent sur la compréhension des attributs des matières utilisées et du processus, ce qui déplace l'accent de l'assurance qualité par les tests vers le contrôle de la qualité par la compréhension.

Le QbD pharmaceutique identifie les caractéristiques qui sont essentielles à la qualité du produit et à la sécurité des patients en les traduisant sous forme d'attributs critiques de qualité pour les matières et le processus. Ces attributs sont identifiés par une modélisation rigoureuse qui permet de relier les variables de formulation et les variables du processus de production aux caractéristiques finales du produit.[223,224]

1-1 : Définition du QTPP

La première étape de cette approche consiste à définir le QTPP qui représente un résumé potentiel des caractéristiques du produit pharmaceutique assurant l'innocuité et l'efficacité du médicament. Pour un médicament générique, le QTPP doit être analogue aux caractéristiques du princeps avec des exigences d'équivalence pharmaceutique, de bioéquivalence, d'innocuité, etc.[225]

La première étape de notre développement a consisté à mettre au point un QTPP pour la production de l'Amoclan® 8 :1 500mg/62,5mg sachets et de l'Amoclan® 8 :1 1G/125mg sachets. Les éléments de ce profil ont pris en considération, lors d'un brainstorming, les propriétés physicochimiques de la substance médicamenteuse, les caractéristiques du princeps (AUGMENTIN®), les recommandations de l'USP43-NF38, de la BP2020(10.0) et de l'ICH, les connaissances acquises lors du développement de la formulation et la population de patients visée.

Les éléments assurant une équivalence pharmaceutique ont pris en compte la forme galénique, la voie d'administration, le dosage du produit et sa stabilité qui doivent être similaires au princeps.

Les éléments assurant une bioéquivalence avec le princeps se sont basés sur le système BCS de l'association amoxicilline/acide clavulanique et ses propriétés pharmacocinétiques à savoir sa biodisponibilité, le délai d'obtention de sa concentration plasmatique maximale et sa demi-vie d'élimination.

Chapitre III : Discussion

Enfin, les attributs qualité du produit étaient choisis sur la base des exigences de l'USP43-NF38, de la BP2020(10.0), des directives de l'ICH et des exigences internes (In house).

Ces caractéristiques, issues des directives de l'ICHQ8(R2), représentent les propriétés chimiques, physiques, biologiques et microbiologiques qui doivent être présentes dans le produit final afin d'assurer une équivalence thérapeutique de notre produit par rapport au princeps.

1-2 : Identification des CQAs

L'étape suivante de l'approche QbD est l'identification des CQAs. L'ICH Q11 stipule que le développement du processus de production de substances médicamenteuses devrait inclure, au minimum, l'identification des CQAs associés à une substance médicamenteuse. Ces attributs doivent être identifiés dans le QTPP et doivent être contrôlés dans une certaine limite pour assurer la qualité et les performances du produit final.[29,226]

Après l'établissement du QTPP, nous avons identifié les CQAs suivants de nos produits : la masse moyenne, la teneur de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique, l'uniformité des préparations unidoses, le taux des impuretés et la teneur en eau des produits finis.

Les CQAs, comprenant l'identification et les limites microbiennes, ne sont pas susceptibles d'être affectés par les variables de formulation et/ou de procédé et n'ont pas été sélectionnées pour une étude complémentaire car ils sont assurés par un bon système de qualité pharmaceutique et une bonne stratégie de contrôle.

La masse moyenne des préparations unidoses a été sélectionné comme CQA car ce paramètre nous renseigne, lors de l'étude de l'uniformité de masse, sur le bon déroulement du remplissage des sachets et impacte la teneur des préparations unidoses.

La teneur en amoxicilline et en acide clavulanique impacte directement la sécurité et l'efficacité du médicament. La diminution de la teneur de l'amoxicilline peut entraîner une inefficacité de cet antibiotique ou engendrer des résistances bactériennes, de même, la diminution de la teneur en acide clavulanique, inhibiteur des bêtalactamases produites par des bactéries Gram+ et Gram-, peut entraîner la destruction de l'amoxicilline par ces bactéries.

Cependant, toute augmentation de la teneur de ces principes actifs peut causer des surdosages induisant des manifestations neuropsychiques, rénales et gastro-intestinales.[212]

L'uniformité des préparations unidoses sert à vérifier l'homogénéité de la répartition de la dose unitaire des principes actifs dans un lot de médicaments. Cette exigence de la pharmacopée

Chapitre III : Discussion

américaine permet d'assurer une efficacité et une innocuité optimale des différentes préparations au sein du même lot.[216]

Le taux des impuretés de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique est un paramètre crucial de la sécurité des préparations unidoses. En effet, l'augmentation du taux de ces substances peut engendrer des conséquences plus ou moins graves et plus ou moins réversibles sur la santé des patients d'où l'obligation de respecter les limites prescrites dans les monographies.

L'augmentation de la teneur en eau des produits finis peut accélérer la dégradation des principes actifs surtout l'acide clavulanique qui est extrêmement sensible à l'humidité, de même, cette augmentation peut accélérer la croissance microbienne et fongique au sein des produits. Tous ces paramètres altèrent la stabilité du médicament, diminuent son efficacité et peuvent même présenter un risque sanitaire.

La liaison des CMAs (Distribution granulométrique, taille des particules, etc.) et des CPPs (Compression, séchage, pelliculage, etc.) aux CQAs du produit est d'une importance capitale pour garantir la sécurité des patients et la performance du produit au point d'utilisation.[227]

1-3 : Evaluation des risques

Afin d'identifier ces attributs critiques nous avons entrepris une évaluation des risques conformément aux directives de l'ICHQ9. Cette évaluation nous a aidé à identifier et à classer les attributs des matériaux et les paramètres de processus qui ont potentiellement un effet sur les CQAs du produit et à déterminer leur potentiel d'impact sur la qualité finale.

Un brainstorming au niveau du groupe de recherche a été effectué, en utilisant les expériences antérieures et les connaissances de la littérature, afin de relier les CQAs aux CMAs et aux CPPs. Nous avons initié notre étude par une analyse préliminaire des risques (PHA). La PHA est un outil qualitatif qui permet, lors d'un brainstorming, d'avoir une vue d'ensemble rapide des risques majeurs en se basant sur les expériences antérieures des membres de l'équipe.[228,229] Notre étude s'est présentée sous forme d'un tableau qui a relié les attributs des différents matériaux et les paramètres du processus aux CQAs choisis précédemment. Chaque relation a été classée en risque élevé (Rouge), moyen (Orange) et faible (Vert) en fonction du degré d'impact afin d'identifier les attributs des matériaux critiques potentiels (p-CMAs) et les paramètres du processus critiques potentiels (p-CPPs).

Lors de la PHA des attributs de l'amoxicilline trihydratée et du clavulanate de potassium/dioxyde de silicium, nous avons identifié la teneur en eau de la matière première, sa teneur en amoxicilline et en acide clavulanique, sa distribution granulométrique et son taux d'impuretés comme attributs présentant un risque élevé pouvant impacter la teneur, l'uniformité

Chapitre III : Discussion

des préparations unidoses, la teneur en eau et le pourcentage des impuretés du produit fini, et cela pour les raisons suivantes :

- Une augmentation de la teneur en eau de l'amoxicilline (>14,5%) et de l'acide clavulanique (>2,5%) dans la matière première élève la teneur en eau du produit fini, ce qui peut altérer sa stabilité en décomposant l'amoxicilline mais surtout l'acide clavulanique et génère un milieu favorable pour une pullulation microbienne.
- La teneur en amoxicilline et en acide clavulanique (%w/w) de la matière première doit être comprise entre 97,5-102,0 et 38,5-45,0 respectivement. Toute diminution ou augmentation peut affecter sensiblement le titre final des produits finis et perturbe l'uniformité des préparations unidoses.
- La distribution granulométrique (%) pour l'amoxicilline trihydratée doit être la suivante : NLT95 (Mesh60), NMT40 (Mesh200) et NMT40 (Mesh325), et celle du clavulanate de potassium la suivante : NMT10 (Mesh60), NMT25 (Mesh100) et 06-86 (Mesh200). Toute modification impactera directement l'uniformité des préparations unidoses, car celle-ci dépend des propriétés granulométriques et rhéologiques des poudres ainsi que du degré de dilution du principe actif au sein du mélange.
- Le taux total d'impuretés (%w/w) de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique dans la matière première doit être inférieur à 2% car son augmentation relèvera le taux final des impuretés dans les produits finis.

La Forme des grains de la poudre, sa teneur en eau, en amoxicilline et en acide clavulanique, sa distribution granulométrique et son taux d'impuretés ont été identifiés comme attributs présentant un risque moyen pouvant impacter la masse moyenne, la teneur des produits finis, l'uniformité des préparations unidoses et le taux des impuretés, et cela pour les raisons suivantes :

- L'amoxicilline trihydratée et le clavulanate de potassium se présentent sous forme d'une poudre blanche ou presque blanche, et toute irrégularité de la forme cristalline de la poudre peut avoir un impact mineur sur l'uniformité des préparations unidoses.
- La teneur en eau peut modifier les propriétés rhéologiques des poudres et leur écoulement ce qui affecte la masse moyenne des sachets, le titre final et l'uniformité des préparations unidoses, sans oublier que l'augmentation du pourcentage d'eau dans la matière première peut augmenter la dégradation et la formation d'impuretés.
- Le pourcentage d'amoxicilline et d'acide clavulanique dans la matière première peut se retrouver diminué à cause de la présence d'impuretés ce qui majore leur taux final,

Chapitre III : Discussion

surtout pour l'amoxicilline, mais vu que l'acide clavulanique est déjà minoritaire par rapport à l'amoxicilline (8 :1), l'impact de la teneur sur le pourcentage des impuretés final est faible.

- Une taille de particule réduite et une distribution granulométrique large qui dépasse les normes prescrites peuvent modifier la fluidité lors de la préparation du mélange avant la mise en sachets, ce qui peut impacter la masse moyenne et le titre final.
- L'augmentation du taux d'impuretés de la matière première diminue de façon systématique le titre du principe actif et affecte le titre final.

La méthode d'identification du principe actif s'effectue directement sur la matière première reçue du fournisseur et son pH, 3,5-5,5 pour l'amoxicilline et 4,8-8,0 pour l'acide clavulanique, est strictement contrôlé ce qui représente un risque faible d'impacter les différents CQAs. Les autres attributs présentent aussi un risque faible d'impacter quelques CQAs comme définis dans les Tableaux 52 et 53.

L'aspartame, la crospovidone et le dioxyde de silicium ont été identifiés comme attributs présentant un risque moyen pouvant impacter l'uniformité des préparations unidoses et leur teneur en eau, et cela pour les raisons suivantes :

- L'aspartame, édulcorant artificiel, est une poudre cristalline blanche ou presque blanche, légèrement hygroscopique, selon la Pharmacopée européenne 10.0.[230], et de cela, si sa teneur en eau (NMT4,5%) augmente, elle peut affecter la teneur en eau finale du produit.
- La crospovidone est utilisée comme agent dispersant et le dioxyde de silicium comme agent antiagglomérant et glissant, et de cela, toute modification majeure de leur proportion dans le mélange peut affecter l'uniformité des préparations unidoses. De plus, la crospovidone, poudre blanche ou blanc jaunâtre et hygroscopique, selon la Pharmacopée européenne 10.0.[230], dont le titre en eau ne doit pas dépasser 5% (w/w), et le dioxyde de silicium, agent déshydratant dont le titre en eau ne doit pas dépasser 3% (w/w), affectent la teneur en eau finale du médicament.

Nous avons aussi établi que ces variables de formulation présentaient un risque faible d'affecter les CQAs restantes, cependant les sachets déshydratants qui contiennent du silicagel, agent dessiccant, sont déposés en contact direct des sacs en polyéthylène contenant le mélange final et peuvent avoir un impact sur sa teneur en eau. L'arôme fraise, quant à lui, n'affecte aucune CQA sélectionnée de notre produit.

Chapitre III : Discussion

Lors de la PHA des articles de conditionnement, nous avons identifié l'aluminium quadriplex et le Flow Pack comme attributs présentant respectivement un risque élevé et moyen pouvant impacter la teneur des produits finis, leur teneur en eau et en impuretés, et cela pour les raisons suivantes :

- L'aluminium quadriplex doit avoir une épaisseur de $91\pm 9 \mu\text{m}$ et un grammage de $127\pm 9\%$ (g/m^2). Un défaut dans ces caractéristiques peut favoriser une pénétration de l'humidité et augmenter la teneur en eau et par conséquent impacter le titre final et augmente le taux des impuretés.
- Le Flow Pack représente un conditionnement secondaire qui apporte une protection supplémentaire aux sachets, mais en cas d'obturation d'un des deux conditionnements la contamination par l'humidité peut augmenter la teneur en eau et par conséquent impacter le titre final et augmente le taux des produits des impuretés.

Lors de la PHA des étapes du processus, nous avons identifié l'humidité et la température, le vide de ligne, le temps et la vitesse de mélange, et le remplissage des sachets par la machine comme attributs présentant un risque élevé pouvant impacter les cinq CQAs, et cela pour les raisons suivantes :

- L'humidité relative de l'atmosphère doit être inférieure à 20% et sa température inférieure à 25°C (20-25°C) pendant tout le processus de production. Toute augmentation, due au dysfonctionnement du système HVAC, peut majorer la teneur en eau du produit fini (Plusieurs composants de la formulation sont hygroscopiques) ce qui retentit sur le titre, l'uniformité des préparations unidoses, la teneur en eau et le taux des impuretés.
- Le vide de ligne entre deux lots est obligatoire, car toute erreur dans la procédure de nettoyage peut contaminer irréversiblement le prochain lot.
- La vitesse de rotation et le temps de mélange au sein du mélangeur en V touchent directement le titre final du médicament et l'uniformité des préparations unidoses.
- En cas d'une erreur lors de la vitesse de remplissage (40-50 rotations par minute) la masse moyenne des sachets peut varier considérablement. De même, une erreur dans la température de scellage (140-160°C) peut causer une mauvaise obturation qui facilite la diffusion de l'humidité et impacte le titre final des sachets et le taux des impuretés.

L'humidité et la température, le tamisage, et le remplissage des sachets par la machine ont été identifiés comme attributs présentant un risque moyen pouvant impacter la masse moyenne,

Chapitre III : Discussion

l'uniformité des préparations unidoses, la teneur des produits finis et leur teneur en eau, et cela pour les raisons suivantes :

- Les conditions atmosphériques du lieu de production peuvent augmenter le titre en eau et fausser la masse moyenne.
- Toute variation dans le tamisage à travers un tamis de 30 mesh de l'aspartame, de la crospovidone, du dioxyde de silicium et de l'arôme fraise modifie la granulométrie de ces composés dans le mélange final et affecte directement l'uniformité des préparations unidoses.
- En cas d'une erreur lors de la vitesse de remplissage, le titre et l'uniformité des préparations unidoses peuvent être impactés, mais le risque reste moyen à cause du phénomène de compensation. De même, un mauvais scellage peut provoquer la diffusion de l'humidité et augmente la teneur en eau.

Ces attributs présentent un risque faible d'impacter les autres CQAs selon la classification du Tableau 56.

La PHA est principalement utilisée au début de la phase de conception et nécessite des analyses et des évaluations plus poussées. Dans cette optique, nous avons entamé la réalisation d'un diagramme d'Ishikawa suivi d'une FMEAC.

Le diagramme d'Ishikawa veille à ce que les causes possibles d'un mode de défaillance particulier, ou de variables ayant une incidence sur les CQAs, soient explorées à partir de divers points de vue, de sorte que la liste initiale de variables (p-CMAs et p-CPPs) incluse dans l'évaluation des risques soit exhaustive.[231]

Il est couramment utilisé, dans plusieurs publications, comme méthode de base qui permet de réaliser l'identification et l'analyse des risques par une vue d'ensemble des facteurs influents sur les CQAs.[232,233]

Ce diagramme a été réalisé pour les p-CMAs (Amoxicilline trihydratée, clavulanate de potassium/dioxyde de silicium, crospovidone, aspartame, dioxyde de silicium, arôme fraise, aluminium quadriplex, Flow pack et sachets déshydratants) et les p-CPPs (Conditions atmosphériques, personnel, vide de ligne, conditions de mélange, tamisage, conditions de remplissage et méthodologie de contrôle) en reliant les différentes caractéristiques de ces attributs aux CQAs par des relations de cause à effet, basées sur nos expériences pratiques antérieures et nos connaissances scientifiques.

Par la suite, nous avons entrepris une analyse quantitative des risques par la réalisation d'une FMEAC.

Chapitre III : Discussion

Cette méthode, qui est fréquemment associée au diagramme d'Ishikawa, identifie et évalue la criticité ou les modes de défaillance liés au produit. Elle est exploitée dans l'industrie pharmaceutique en fonction des menaces liées à la procédure.[43,234]

Le score du (RPN) a été calculé selon une échelle de 1 à 5 pour classer la gravité (G) de la défaillance, la probabilité (O) de la défaillance et la probabilité que la défaillance soit détectée (D), et selon sa valeur, les risques ont classé en risque faible ($RPN < 4$), risque moyen ($4 \leq RPN < 12$) et risque élevé ($RPN \geq 12$).

Nous avons constaté lors de notre analyse que les CQAs sélectionnées présentaient un risque moyen à élevé d'être impactées par différentes défaillances qui peuvent survenir lors du processus de production.

La masse moyenne, la teneur en amoxicilline et en acide clavulanique des produits finis et l'uniformité des préparations unidoses présentaient un RPN de 4 qui traduit un risque moyen. Les causes des défaillances étaient multiples allant des attributs des matières (Teneur en eau des matières premières et des variables de formulation, distribution granulométrique des poudres, etc.) aux attributs du processus (Anomalie du système HVAC, effet du tamisage, vitesse de rotation et temps du mélange, etc.) dont les déficiences peuvent conduire à des médicaments non uniformes, sous ou surdosés ou des médicaments inefficaces ou dangereux pour les patients.

La teneur en eau des produits finis et le pourcentage des impuretés étaient impactés de façon majeure par différentes causes car leur RPN était supérieur ou égal à 12. Les causes des défaillances étaient aussi multiples, allant des attributs des matières (Teneur en eau des matières premières et des variables de formulation et qualité de l'aluminium) aux attributs du processus (Anomalie du système HVAC, mauvais scellage, conditions de stockage, etc.) dont les déficiences peuvent conduire à des dommages plus importants comme la dégradation du principe actif, l'augmentation des impuretés et de la contamination microbienne, ce qui donne un médicament dangereux qui présente un grand risque pour le patient

Les éléments critiques qui ressortent de cette analyse sont des attributs de matières (Teneur en eau des matières premières et des variables de formulation et qualité de l'aluminium du conditionnement) considérées comme des CMAs et des paramètres de processus (Anomalie du système HVAC, air comprimé, enregistreur d'humidité et de température, paramètres machine lors du scellage, conditions de stockage et degrés de qualification du personnel) considérées comme des CPPs.

Chapitre III : Discussion

1-4: Conception d'expériences et développement d'un design space

Suivant les directives de l'ICH et le guide de la FDA pour l'industrie pharmaceutique, nous avons entamé l'étude expérimentale des effets de la teneur en eau des matières premières et des variables de formulation sur les CQAs choisis en utilisant les plans de criblage définitifs.

Ces plans, avec un petit nombre d'essais, permettent d'obtenir des résultats rapides, avec des dépenses contrôlées et détectent les interactions et les termes carrés.[235]

Cette approche vise à améliorer la conception, le développement et la production de produits médicamenteux de haute qualité par la délimitation d'une zone dans laquelle les intrants peuvent varier sans affecter la qualité du produit.[236]. Plusieurs publications récentes ont utilisé cette démarche pour l'optimisation de processus et la génération de nouvelles formulations [237], ou le développement de nouveaux systèmes d'administration des médicaments tels que les lyophilisats oraux contenant des nanocristaux [238].

Les facteurs explorés lors de cette conception ont reçu trois niveaux (-1, 0 et +1) (Tableau 46).

Les réponses analysées (Masse moyenne, titre de l'acide clavulanique, uniformité de l'acide clavulanique, uniformité de l'amoxicilline et teneur en eau) ne montrent pas de facteurs statistiquement significatifs ($p > 0,05$).

Concernant le titre de l'amoxicilline, nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs et influents sur cette réponse était la teneur en eau de l'aspartame, de la crospovidone et du dioxyde de silicium sous forme d'interactions aspartame*crospovidone ($p=0,0255$), aspartame*dioxyde de silicium ($p=0,0044$) et crospovidone*dioxyde de silicium ($p=0,0227$).

L'interaction aspartame*dioxyde de silicium a montré qu'un pourcentage de 100% est obtenu au niveau haut et bas simultanément pour ces deux facteurs.

L'interaction aspartame*crospovidone a montré qu'un pourcentage de 100% est obtenu au niveaux (+1 et -1) opposés des deux facteurs.

L'interaction crospovidone*dioxyde de silicium a montré qu'un pourcentage de 100% est obtenu au niveau haut de la teneur en eau de la crospovidone et au niveau bas du dioxyde de silicium. De même, un pourcentage de 90% est obtenu au niveau bas de la teneur en eau de la crospovidone et au niveau haut du dioxyde de silicium.

Cette analyse était confirmée par la droite de Henry où ces effets actifs ne sont pas alignés sur la ligne rouge de pente 1 qui représente les effets inactifs dus aux erreurs expérimentales.

Chapitre III : Discussion

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 4,7201 et sa valeur $p=0,0404$ indiquant une signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D pour la masse moyenne vaut 1 lorsque la teneur en eau de la crosprovidone est de -1 en unités codées (7,29% en unités usuelles), la teneur en eau de l'acide clavulanique est de 0,0654581 en unités codées (2,73% en unités usuelles) et la teneur en eau du dioxyde de silicium est de -0,316225 en unités codées (8,39% en unités usuelles). Ces conditions optimales permettent d'avoir une masse moyenne égal à 1700mg, comme préconisé par la Standard Operating Procedure (SOP).

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D pour le titre de l'acide clavulanique vaut 0,972371 lorsque la teneur en eau de l'amoxicilline, l'aspartame et la crosprovidone est de +1 en unités codées (14,90%, 4,38% et 7,29% respectivement en unités usuelles). Ces conditions optimales permettent d'avoir un titre égal à 99,16%, inclus dans l'intervalle 90-125% préconisé par la SOP et l'USP.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D pour le titre de l'amoxicilline vaut 1 lorsque la teneur en eau de l'aspartame et du dioxyde de silicium est de -1 en unités codées (3,14% et 7,19% respectivement en unités usuelles) et la teneur en eau de la crosprovidone est de 0,0071313 en unités codées (4,54% en unités usuelles). Ces conditions optimales permettent d'avoir un titre égal à 100%, inclus dans l'intervalle 90-120% préconisé par la SOP et l'USP.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D pour l'uniformité de l'amoxicilline vaut 0,974632 lorsque la teneur en eau de la crosprovidone est de +1 en unités codées (17,40% en unités usuelles), la teneur en eau du dioxyde de silicium est de -1 en unités codées (7,19% en unités usuelles) et la teneur en eau de l'amoxicilline est de 0,769 en unités codées (14,67% en unités usuelles). Ces conditions optimales permettent d'avoir un AV égal à 0,11, nettement inférieur à 15 préconisée par la SOP.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D pour l'uniformité de l'acide clavulanique vaut presque 1 lorsque la teneur en eau de l'aspartame est de +1 en unités codées (4,38% en unités usuelles), la teneur en eau du dioxyde de silicium est de -1 en unités codées (7,19% en unités usuelles) et la teneur en eau de l'amoxicilline est de 0,059 en unités codées (13,95% en unités usuelles). Ces conditions optimales permettent d'avoir un AV égal à 8,33, nettement inférieur à 15 préconisée par la SOP.

Chapitre III : Discussion

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D pour la teneur en eau du produit fini vaut 0,62 lorsque la teneur en eau de l'amoxicilline est de +1 en unités codées (14,90% en unités usuelles), la teneur en eau de l'acide clavulanique est de +1 en unités codées (11,62% en unités usuelles), et la teneur en eau du dioxyde de silicium est de -1 en unités codées (7,19% en unités usuelles). Ces conditions optimales permettent d'avoir une teneur égale à 10,11%, inférieure à 12% préconisée par la SOP.

Bien que le pourcentage des impuretés ait été choisi comme CQA précédemment, il n'a pas été étudié lors de cette expérimentation à cause des difficultés énormes rencontrées (Identification, quantification et surtout absence de substances de référence) lors du développement de la méthode RP-UHPLC utilisée pour leur quantification, d'où la nécessité d'injecter des étalons de ces substances afin de s'assurer de leur identification lors de l'utilisation des plans d'expérience.

A la fin de cette analyse nous avons mis en place un DS qui regroupait les différentes réponses analysées avec leurs exigences respectives, ce qui a permis de générer un espace de conception garantissant la robustesse du procédé. A l'intérieur de cet espace nous avons choisi un point expérimental dont les coordonnées sont les suivantes :

- Teneur en eau de l'aspartame : 0,8719512 en unités codées et 4,25% en unités usuelles ;
- Teneur en eau de la crospovidone : -0,695122 en unités codées et 8,16% en unités usuelles ;
- Teneur en eau du dioxyde de silicium : 0,0365854 en unités codées et 9,54% en unités usuelles ;
- Teneur en eau de l'amoxicilline : 0,8109756 en unités codées et 17,71% en unités usuelles ;
- Teneur en eau de l'acide clavulanique : 0,0670732 en unités codées et 2,75% en unités usuelles.

Ce point a été choisi loin des limites du DS afin d'éviter toute dérive pendant la routine.

1-5 : Conception et mise en œuvre d'une stratégie de contrôle et de surveillance continue du process

La dernière étape de notre développement basé sur l'approche QbD était la mise en place d'une stratégie de contrôle basée sur la PAT, qui permet un suivi en temps réel des CQAs et une libération plus rapide des produits.

Chapitre III : Discussion

L'USFDA définit la PAT comme « *un système de conception, d'analyse et de contrôle de la fabrication par mesure en temps opportun... des attributs de qualité et de performance critiques des matériaux et processus bruts et en cours, dans le but d'assurer la qualité finale du produit* ». [239]

Bien que la PAT ait été introduit dans l'industrie pharmaceutique au début du 21^{ème} siècle, de nouveaux outils ont été introduits au cours des 20 dernières années avec des applications diversifiées au sein de l'industrie pharmaceutique. [240,241]

Notre choix s'est porté sur plusieurs technologies qui peuvent être utilisés On-line ou At-line :

- NIR : cette analyse qualitative et quantitative, non destructive, est basée sur la transmittance et la réflectance générées par le mouvement vibrationnel moléculaire dans l'intervalle 780–2800 nm. Le spectromètre, connecté à une sonde à fibre optique, génère des informations en temps réel. [240] Cette technologie a été choisie pour contrôler On-line la nature des matières utilisées, leur teneur en eau, leur granulométrie, l'uniformité des prémélanges et du mélange final avant conditionnement et de la teneur en eau et l'uniformité du mélange au sein des sachets. Cette méthode peut être complétée par une simple pesée de 10 sachets pour vérifier la masse moyenne.
- UV-Visible : cette technique spectrale est robuste et peut être utilisée pour la détection des impuretés lors du nettoyage en place des cycles afin d'éviter toute contamination d'un lot à un autre ;
- OTR : cette méthode permet de mesurer le taux de transmission d'oxygène des perforations à l'aide de capteurs coulométriques où l'intensité du courant électrique produit est proportionnelle à la quantité d'oxygène entrant dans le détecteur par unité de temps. [242]

Cette technologie a été choisie pour contrôler, At-line, le taux de transmission de l'oxygène gazeux à travers les sachets d'aluminium et le Flow Pack ;

- WVTR : cette méthode peut mesurer chaque molécule de vapeur d'eau entrant dans des capteurs électrolytiques spécifiques, contenant deux électrodes, situés dans des analyseurs qui mesurent le nombre de molécules d'eau dissociées par unité de temps. [243]

Cette technologie a été choisie pour contrôler, At-line, le taux de transmission de la vapeur d'eau à travers les sachets d'aluminium et le Flow Pack ;

- HPLC et UHPLC : ces méthodes permettent le dosage de l'amoxicilline, de l'acide clavulanique et des impuretés au sein du mélange final avant conditionnement et après conditionnement primaire ;

Chapitre III : Discussion

- Systèmes d'imagerie visuelle : à l'aide de logiciels de gestion vidéo qui permet de suivre en direct la production des sachets et des boîtes et de vérifier plusieurs paramètres : nom déposé, dosage, numéro de lot, date de fabrication et d'expiration, vignettes, etc.

Ces tests de libération en temps réel (Real-Time Release testing, RTRt) permettent de réduire considérablement les temps de libération des lots de médicaments, ce qui représente un gain économique non négligeable pour les industriels.

2- Développement de la procédure analytique pour la détermination qualitative et quantitative des analytes

L'AQbD est une approche structurée qui permet de développer des méthodes robustes et rentables, répondant aux objectifs prédéfinis grâce à une compréhension approfondie de tous les aspects de la méthode et garantissant un contrôle de la qualité de ses résultats. [244,245]

Cette démarche a été appliquée à de nombreuses méthodes chromatographiques telles que l'HPLC [246,247], l'UHPLC [248,249], et d'autres techniques telles que la spectrophotométrie UV-Visible et l'électrophorèse capillaire [250,251], encouragée par les autorités réglementaires afin d'optimiser ces méthodes. [252]

2-1 : Définition de l'ATP

Le point de départ de cette stratégie lors de l'optimisation d'une méthode chromatographique consiste à définir le profil cible analytique (ATP), dérivé du QTPP [253], qui définit les attentes en termes de séparation, d'identification, de quantification et de robustesse. [80]

Dans ce but nous avons mis au point un ATP pour le développement de deux méthodes rapides, robustes et efficaces, utilisées pour le contrôle qualité de l'Amoclan[®] 8 :1 500 mg/62,5mg et l'Amoclan[®] 8 :1 1G/125mg, à savoir une méthode RP-HPLC capable de séparer et de doser l'Amoxicilline et l'Acide clavulanique et une méthode RP-UHPLC utilisée pour le dosage des impuretés.

Les éléments de l'ATP ont pris en considération, lors d'un brainstorming, les propriétés physicochimiques de l'Amoxicilline trihydratée et de l'acide clavulanique.

L'Amoxicilline trihydratée possède un LogP= 0,75 mais surtout un LogD négatif (Proche de -2) à pH=3,79 (RP-HPLC) qui est le pH optimisé pour la phase mobile et à pH= 5,6 (RP-UHPLC), ce qui rend compte du caractère hydrophile de ce principe actif à ces pH et sa solubilité dans la phase mobile polaire utilisée lors de l'analyse.

L'acide clavulanique possède un LogP=-1,5 mais surtout un LogD négatif (Proche de -2) à pH=3,79 (RP-HPLC) qui est le pH optimisé pour la phase mobile et à pH= 5,6 (RP-UHPLC),

Chapitre III : Discussion

ce qui nous renseigne aussi sur le caractère hydrophile de ce principe actif à ces pH et sa solubilité dans la phase mobile polaire utilisée lors de l'analyse.

En plus, selon le National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) et l'USFDA la combinaison Amoxicilline/Clavulanate de potassium présente un BCS (3,1/3) définissant une haute solubilité aqueuse.[219]

L'amoxicilline trihydratée possède un $pK_{a1} = 3,2$ et un $pK_{a2} = 11,7$ [220], légèrement inférieur au pH utilisé en routine (4,4) et l'acide clavulanique possède un $pK_a = 2,7$ [221], inférieur au pH utilisé en routine (4,4), cependant sa présence sous forme de clavulanate favorise la présence de la forme non protonée à ce pH.

Les formes non protonées des deux principes actifs favorisent leur interaction avec la phase stationnaire C18.

Le choix de cette phase stationnaire est préconisé par l'USP43-NF38 [213] et analogue à d'autres publications sur l'analyse simultanée de l'Amoxicilline et de l'Acide clavulanique.[254,255]

La longueur d'onde sélectionnée était de 220 nm lors de la RP-HPLC comme préconisée par l'USP43-NF38 et la BP2020(10.0).[213,217] Ceci est confirmé par la présence de groupements chromophores qui absorbent à cette longueur d'onde.

Le choix de cette longueur d'onde a aussi été confirmé par plusieurs publications qui ont démontré que les bandes de pics possédaient un niveau de détection maximal de l'amoxicilline dans la plage de 210 nm à 240 nm et pour l'acide clavulanique entre 210 nm et 230 nm, ce qui a amené au choix de 220 nm comme longueur d'onde de travail car les deux pics avaient une réponse significative à cette valeur.[256–258]

Concernant les impuretés qui sont dosés par la RP-UHPLC, un gradient d'élution délivré par une pompe quaternaire était nécessaire en raison de la diversité structurale des impuretés issues de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique, et la longueur d'onde choisie était de 210nm comme préconisé par l'USP43-NF38.[214]

De ce fait nous avons conclu que la méthode de choix pour le dosage et l'uniformité de teneur était la RP-HPLC et la méthode de choix pour le dosage des impuretés était la RP-UHPLC en raison du nombre important d'impuretés présents pour les deux principes actifs et la faible durée d'analyse (16minutes) au lieu de la classique RP-HPLC qui durait 90 minutes pour finaliser l'analyse, ce qui est en accord avec l'objectif de l'ATP qui consiste à choisir la technologie la plus appropriée et la plus rentable lors du développement.[259]

Chapitre III : Discussion

Le deuxième volet de l'ATP a ciblé les critères de qualité et de performance des méthodes et des appareillages utilisés, à savoir les critères de validité des méthodes et les critères de conformité des systèmes employés en routine.

Les critères de validité ont concerné la spécificité de la méthode, sa linéarité dans l'intervalle de dosage choisi, son exactitude qui doit assurer que 95% des résultats soient compris dans les limites d'acceptation, et sa robustesse. Le respect de ces critères nous a amené à valider la méthode RP-HPLC par la nouvelle approche de la SFSTP2003-2006 et à évaluer sa robustesse par l'utilisation des plans d'expériences que nous allons détailler plus loin.

Concernant la conformité des systèmes (System suitability) nous nous sommes référés aux exigences de l'USP43-NF38 et à aux exigences internes pour la RP-HPLC et à des exigences internes pour la RP-UHPLC.

Les éléments de l'ATP cités ci-dessus convergent tous avec les lignes directrices de l'ICHQ14 pour une approche améliorée lors du développement d'une procédure analytique. [33]

2-2 : Identification des CQAs

Après l'établissement des ATPs, nous avons identifié les CQAs des méthodes RP-HPLC et RP-UHPLC. Ces paramètres permettent d'améliorer les performances de la méthode, et sont choisis en se référant à des exemples de la littérature ou à des données rétrospectives de la substance à analyser. Ils peuvent aussi être contrôlés en routine afin de surveiller la qualité des résultats fournis.[2,260]

Les paramètres choisis pour la RP-HPLC étaient le nombre de plateaux théoriques, les temps de rétention, les facteurs de trainée et de rétention de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique et la résolution entre les pics de ces deux principes actifs.

Les paramètres choisis pour la RP-UHPLC étaient le nombre de plateaux théoriques de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique, la résolution entre le pic de l'acide clavulanique et les pics des impuretés (solution de résolution), les temps de rétention relatifs des impuretés et leur pourcentage.

Ces paramètres ont été choisis à cause de leur importance dans l'analyse chromatographique. Le nombre de plateaux théoriques contenus dans une colonne est directement lié au taux d'équilibre et mesure l'efficacité de la séparation qui augmente sensiblement avec ce nombre. Le temps de rétention est un paramètre caractéristique de chaque soluté et dépend du débit de la phase mobile qui doit être stable tout au long de l'analyse. [261]

Concernant les impuretés, chacune d'elle doit être identifiée par un temps de rétention relatif plus reproductible que le temps de rétention net.[262,263]

Chapitre III : Discussion

Le facteur de trainée qui mesure l'asymétrie, nous renseigne sur les interactions fortes entre l'analyte et la phase stationnaire. Toute déformation du pic peut affecter la spécificité de la méthode en impactant la résolution entre les pics.[262,264]

Le facteur de rétention (Appelé aussi facteur de capacité) est un paramètre très important en chromatographie pour définir les performances des colonnes et peut être très impacté par la composition de la phase mobile. [264,265]

Ces CQAs sont les paramètres les plus vitaux qui, dans leurs limites définies, garantissent la qualité de la méthode et suivent les objectifs énoncés dans l'ATP. Ils sont assez similaires aux CQAs sélectionnés lors de l'utilisation de l'HPLC ou l'UHPLC comme méthode d'analyse dans plusieurs publications, à savoir le temps de rétention, le nombre de plateaux théorique, la résolution, le facteur de trainée, le pourcentage d'impuretés dans l'échantillon, etc.[266–268]

Les CQAs dépendent des CMAs (Qualité des réactifs, des solvants, des standards, etc.) et des CMPs (Température de la colonne, débit, pH de la phase mobile, etc.) qui doivent être contrôlés tout au long de la procédure analytique afin d'assurer une qualité constante des résultats.[269]

2-3 : Evaluation des risques

Afin d'identifier les CMAs et les CMPs nous avons entrepris une évaluation des risques conformément aux directives de l'ICHQ9.

Cette évaluation est un processus systématique, s'appuyant sur des outils scientifiques (Diagrammes d'Ishikawa, approche C-N-X, etc.), qui permet de contrôler et de communiquer l'examen des risques pour la qualité des données tout au long du cycle de vie du produit. Les variables telle que la préparation des échantillons, la qualité des réactifs et les conditions de fonctionnement des équipements, susceptibles d'affecter la qualité des résultats sont étudiées et évaluées afin de comprendre, éliminer ou atténuer les zones de risque.[270,271]

Dans ce but, lors d'un brainstorming, une étude initiale a été entreprise en se basant sur l'analyse préliminaire des risques (PHA). Cette analyse s'est présentée sous forme d'un tableau qui a relié les attributs des différents matériaux et les paramètres de la méthode au CQAs choisis précédemment. Chaque relation a été classée en risque élevé (Rouge), moyen (Orange) et faible (Vert) en fonction du degré d'impact afin d'identifier les attributs des matériaux critiques potentiels (p-CMAs) et les paramètres de la méthode critiques potentiels (p-CMPs).

Lors de la PHA de la RP-HPLC, nous avons identifié la composition de la phase mobile, le pH et le type de colonne comme attributs présentant un risque élevé pouvant impacter les cinq CQAs choisis, et cela pour les raisons suivantes :

Chapitre III : Discussion

- La phase mobile est composée d'un tampon phosphate et de méthanol (95 :5). Le méthanol, solvant protique, interagit préférentiellement avec l'amoxicilline et l'acide clavulanique en augmentant la sélectivité polaire due aux interactions des groupements polaires (l'azote, le groupement carbonyle, le groupement hydroxyle, le soufre, etc.) intégrés. Sa proportion est donc un facteur crucial qui conditionne la rétention des principes actifs en RP-HPLC.
- La forme de l'Amoxicilline trihydratée ($pK_{a1} = 3,2$ (acide) ; $pK_{a2} = 11,7$ (amine primaire)[210], et de l'acide clavulanique ($pK_a = 2,7$)[221], dépend sensiblement du pH. Le pH de 4,4 de la phase mobile va favoriser la forme non protonée de l'acide clavulanique et la protonation de la fonction acide de l'amoxicilline, ce qui favorise leur interaction avec la C18. De ce qui suit, nous pouvons conclure que la valeur du pH est décisive pour la rétention.
- La longueur de la colonne dépend du nombre de plateaux requis. Plus la colonne est longue à diamètre de particule constant, plus le nombre de plateaux est élevé. La colonne utilisée pour notre travail était une C18 (25cm x 4,6mm) 5 μ m, ainsi toute modification de la longueur ou du garnissage de la colonne va impacter de façon importante le nombre de plateaux théoriques, les temps de rétention, et d'autres paramètres chromatographiques.

La filtration sur filtre de 0,45 μ m, la pureté des produits et la qualité des solvants utilisés et le débit, ont aussi étaient identifiés comme des attributs ayant un risque moyen ou élevé pouvant impacter quelques CQAs, et cela pour les raisons suivantes :

- La filtration sur filtre polyfluorure de vinylidène (PVDF) de 0,45 μ m pour les échantillons ou sur filtre polytétrafluoroéthylène (PTFE) de 0,45 μ m pour la phase mobile est une étape indispensable dans la préparation des échantillons et des phases mobiles. En effet, la présence de particules en suspension diminue la durée de vie de la pompe, des injecteurs et des détecteurs et augmente l'adsorption de ces particules (Parfois de manière irréversible) sur les sites de fixation de la phase stationnaire. En plus, la filtration sous vide sur un support en verre fritté est un excellent moyen de dégazer grossièrement les phases mobiles, ce qui permet d'éliminer les bulles des gaz dissous altérant ainsi la stabilité de la pression. Pour cela, la filtration est considérée comme un outil de maintenance préventive en HPLC.
- L'utilisation de solvants ou de standards impurs provoque l'adsorption irréversible d'impuretés en tête de colonne qui bloquent les sites d'adsorption et modifient la sélectivité de la colonne et conduisent finalement à une division des pics dans le

Chapitre III : Discussion

chromatogramme. Ces solvants peuvent aussi engendrer des pics parasites qui réduisent la qualité de la séparation et altèrent ainsi les paramètres chromatographiques, d'où la nécessité d'utiliser des solvants strictement de grade HPLC et de standards d'une pureté élevée.

- Le débit a un effet significatif sur le nombre de plateaux théoriques qui tend à diminuer avec un débit plus élevé en raison de la résistance plus élevée au transfert de masse (Le terme C de l'équation de Van Deemter C), et peut même causer une augmentation de la pression et un élargissement des pics.

Le temps de rétention des analytes dépend aussi du débit et de la stabilité de la phase mobile ; plus le débit est rapide, plus le temps de rétention de l'analyte est faible.

Cependant, le facteur de rétention est indépendant du débit et ne dépend que des conditions opératoires surtout la polarité de la phase mobile.

Les attributs représentés par la pesée, la méthode de solubilisation, la dilution, la température de la colonne, le volume d'injection et la longueur d'onde de détection choisie, avaient un risque faible ou moyen d'impacter les CQAs, et cela pour les raisons suivantes :

- La qualité de la pesée est primordiale pour préparer des solutions de titre connu, et conditionne la surface des pics, car la masse ou la concentration est directement proportionnelle à cette surface. Cependant, nous avons conclu que la masse pesée n'affecte pas les paramètres chromatographiques à l'exception du facteur de trainée qui peut être modifié par la présence de trainée au niveau des pics lors de la surcharge de l'échantillon (sample overloading).[263]
- La dissolution de l'échantillon par voie mécanique ou par les bains à ultrasons permet d'avoir des solutions limpides exemptes de particules solides et de les dégazer afin d'éliminer les bulles de gaz qui peuvent persister dans la solution, ce qui présente un risque moyen de perturber le temps de rétention, le facteur de rétention et la résolution en cas de mauvaise homogénéisation.

Notre produit est légèrement soluble en solution aqueuse à cause de la faible solubilité de l'amoxicilline trihydratée [230], ce qui nécessite une agitation mécanique de 15 minutes suivie d'une sonication de 10 minutes. La durée de la sonication ne doit pas être trop longue au risque de produire des points chauds qui augmentent la formation des pics artefacts réduisant ainsi la résolution.

- La dilution dans l'eau désionisée doit être effectuée à l'aide d'une verrerie de classe A. Une mauvaise dilution peut présenter un risque moyen de déformation du pic due à une irrégularité de concentration surtout dans la zone de dépôt de la substance en tête de

Chapitre III : Discussion

colonne. Cependant, la dilution présente un risque négligeable vis-à-vis des autres paramètres chromatographiques.

- Le changement de température peut modifier la solubilité et le coefficient de diffusion des analytes dans la phase mobile à cause de la modification de sa viscosité.[262,272] Les temps de rétention diminuent de 1 à 2 % pour chaque augmentation de température de la colonne de 1 °C et les phénomènes de co-élution ou l'inversion de la sélectivité peut être rencontrés.[273,274]
- Nos injections étaient effectuées avec une colonne placée dans un four thermostaté à 25°C, cependant des fluctuations de température ont été signalé par le passé, d'où la nécessité d'un control régulier. Ces fluctuations représentent un risque moyen d'impacter les paramètres chromatographiques, en particulier les facteurs de rétention. La température de la chambre d'injection, quant à elle, doit être maintenue à 5°C pour éviter la dégradation de l'acide clavulanique qui doit être conservé à une température entre 2°C et 8°C. [230]
- Le volume d'injection doit être maintenu entre 1 et 5% du volume mort de la colonne afin de minimiser les déformations des pics dues à une surcharge volumique. [275] Une augmentation du volume d'injection augmente la dispersion du système (Instrumental bandwidth, IBW) et l'élargissement des pics. De plus, des injections à faible volume avec un minimum de Carryover sont également nécessaires pour augmenter la sensibilité.[272,276] Tous ces changements influent sur les caractéristiques chromatographiques d'où la nécessité d'injecter un faible volume (20µL dans notre cas).
- La longueur d'onde de détection utilisée est de 220nm. Cette valeur préconisée par l'USP43-NF38 est supérieure à l'UV cutoff du méthanol (205nm) et l'UV cutoff du tampon phosphate (190nm), ce qui élimine l'absorption de la phase mobile.[262,277] Une variation de la longueur d'onde peut influencer sur la ligne de base et l'aire des pics peut être modifiée, cependant le risque reste moyen avec le respect strict des conditions chromatographiques.

L'élution isocratique dans le cas de la RP-HPLC est le mode préconisé par l'USP43-NF38 et la BP2020(10.0). Le mode isocratique utilisé pour le dosage simultané de l'Amoxicilline et de l'Acide clavulanique a été cité dans plusieurs publications et représente le mode le plus adéquat pour cette analyse en raison de sa facilité de mise en œuvre et de son économie.[256,278]

Ce mode est programmé en avance et ne présente aucun risque d'influencer les paramètres chromatographiques.

Chapitre III : Discussion

Lors de la PHA de la RP-UHPLC, nous avons identifié la composition de la phase mobile et le gradient d'éluant, et le type de colonne comme attributs présentant un risque élevé pouvant impacter les CQAs choisis, et cela pour les raisons suivantes :

- La phase mobile est composée d'un tampon phosphate et d'acétonitrile. L'acétonitrile solvant aprotique, modérément polaire, interagit aussi avec l'amoxicilline et l'acide clavulanique en augmentant la sélectivité polaire due aux interactions des groupements polaires (Azote, liaison acétylénique) intégrés.

Même si sa polarité est inférieure à celle du méthanol, il est préféré en RP-UHPLC (Méthode sensible) à cause de son excellent pouvoir solubilisant, son application en tant qu'éluant fournit des pics d'une grande pureté, son cutoff (195nm) inférieur à celui du méthanol, sa faible viscosité, sa forte inertie, sa grande densité qui limite les fluctuations de pression, sa forte miscibilité avec les tampons, sa grande pureté qui limite l'apparition des pics fantômes très présents en analyse par gradient, et son fort pouvoir éluotrique qui minimise les temps de rétention.[279]

L'analyse par gradient, dans laquelle la force de la phase mobile est augmentée avec le temps, est la mieux adaptée à des échantillons complexes et à ceux contenant des analytes de polarités larges comme les impuretés. Cependant, elle est plus difficile à mettre au point parce que l'optimisation de plusieurs paramètres supplémentaires est nécessaire : pourcentage du solvant organique au début et à la fin de l'analyse, débit, dwell volume, et temps de gradient (t_G).[262]

Nous avons conclu que l'analyse par gradient avec l'utilisation de l'acétonitrile comme modificateur organique est la méthode de choix pour l'analyse des impuretés de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique et que chaque modification dans la proportion du solvant organique ou des paramètres du gradient peut accélérer ou retarder l'éluant de certaines impuretés qui peuvent ne pas être détectés, dériver la ligne de base, retarder le conditionnement de la colonne, modifier les dwell volumes, impacter les paramètres chromatographiques et fausser le pourcentage des impuretés dans l'échantillon, ce qui représente un risque élevé pour notre analyse.

- La colonne utilisée dans notre étude était une colonne C18 de (100mm x 2,1mm)2,5 μ m, ce qui a augmenté la résolution et la vitesse de l'analyse par rapport à l'ancienne méthode HPLC. Toute modification des caractéristiques de cette colonne influe considérablement sur les paramètres chromatographiques. En plus, cela peut accélérer ou retarder l'éluant de certaines impuretés qui peuvent ne pas être détectés après 16 minutes qui est la durée de séparation.

Chapitre III : Discussion

La température, le pH et la longueur d'onde ont aussi été identifiés comme des attributs ayant un risque moyen ou élevé pouvant impacter les CQAs, et cela pour les raisons suivantes :

- Comme cité plus haut, la variation de la température de la colonne influe sur la viscosité de la phase mobile, le coefficient de diffusion des analytes et leur temps de rétention.
- Suivant le pKa des molécules, le pH peut modifier l'ionisation des principes actifs et leurs impuretés, leur solubilité et leur ordre d'élution ce qui peut fausser l'interprétation des chromatogrammes.
- Le respect de la longueur d'onde choisie (210nm) et sa stabilité est primordiale en raison du gradient d'élution et le risque de dérive de la ligne de base. En plus, tout changement dans la longueur d'onde peut masquer certaines impuretés qui deviennent non détectable ou modifier l'air de leurs pics.

La solubilisation, la pesée, la dilution, la filtration sur filtre de 0,2µm, la pureté des produits et la qualité des solvants, le débit, le chauffage et le volume d'injection ont aussi été identifiés comme des attributs ayant un risque faible, moyen ou élevé pouvant impacter les CQAs, et cela pour les raisons suivantes :

- La solubilisation est d'autant plus nécessaire en RP-UHPLC que les dimensions des particules de la phase stationnaire sont très petites (2,5µm), sans oublier l'avantage de dégazer les solutions.
En RP-UHPLC la sonication produit des points chauds qui augmentent la formation des pics artefacts et augmente la formation d'impuretés, d'où la nécessité de respecter rigoureusement le temps de mélange (15 minutes) et de sonication (10 minutes).
- La masse des produits pesés doit être la plus exacte possible afin de ne pas impacter la concentration des impuretés analysées, cependant elle n'affecte pas les temps de rétention de ces composés.
- Contrairement à la RP-HPLC la dilution s'effectue dans l'acétonitrile, excellent solubilisant, ce qui réduit le risque de présence de particules solide dans la solution, mais les durées d'homogénéisation (15 minutes) et de sonication (10 minutes) doivent être respectées pour éviter tout risque de présence de particules insolubles ou de gaz non dissous.
- La filtration sur des filtres à membrane de 0,2µm ou sur des filtres à seringue en cellulose régénérée de 0,2 µm est indispensable en RP-UHPLC d'autant plus que le diamètre des particules est extrêmement réduit ce qui permet d'éviter le colmatage et la perturbation

Chapitre III : Discussion

des temps de rétention, sans pour autant impacter la concentration en impuretés elle-même.

- La qualité des produits et des solvants peut impacter les temps de rétention relatifs en modifiant les facteurs de trainée et en générant des pics parasites mais n'affecte pas la concentration des impuretés.
- Le débit a une influence considérable sur la rétention et la sélectivité dans l'analyse par gradient. Les pics ont une largeur similaire dans l'élution par gradient puisqu'ils sont forcés d'éluer avec une composition de la phase mobile de plus en plus forte. Le débit est aussi lié au temps du gradient, et à la capacité des pics.[262,272]

L'application d'un faible débit (0,3 mL/min) associé à une colonne de faible longueur et un gradient d'élution constitue la combinaison idéale pour la séparation des impuretés dans un temps relativement court. Toute modification du débit peut changer les temps de rétention mais n'affecte pas la concentration des impuretés.

- La durée du chauffage et son intensité (Une heure à 60°C) sont des paramètres utilisés pour la préparation des solutions de résolution. Toute modification provoquera un changement dans le pourcentage d'impuretés présents, mais n'affectera pas leur temps de rétention.
- Vu que le volume injecté doit être entre 1 et 5% du volume mort de la colonne, toute augmentation excessive peut entraîner une forte trainée des pics et fausser les temps de rétention.

Cette analyse PHA initiale nous a renseigné sur les différents facteurs de risque et leur impact mais reste insuffisante lorsqu'elle est utilisée seule, d'où la nécessité de l'associer avec d'autres techniques. Dans ce but, nous avons entamé la réalisation d'un diagramme d'Ishikawa.

Ce diagramme a été réalisé pour la méthode RP-HPLC et RP-UHPLC afin de relier les p-CMAs et les p-CMPs répertoriés et classés dans la PHA aux CQAs par des relations de cause à effet.

Les diagrammes ont été conçus sur la base des connaissances expérimentales et théoriques antérieures en mettant en évidence plusieurs facteurs qui peuvent contribuer à la performance de la méthode, notamment en considérant la qualification des opérateurs, les caractéristiques et la qualification de l'appareillage utilisé, la qualité et les spécifications des matériaux, les attributs des méthodes et leurs spécifications et l'impact de l'environnement de travail.

Ce diagramme est une technique qui est devenue couramment utilisée dans l'évaluation des risques lors du développement de méthodes chromatographiques par l'approche AQbD car nous la retrouvons dans plusieurs publications récentes et permettent de relier et de sélectionner les attributs les plus influents pour une étude plus approfondie. [280–282]

Chapitre III : Discussion

Néanmoins, ce diagramme ne quantifie pas le niveau de risque des attributs ou leur criticité.

Une Analyse C-N-X combinée à l'approche FMEAC pour la RP-HPLC et la RP-UHPLC s'inscrit dans cette logique et de ce fait nous avons entrepris une étude quantitative des risques par l'application de ces deux approches.

Nous avons classé les causes de défaillances potentielles en variables à contrôler (C), facteurs de bruit (N) et à celles à examiner expérimentalement (X). Le score total représentait le produit des impacts des différents attributs sur les CQAs. Les impacts ont été classés selon une échelle en impact négligeable (Score 1), faible (Score 5) et élevé (Score 10).

Le score du (RPN) pendant l'étude (FMEAC) a été calculé selon une échelle de 1 à 5 pour classer la gravité (G) de la défaillance, la probabilité (O) de la défaillance et la probabilité que la défaillance soit détectée (D), et selon sa valeur, les risques ont été classés en risque faible ($RPN < 5$), risque moyen ($5 \leq RPN < 10$) et risque élevé ($RPN \geq 10$).

La FMEAC a été appliquée pour évaluer les risques pour le développement de plusieurs méthodes analytiques comme la spectrophotométrie UV-visible [283], l'UHPLC[268], et l'HPLC.[157] De même, la Matrice des causes et des effets a été préconisée pour le développement des méthodes chromatographiques[163,284], telles que l'HPLC [171], et la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS).[285]

Une évaluation combinée des deux approches rassemblant diverses variables peut être utilisée pour découvrir les variables de méthode potentielles affectant les réponses sélectionnées. Cette combinaison présente un avantage indéniable car elle permet d'obtenir un score précis du numéro de priorité du risque (RPN) pendant l'étude FMEAC.[172,286]

Il en sort de l'analyse des attributs de la RP-HPLC que le débit, la température de la colonne, la précision du pH de la solution tampon et la proportion du méthanol présentaient des scores finaux parmi les plus élevés (≥ 400). Ces scores présentent la somme de leurs impacts sur les différents CQAs de la méthode avec un score de gravité (G) très élevé démontrant le risque de fausser les résultats.

L'effet du débit, de la température de la colonne, du pH de la solution tampon et le pourcentage du méthanol dans la phase mobile avaient un score d'impact entre 5 et 10 sur la majorité des CQAs à l'exception du facteur de capacité qui est indépendant du débit (Score 1). Ces attributs ont aussi reçu le score de 5 pour la gravité même si leur détectabilité pouvait échapper à l'analyste dans certains cas et leur occurrence n'était pas trop élevée. Leur RPN a suggéré un risque élevé ou moyen sauf pour la température qui représentait un risque faible.

Chapitre III : Discussion

L'analyse des autres attributs a montré des scores faibles à élevés, mais ces attributs étaient soit des paramètres qui doivent être contrôlés car il représentait un risque élevé de défaillance, soit des facteurs de bruits difficiles à contrôler, ou nécessitant des mesures pour réduire leurs effets sur les résultats analytiques.

Les éléments critiques qui ressortent de cette analyse sont des paramètres de méthode qui présentent soit un score élevé soit un RPN élevé. Sur cette base nous avons sélectionné le débit, la filtration, la durée du conditionnement, la précision du pH de la solution tampon, le pourcentage du méthanol et la sonication comme des CMPs.

A la fin, nous avons sélectionné les attributs à explorer par une étude expérimentale à savoir le débit de la phase mobile, le pH de la solution tampon constituant la phase mobile, le pourcentage du méthanol dans cette phase et la température de la colonne même si ce dernier facteur était classé comme ayant un risque faible car nous avons démontré qu'il pouvait impacter les temps de rétention et dans ce but nous avons décidé d'explorer expérimentalement ses effets.

Concernant l'analyse des attributs de la RP-UHPLC, nous avons observé que le débit, la température de la colonne et la précision du pH de la solution tampon présentaient des scores finaux parmi les plus élevés (≥ 250). Ces scores présentent la somme de leurs impacts sur les différents CQAs de la méthode avec un score de gravité (G) très élevé démontrant le risque de fausser les résultats.

L'effet du débit, de la température de la colonne et du pH de la solution tampon avaient un score d'impact entre 5 et 10 sur les CQAs. Ces attributs ont aussi reçu le score de 5 pour la gravité même si leur détectabilité pouvait échapper à l'analyste dans certains cas et leur occurrence n'était pas trop élevée. Leur RPN a suggéré un risque élevé ou moyen sauf pour la température qui représentait un risque faible.

L'analyse des autres attributs a montré des scores faibles à élevés, mais ces attributs étaient soit des paramètres qui doivent être contrôlés car il représentait un risque élevé de défaillance, soit des facteurs de bruits difficiles à contrôler, ou nécessitant des mesures pour réduire leurs effets sur les résultats analytiques.

Les éléments critiques qui ressortent de cette analyse sont des paramètres de méthode qui présentent soit un score élevé soit un RPN élevé. Sur cette base nous avons sélectionné le débit, la filtration, la durée du conditionnement, le chauffage et sa durée pour les solutions de résolution, la précision du pH de la solution tampon, le gradient d'éluion et la sonication comme des CMPs.

Chapitre III : Discussion

A la fin, nous avons sélectionné les attributs à explorer par une étude expérimentale pour les solutions de résolution et pour le dosage des impuretés par RP-UHPLC. Pour les solutions de résolution les facteurs sélectionnés étaient le débit de la phase mobile, le pH de la solution tampon constituant la phase mobile, le chauffage et sa durée et la température de la colonne. Concernant le dosage des impuretés les facteurs retenus étaient le débit de la phase mobile, le pH de la solution tampon constituant la phase mobile et la température de la colonne.

2-4 : Conception d'expériences et développement d'un MODR

Conformément aux directives de la FDA et de l'ICH nous avons entrepris l'étude des effets des facteurs sélectionnés par la méthode des plans d'expérience. La méthode utilisée était la méthode des plans de criblage définitifs qui permet de cribler et d'optimiser les facteurs avec moins d'expérience que les plans classiques.

L'approche traditionnelle de la conception des expériences consistait à commencer par un plan de criblage pour sélectionner les effets principaux importants et leurs interactions qui sont statistiquement significatifs. Enfin, en ajoutant quelques points axiaux et centraux, les plans de surface de réponse étaient utilisés pour optimiser ces facteurs. Les plans de criblage définitifs permettent d'exécuter tout cela en une seule étape et avec moins d'expériences. Plusieurs auteurs ont choisi ces plans pour optimiser directement les paramètres des méthodes analytiques tels que l'HPLC, la chromatographie liquide ultraperformance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (Ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)[287–289], et la GC.[290]

Les facteurs explorés lors de la RP-HPLC et la RP-UHPLC (Solutions de résolution et dosage des impuretés) ont reçu deux niveaux bas et haut (-1 et +1) et un point central 0 qui nous a permis de rechercher les courbures des effets principaux (Tableaux 47,48 et 49).

La première réponse analysée était le nombre de plateaux théoriques de l'Amoxicilline. Nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs ($p < 0,01$) et influents sur cette réponse étaient le débit ($p = 0,0004$) et la température de la colonne ($p = 0,0011$). Cependant le débit (LogWorth=3,367) était plus influent que la température (LogWorth=2,973), ce qui est en concordance avec l'analyse des risques précédente.

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 23,6147 et sa valeur $p = 0,0002$ indiquant une forte signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Chapitre III : Discussion

Selon les profils de prévision et les graphiques des isoréponses nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,910213 lorsque nous opérons à faible débit (-1 en unités codées, 1,5 mL/min en unités usuelles) et à température élevée (+1 en unités codées, 30°C en unités usuelles). Ces conditions sont optimales pour avoir une efficacité de 8375,608 nettement supérieure aux 550 plateaux préconisés par la SOP.

La deuxième réponse analysée était le nombre de plateaux théoriques de l'Acide clavulanique. Nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs ($p < 0,05$) et influents sur cette réponse étaient le débit ($p = 0,0004$) et le pourcentage du méthanol dans la phase mobile ($p = 0,0146$). Cependant le débit (LogWorth=3,420) était plus influent que le pourcentage du méthanol dans la phase mobile (LogWorth=1,834), ce qui est en concordance avec l'analyse des risques précédente.

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 18,0505 et sa valeur $p = 0,0005$ indiquant une forte signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision et les graphiques des isoréponses nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,736398 lorsque nous opérons à faible débit (-1 en unités codées, 1,5 mL/min en unités usuelles) et lorsque le pourcentage du méthanol est au plus bas (-1 en unités codées, 3% en unités usuelles). Ces conditions sont optimales pour avoir une efficacité de 7623,931 nettement supérieure aux 550 plateaux préconisés par la SOP.

D'après ces résultats nous avons conclu que les paramètres influents connus pour impacter l'efficacité ont été identifiés dans cette analyse mais la diminution du débit (1,5 mL/min), qui minimise la hauteur des plateaux théorique et augmente leur nombre, reste le facteur le plus important pour augmenter le nombre de plateaux théoriques. La température, dont l'augmentation (30°C) diminue la viscosité de la phase mobile et favorise les équilibres dans la colonne, joue aussi un rôle dans l'augmentation de l'efficacité à côté du pourcentage du méthanol dont la diminution (3%) diminue le pouvoir éluant de la phase mobile ce qui favorise aussi les équilibres dans la colonne.

La troisième réponse analysée était la résolution entre le pic de l'amoxicilline et le pic de l'acide clavulanique. Nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs ($p < 0,01$) et influents sur cette réponse étaient le débit ($p = 0,0014$), le pH du tampon phosphate ($p < 0,0001$) et le pourcentage du méthanol dans la phase mobile ($p < 0,0001$) avec une influence quadratique significative du pH sur la résolution ($p = 0,0006$) visualisée sous forme de dépendance non linéaire dans les profileurs de surface, cependant le pourcentage du méthanol

Chapitre III : Discussion

(LogWorth=4,377) était le plus influent, ce qui est en concordance avec l'analyse des risques précédente.

Cette analyse était confirmée par la droite de Henry où ces effets actifs ne sont pas alignés sur la ligne rouge de pente 1 qui représente les effets inactifs dus aux erreurs expérimentales.

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 42,1647 et sa valeur $p < 0,001$ indiquant une forte signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision et les profileurs de surface nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,89574 lorsque nous opérons à faible débit (-1 en unités codées, 1,5 mL/min en unités usuelles), lorsque le pourcentage du méthanol est au plus bas (-1 en unités codées, 3% en unités usuelles) et lorsque la valeur du pH est aussi au plus bas (-1 en unités codées, 3,4 en unités usuelles). Ces conditions sont optimales pour avoir une résolution de 20,11 nettement supérieure à 3,5 préconisée par la SOP.

D'après ces résultats nous avons conclu que les paramètres influents connus pour impacter la résolution ont été identifiés dans cette analyse mais la diminution du pourcentage du méthanol (3%) reste le facteur le plus important pour augmenter le nombre de plateaux théoriques. Le débit, dont la diminution (1,5 mL/min) joue aussi un rôle dans l'augmentation de l'efficacité à côté du pH dont la diminution (3,4) favorise l'interaction surtout de l'amoxicilline avec la phase stationnaire et augmente son temps de rétention.

La quatrième réponse analysée était le temps de rétention de l'Amoxicilline. Nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs et influents sur cette réponse étaient le débit ($p < 0.0001$), le pH du tampon phosphate ($p = 0.0001$), le pourcentage du méthanol dans la phase mobile ($p < 0.0001$) et la température de la colonne ($p = 0.0106$) avec une influence quadratique significative du pH ($p = 0.001$) et du pourcentage du méthanol ($p = 0.0316$) visualisée sous forme de dépendance non linéaire dans les profileurs de surface, cependant le pourcentage du méthanol (LogWorth=4,377) était le plus influent, ce qui est en concordance avec l'analyse des risques précédente.

Le tracé correspondant à l'interaction pH*pourcentage du méthanol nous a révélé que l'interaction n'était pas négligeable et qu'il fallait la prendre en compte pour faire l'interprétation ce qui est en accord avec sa valeur $p < 0,01$. Cette interaction a montré que le temps de rétention optimal (8,5 minutes) est obtenu au niveau haut du pH lorsque le pourcentage du méthanol est au niveau bas. Ce temps de rétention est aussi obtenu au niveau haut du

Chapitre III : Discussion

pourcentage du méthanol lorsque le pH est au niveau bas mais avec une courbure plus prononcée.

Cette analyse était confirmée par la droite de Henry où ces effets actifs ne sont pas alignés sur la ligne rouge de pente 1 qui représente les effets inactifs dus aux erreurs expérimentales.

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 87,7325 et sa valeur $p < 0,001$ indiquant une forte signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision et les profileurs de surface nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 1 lorsque la valeur de débit est de 0,4277281 en unités codées (2,21 mL/min en unités usuelles), la valeur du pourcentage du méthanol est de -0,119805 en unités codées (4,76% en unités usuelles), la valeur du pH est de -0,338243 en unités codées (4,06 en unités usuelles) et la valeur de la température est de 0,0532758 en unités codées (25,27°C en unités usuelles). Ces conditions sont optimales pour avoir un temps de rétention de 5 minutes analogue à celui rencontré en routine.

La cinquième réponse analysée était le temps de rétention de l'Acide clavulanique. Nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs ($p < 0,01$) et influents sur cette réponse étaient le débit ($p < 0,0001$) et le pourcentage du méthanol dans la phase mobile ($p < 0,0001$). Les autres facteurs influents ($p < 0,05$) étaient le pH du tampon phosphate ($p = 0,0428$) et la température de la colonne ($p = 0,0319$), cependant le débit (LogWorth=5,833) était le plus influent, ce qui est en concordance avec l'analyse des risques précédente.

Cette analyse était confirmée par la droite de Henry où ces effets actifs ne sont pas alignés sur la ligne rouge de pente 1 qui représente les effets inactifs dus aux erreurs expérimentales.

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 64,5130 et sa valeur $p < 0,001$ indiquant une forte signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision et graphiques d'isoreponses nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 1 lorsque la valeur de débit est de 0,1750116 en unités codées (2,09 mL/min en unités usuelles), la valeur du pourcentage du méthanol est de 0,3900054 en unités codées (5,78% en unités usuelles), la valeur du pH est de -0,031709 en unités codées (3,96 en unités usuelles) et la valeur de la température est de -0,574864 en unités codées (22,15°C en unités usuelles). Ces conditions sont optimales pour avoir un temps de rétention de 3 minutes analogue à celui rencontré en routine.

Chapitre III : Discussion

D'après ces résultats nous avons conclu que les paramètres influents connus pour impacter le temps de rétention à savoir le débit, le pH, le pourcentage du méthanol et la température ont été identifiés dans cette analyse avec un impact plus prononcé du pH sur l'amoxicilline vu son pK_{a1} de 3,2 ce qui impacte son ionisation et donc son temps de rétention, contrairement à l'acide clavulanique moins impacté par ce pH vu son pK_a de 2,7 est inférieur à tous les pH utilisés lors de l'analyse.

La sixième réponse analysée était le facteur de rétention de l'amoxicilline. Nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs ($p < 0,01$) et influents sur cette réponse étaient le pH ($p = 0.0029$) et le pourcentage du méthanol dans la phase mobile ($p < 0.0012$), cependant le pourcentage du méthanol (LogWorth=2,908) était le plus influent, ce qui est en concordance avec l'analyse des risques précédente.

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 17,5867 et sa valeur $p = 0,0005$ indiquant une forte signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision et les graphiques d'isoreponses nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 1 lorsque nous opérons à pH faible (-1 en unités codées, 3,4 en unités usuelles) et lorsque la valeur du pourcentage du méthanol est de 0,0085868 en unités codées (5,02% en unités usuelles). Ces conditions sont optimales pour avoir un facteur de rétention égal à 4,99 contrairement à 2,78 rencontré en routine.

La septième réponse analysée était le facteur de rétention de l'acide clavulanique. Nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs ($p < 0,01$) et influents sur cette réponse étaient la température de la colonne ($p = 0,0022$), le pH ($p = 0.0018$) et le pourcentage de méthanol ($p < 0.0001$), cependant le pourcentage du méthanol (LogWorth=4,893) était le plus influent, ce qui est en concordance avec l'analyse des risques précédente.

Cette analyse était confirmée par la droite de Henry où ces effets actifs ne sont pas alignés sur la ligne rouge de pente 1 qui représente les effets inactifs dus aux erreurs expérimentales.

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 36,8012 et sa valeur $p < 0,0001$ indiquant une forte signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision et les graphiques d'isoreponses nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 1 lorsque la valeur du pH est de 0,0215695 en unités codées (4,42 en unités usuelles), la valeur du pourcentage de méthanol est de 0,4408865 en unités codées

Chapitre III : Discussion

(5,88% en unités usuelles) et la valeur de la température est de -0,999993 en unités codées (20,000035°C en unités usuelles). Ces conditions sont optimales pour avoir un facteur de rétention égal à 1,25 proche de 1,16 rencontré en routine.

D'après ces résultats nous avons conclu que les paramètres influents connus pour impacter le facteur de rétention sont des conditions opératoires (Pourcentage du méthanol et température), et confirme l'indépendance du facteur de rétention du débit.

La huitième réponse analysée était le facteur de trainée de l'amoxicilline. Nous avons constaté que le facteur statistiquement significatif ($p < 0,01$) et influent sur cette réponse était la température de la colonne ($p = 0,0088$). Le pourcentage de méthanol ($p = 0,0660$) a été éliminé du modèle car $p > 0,05$.

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 8,4118 et sa valeur $p = 0,0144$ indiquant une signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations du facteur.

Selon le profil de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,700332 lorsque la température est au niveau intermédiaire (0 en unités codées, 25°C en unités usuelles) et le facteur de trainée valait 0,93 nettement inférieure à 1,5 (valeur maximale préconisée par la SOP).

La dernière réponse analysée était le facteur de trainée de l'acide clavulanique. Nous avons constaté que le facteur statistiquement significatif ($p < 0,05$) et influent sur cette réponse était la température de la colonne ($p = 0,0125$).

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 8,8870 et sa valeur $p = 0,0125$ indiquant une signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations du facteur.

Selon le profil de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,663612 lorsque la température est au niveau bas (-1 en unités codées, 20°C en unités usuelles). Cette condition est optimale pour avoir un facteur de trainée de 1,028 inférieure à 1,5 (Valeur maximale préconisée par la SOP).

D'après ces résultats nous avons conclu que le seul paramètre influent connu pour impacter le facteur de trainée à savoir la température de la colonne dont la diminution favorise l'interaction des analytes avec la phase stationnaire et améliore les équilibres, ce qui permet d'avoir un facteur proche de 1.

Chapitre III : Discussion

A la fin de cette analyse nous avons mis en place un MODR qui regroupait les différentes réponses analysées avec leurs exigences respectives, ce qui a permis de générer un espace de conception garantissant la robustesse de la méthode. A l'intérieur de cet espace nous avons choisi un point expérimental dont les coordonnées sont les suivantes :

- Débit : -0,621951 en unités codées et 1,68mL/min en unités usuelles ;
- Température de la colonne : -0,04878 en unités codées et 24,7°C en unités usuelles ;
- pH : -0,609756 en unités codées et 3,79 en unités usuelles ;
- Pourcentage du méthanol dans la phase mobile : -0,75 en unités codées et 3,5% en unités usuelles.

Ce point a été choisi loin des limites du MODR afin d'éviter toute dérive pendant la routine.

Pour les solutions de résolution, la première réponse analysée était la résolution entre le pic de l'impureté D1 et le pic de l'acide clavulanique. Nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs ($p \leq 0,01$) et influents sur cette réponse étaient la température de la colonne ($p=0,0006$), le pH du tampon phosphate ($p=0,0017$) avec une influence quadratique significative du pH sur la résolution ($p=0,0006$) visualisée sous forme de dépendance non linéaire dans les profilers de surface et le chauffage ($p=0,0007$) avec une influence quadratique significative du chauffage sur la résolution ($p=0,0072$) visualisée sous forme de dépendance non linéaire dans les profilers de surface, cependant le pH (LogWorth=3,445) était le plus influent, ce qui est en concordance avec l'analyse des risques précédente.

L'interaction Température de la colonne*Chauffage ($p=0,2582$) a été éliminé du modèle car $p > 0,1$. Ceci est confirmé par le profil d'interaction où les droites sont parallèles.

Cependant le tracé correspondant à l'interaction Température de la colonne*pH ($p=0,0023$) nous a révélé que celle-ci n'étaient pas négligeable et qu'il fallait la prendre en compte pour faire l'interprétation ce qui est en accord avec leurs valeur $p < 0,05$.

L'interaction Température de la colonne*pH a montré qu'une résolution faiblement supérieure à 1,1 (Préconisée par la SOP) est obtenue au niveau haut du pH lorsque la température est au niveau intermédiaire mais cette résolution augmente ($R_s=2$) lorsqu'on procède avec le niveau bas du pH. De même, la résolution est fortement diminuée lorsque le pH est à son niveau supérieur et la température à son niveau bas.

Cette analyse était confirmée par la droite de Henry où ces effets actifs ne sont pas alignés sur la ligne rouge de pente 1 qui représente les effets inactifs dus aux erreurs expérimentales.

Chapitre III : Discussion

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 30,5381 et sa valeur $p=0,0003$ indiquant une forte signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision et les profileurs de surface nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,997558 lorsque nous opérons à faible température (-1 en unités codées, 20°C en unités usuelles), lorsque le chauffage est au plus haut niveau (+1 en unités codées, 70°C en unités usuelles) et lorsque la valeur du pH est à -0,325019 en unités codées (5,27 en unités usuelles). Ces conditions sont optimales pour avoir une résolution de 3,23 nettement supérieure à 1,1 préconisée par la SOP.

La deuxième réponse analysée était la résolution entre le pic de l'impureté D2 et le pic de l'acide clavulanique. Nous avons constaté que le facteur statistiquement significatif ($p\leq 0,01$) et influent sur cette réponse était la température du chauffage ($p=0,0036$), ce qui est en concordance avec l'analyse des risques précédente.

L'effet quadratique Chauffage*Chauffage ($p=0,1363$) a été éliminé du modèle car $p>0,1$.

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 12,4130 et sa valeur $p=0,0048$ indiquant une forte signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision et les profileurs de surface nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,540285 lorsque nous opérons à haute température (+1 en unités codées, 70°C en unités usuelles). Cette condition est optimale pour avoir une résolution de 4,85 nettement supérieure à 2,5 préconisée par la SOP.

D'après ces résultats nous avons conclu que le chauffage élevé était le facteur commun influent pour les deux réponses, et permet de former les deux impuretés qualitativement et quantitativement ce qui augmente leurs résolutions par rapport au pic de l'acide clavulanique.

A la fin de cette analyse nous avons mis en place un MODR qui regroupait les différentes réponses analysées avec leurs exigences respectives, ce qui a permis de générer un espace de conception garantissant la robustesse de la méthode. A l'intérieur de cet espace nous avons choisi un point expérimental dont les coordonnées sont les suivantes :

- Température de la colonne : -0,408537 en unités codées et 22,96 °C en unités usuelles ;
- pH : -0,170732 en unités codées et 5,43 en unités usuelles ;
- Chauffage : 0,1402439 en unités codées et 61,40°C en unités usuelles.

Ce point a été choisi loin des limites du MODR afin d'éviter toute dérive pendant la routine.

Chapitre III : Discussion

Lors du dosage des impuretés, les deux premières réponses analysées (Nombre de plateaux théoriques de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique) ne montrent pas de facteurs statistiquement significatifs ($p \leq 0,05$), cependant, le débit est le facteur qui semble le plus influent, ce qui est confirmé par nos connaissances sur l'impact du débit sur le nombre de plateaux théoriques d'une colonne.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D est proche de 0,42 pour les deux réponses lorsque nous opérons à température élevée (+1 en unités codées, 30°C en unités usuelles), à débit élevé (+1 en unités codées, 0,5 mL/min en unités usuelles) et à pH élevé (+1 en unités codées, 6,6 en unités usuelles). Ces conditions optimales permettent d'avoir un nombre de plateaux théoriques supérieurs à 2000, nombre minimal préconisé par la SOP.

Ensuite, nous avons entamer l'analyse des réponses concernant les temps de rétention relatifs et le pourcentage des impuretés.

Pour le TRR de l'impureté HPG, nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs ($p \leq 0,05$) et influents sur cette réponse étaient le débit ($p=0,0455$) avec une influence quadratique significative ($p=0,0144$) visualisée sous forme de dépendance non linéaire dans les profils de surface, le pH et son influence quadratique significative sur la réponse ($p=0,0395$) visualisée sous forme de dépendance non linéaire dans les profils de surface, cependant l'influence quadratique Débit*Débit (LogWorth=2,096) était la plus importante, ce qui est confirmé par l'analyse des risques précédente.

Le tracé correspondant à l'interaction Débit*pH ($p=0,0490$) nous a révélé que celle-ci n'était pas négligeable et qu'il fallait la prendre en compte pour faire l'interprétation ce qui est en accord avec leurs valeur $p < 0,05$.

L'interaction Débit*pH a montré qu'un TRR de 0,25 (Préconisé par la SOP) est obtenu au niveau bas du débit lorsque le pH est au niveau supérieur. De même, cette valeur est obtenue lorsque le pH est à son niveau inférieur et le débit à son niveau supérieur.

Cette analyse était confirmée par la droite de Henry où ces effets actifs ne sont pas alignés sur la ligne rouge de pente 1 qui représente les effets inactifs dus aux erreurs expérimentales.

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 7,051 et sa valeur $p=0,0117$ indiquant une signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Chapitre III : Discussion

Selon les profils de prévision et les profileurs de surface nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 1 lorsque la valeur du débit est à 0,2631328 en unités codées (0,3526 mL/min en unités usuelles) et lorsque la valeur du pH est à -0,517317 en unités codées (5,09 en unités usuelles). Ces conditions sont optimales pour avoir un TRR de 0,25 préconisée par la SOP.

Concernant le pourcentage de l'impureté HPG, nous avons constaté que le facteur statistiquement significatif et influent sur cette réponse était la température avec une influence quadratique significative ($p=0,0002$), ce qui se rapproche de l'analyse des risques précédente. Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 25,3129 et sa valeur $p=0,0001$ indiquant une signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut au maximum 0,08 lorsque la valeur de la température est à -0,02422 en unités codées (24,88°C en unités usuelles). Cette valeur de température permet d'avoir un pourcentage loin de la limite supérieur de 0,1% préconisée par la SOP.

Pour le TRR de l'impureté D1, nous avons constaté qu'il n'y avait pas de facteurs statistiquement significatifs ($p \leq 0,05$), cependant, le pH est le facteur qui semble le plus influent, ce qui est confirmé par nos connaissances sur l'impact du pH de la phase mobile sur les temps de rétention.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 1 lorsque la valeur de la température est à -0,063308 en unités codées (24,68°C en unités usuelles), la valeur du pH est à -0,063308 en unités codées (5,54 en unités usuelles) et la valeur du débit à son niveau supérieur (+1 en unités codées, 0,5 mL/min en unités usuelles). Ces conditions optimales permettent TRR égal à 0,47 préconisé par la SOP.

Concernant le pourcentage de l'impureté D1, nous avons constaté que le facteur statistiquement significatif et influent sur cette réponse était la température avec une influence quadratique significative ($p=0,0211$).

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 7,0134 et sa valeur $p=0,0125$ indiquant une signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D valait 0,88624 lorsque la valeur de la température est à -0,923 en unités codées (20,38°C en unités usuelles).

Chapitre III : Discussion

Cette valeur de température permet d'avoir un pourcentage égal à 0,01305% inférieur à la limite supérieure de 0,02% préconisée par la SOP.

Pour le TRR de l'impureté D2, nous avons constaté que le facteur statistiquement significatif et influent sur cette réponse était la température ($p=0,0158$). Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 7,1805 et sa valeur $p=0,0214$ indiquant une signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 1 lorsque la valeur de la température est à -0,859272 en unités codées (20,70°C en unités usuelles), ce qui permet d'avoir un TRR égal à 0,65 préconisé par la SOP.

Concernant le pourcentage de l'impureté D2, nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs et influents sur cette réponse était la température avec une influence quadratique significative ($p=0,0026$), le pH avec une influence quadratique significative ($p=0,0080$) et le débit avec une influence quadratique significative ($p=0,0082$), visualisés sous forme de dépendance non linéaire dans les profils de surface, ce qui se rapproche de l'analyse des risques précédente.

Le tracé correspondant à l'interaction Débit*Température de la colonne ($p=0,0107$) à l'interaction Débit*pH ($p=0,0171$) et l'interaction Température de la colonne*pH ($p=0,0107$) nous a révélé que celles-ci n'étaient pas négligeables et qu'il fallait les prendre en compte pour faire l'interprétation ce qui est en accord avec leurs valeur $p < 0,05$.

L'interaction Débit*Température de la colonne a montré qu'un pourcentage inférieur à 0,02% (Préconisé par la SOP) est obtenu au niveau bas du débit lorsque la température est au niveau supérieur. De même, cette valeur est obtenue lorsque le débit est à son niveau supérieur et la température à son niveau inférieur.

L'interaction Débit*pH a montré qu'un pourcentage maximum de 0,02% (Préconisé par la SOP) est obtenu au niveau bas du débit lorsque le pH est au niveau supérieur.

L'interaction Température de la colonne*pH a montré qu'un pourcentage inférieur à 0,02% (Préconisé par la SOP) est obtenu au niveau bas du pH et de la température. De même, cette valeur est obtenue lorsque le pH et la température sont à leurs niveaux supérieur.

Cette analyse était confirmée par la droite de Henry où ces effets actifs ne sont pas alignés sur la ligne rouge de pente 1 qui représente les effets inactifs dus aux erreurs expérimentales.

Chapitre III : Discussion

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 22,3654 et sa valeur $p=0,0134$ indiquant une signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,886734 lorsque la valeur de la température est à -0,999999 en unités codées ($\approx 20^\circ\text{C}$ en unités usuelles), la valeur du pH est à -0,887836 en unités codées (4,71 en unités usuelles), et le débit à sa valeur intermédiaire (0 en unités codées, 0,3 mL/min en unités usuelles) Ces conditions permettent d'avoir un pourcentage égal à 0,012% inférieur à la limite supérieure de 0,02% préconisée par la SOP.

Pour le TRR de l'impureté E1, nous avons constaté qu'il n'y avait pas de facteurs statistiquement significatifs ($p \leq 0,05$), cependant, la température est le facteur qui semble le plus influent, ce qui est confirmé par nos connaissances sur l'impact de la température de la colonne sur les temps de rétention.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D valait 0,99924 lorsque nous opérons à température basse (-1 en unités codées, 20°C en unités usuelles), à débit élevé (+1 en unités codées, 0,5 mL/min en unités usuelles) et à pH bas (-1 en unités codées, 4,6 en unités usuelles). Ces conditions optimales permettent TRR égal à 2,33 proche de 2,37 préconisé par la SOP.

Concernant le pourcentage de l'impureté E1, nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs et influents sur cette réponse était la température avec une influence quadratique significative ($p=0,0328$) et le pH avec une influence quadratique significative ($p=0,0314$) visualisée sous forme de dépendance non linéaire dans les profileurs de surface, ce qui se rapproche de l'analyse des risques précédente.

Le tracé correspondant à l'interaction Débit*Température de la colonne ($p=0,0139$) et à l'interaction Débit*pH ($p=0,0131$) nous a révélé que celles-ci n'étaient pas négligeables et qu'il fallait les prendre en compte pour faire l'interprétation ce qui est en accord avec leurs valeur $p < 0,05$. Les différentes interactions aux différents niveaux des facteurs conduisent à des réponses inférieures à 0,1%, limite supérieure préconisée par la SOP.

Cette analyse était confirmée par la droite de Henry où ces effets actifs ne sont pas alignés sur la ligne rouge de pente 1 qui représente les effets inactifs dus aux erreurs expérimentales.

Chapitre III : Discussion

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 6,6756 et sa valeur $p=0,0264$ indiquant une signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,297154 lorsque la valeur de la température est à -0,430335 en unités codées (22,85°C en unités usuelles), la valeur du pH est à -0,421052 en unités codées (5,18 en unités usuelles), et le débit à sa valeur basse (-1 en unités codées, 0,1 mL/min en unités usuelles). Ces paramètres permettent d'avoir un pourcentage égal à 0,033905% inférieur à la limite supérieure de 0,1% préconisée par la SOP.

Pour le TRR de l'impureté E2, nous avons constaté qu'il n'y avait pas de facteurs statistiquement significatifs ($p \leq 0,05$), cependant, le débit est le facteur qui semble le plus influent, ce qui est confirmé par nos connaissances sur l'impact du débit sur les temps de rétention.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 1 lorsque la valeur du pH est à -0,404925 en unités codées (5,19 en unités usuelles), la valeur du débit est à 0,8337821 en unités codées (0,4667 mL/min en unités usuelles), et la température à sa valeur basse (-1 en unités codées, 20°C en unités usuelles). Ces conditions optimales permettent TRR égal à 2,98 préconisé par la SOP.

Concernant le pourcentage de l'impureté E2, nous avons constaté qu'il n'y avait pas aussi de facteurs statistiquement significatifs ($p \leq 0,05$), cependant, le débit reste encore le facteur le plus influent.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,079973 lorsque la valeur de la température est à -0,106883 en unités codées (24,46°C en unités usuelles), le débit à sa valeur supérieure (+1 en unités codées, 0,5 mL/min en unités usuelles), et le pH à sa valeur basse (-1 en unités codées, 4,6 en unités usuelles). Ces paramètres permettent d'avoir un pourcentage égal à 0,004638% inférieur à la limite supérieure de 0,1% préconisée par la SOP.

Pour le TRR de l'impureté C, nous avons constaté qu'il n'y avait pas de facteurs statistiquement significatifs ($p \leq 0,05$), cependant, le débit est le facteur qui semble le plus influent, ce qui est confirmé par nos connaissances sur l'impact du débit sur les temps de rétention.

Chapitre III : Discussion

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 1 lorsque la valeur de la température est à 0,0685286 en unités codées (25,34°C en unités usuelles), la valeur du pH est à -0,632038 en unités codées (4,97 en unités usuelles), et le débit à sa valeur supérieure (+1 en unités codées, 0,5 mL/min en unités usuelles). Ces conditions optimales permettent TRR égal à 3,09 préconisé par la SOP.

Concernant le pourcentage de l'impureté C, nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs et influents sur cette réponse était la température, le pH et le débit avec une influence quadratique significative ($p < 0,0001$), visualisées sous forme de dépendance non linéaire dans les profileurs de surface, ce qui se rapproche de l'analyse des risques précédente. Le tracé correspondant aux interactions Débit*Température de la colonne, Débit*pH et Température de la colonne*pH ($p < 0,0001$) nous a révélé que celles-ci n'étaient pas négligeables et qu'il fallait les prendre en compte pour faire l'interprétation.

Les interactions Débit*Température et Débit*pH ont montré qu'un pourcentage maximum de 0,05% (Préconisé par la SOP) est obtenu au niveau 0,25 en unités codées (0,35mL/min en unités usuelles) du débit lorsque la température et le pH sont au niveau supérieur, ou au niveau -0,25 en unités codées (0,25mL/min en unités usuelles) du débit lorsque la température et le pH sont au niveau inférieur.

L'interaction Température de la colonne*pH a montré qu'un pourcentage maximum de 0,05% (Préconisé par la SOP) est obtenu au niveau 0,25 en unités codées (26,25°C en unités usuelles) de la température lorsque le pH est au niveau inférieur, ou au niveau -0,25 en unités codées (23,75°C en unités usuelles) de la température lorsque le pH est au niveau supérieur.

Cette analyse était confirmée par la droite de Henry où ces effets actifs ne sont pas alignés sur la ligne rouge de pente 1 qui représente les effets inactifs dus aux erreurs expérimentales.

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 707,4160 et sa valeur $p < 0,0001$ indiquant une forte signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,939664 lorsque la valeur de la température est à 0,4129065 en unités codées (27,06°C en unités usuelles), la valeur du pH est à -0,963183 en unités codées (4,64 en unités usuelles), et la valeur du débit à -0,677 en unités codées (0,1646 mL/min en unités usuelles). Ces paramètres permettent d'avoir un pourcentage égal à 0,042516 % inférieur à la limite supérieure de 0,05% préconisée par la SOP.

Chapitre III : Discussion

Pour le TRR de l'impureté J, nous avons constaté que le facteur statistiquement significatif et influent sur cette réponse était le débit ($p=0,0119$). Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 10,8995 et sa valeur $p=0,0071$ indiquant une forte signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,983616 lorsque nous opérons à débit élevé (+1 en unités codées, 0,5 mL/min), ce qui permet d'avoir un TRR égal à 3,809677 proche de 4,14 préconisé par la SOP.

Concernant le pourcentage de l'impureté J, nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs et influents sur cette réponse était la température, le pH et le débit avec une influence quadratique significative ($p<0,0001$), visualisées sous forme de dépendance non linéaire dans les profileurs de surface, ce qui se rapproche de l'analyse des risques précédente. Le tracé correspondant aux interactions Débit*Température de la colonne, Débit*pH et Température de la colonne*pH ($p<0,0001$) nous a révélé que celles-ci n'étaient pas négligeables et qu'il fallait les prendre en compte pour faire l'interprétation.

Les interactions Débit*Température et Débit*pH ont montré qu'un pourcentage maximum de 0,1% (Préconisé par la SOP) est obtenu au niveau 0,25 en unités codées (0,35mL/min en unités usuelles) du débit lorsque la température et le pH sont au niveau supérieur, ou au niveau -0,25 en unités codées (0,25mL/min en unités usuelles) du débit lorsque la température et le pH sont au niveau inférieur.

L'interaction Température de la colonne*pH a montré qu'un pourcentage maximum de 0,1% (Préconisé par la SOP) est obtenu au niveau 0,25 en unités codées (26,25°C en unités usuelles) de la température lorsque le pH est au niveau inférieur, ou au niveau -0,25 en unités codées (23,75°C en unités usuelles) de la température lorsque le pH est au niveau supérieur.

Cette analyse était confirmée par la droite de Henry où ces effets actifs ne sont pas alignés sur la ligne rouge de pente 1 qui représente les effets inactifs dus aux erreurs expérimentales.

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 3539,333 et sa valeur $p<0,0001$ indiquant une forte signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,900674 lorsque la valeur de la température est à 0,754 en unités codées (28,77°C en unités usuelles), la valeur du pH est à -0,054539 en unités codées (5,54 en unités usuelles), et le débit à sa valeur supérieure (+1 en unités codées, 0,5 mL/min en unités usuelles). Ces paramètres permettent

Chapitre III : Discussion

d'avoir un pourcentage égal à 0,042516 % inférieur à la limite supérieure de 0,1% préconisée par la SOP.

Pour le TRR de l'impureté 1 de l'acide clavulanique, nous avons constaté qu'il n'y avait pas de facteurs statistiquement significatifs ($p \leq 0,05$).

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,309217 lorsque la température, le pH et le débit sont au niveau supérieur, ce qui permet d'avoir TRR maximum égal à 0,2254 inférieur à 0,61 préconisé par la SOP.

Nous avons remarqué que l'impureté 1 de l'acide clavulanique n'a été détectée qu'une seule fois pendant l'analyse et non quantifiée dans toutes les expériences et cela est confirmé par notre pratique en routine ou il est difficile, dans les conditions normales, de l'identifier parmi les autres impuretés vu sa grande similitude structurale avec l'impureté 2.

Pour le TRR de l'impureté 2 de l'acide clavulanique, nous avons constaté que le facteur statistiquement significatif et influent sur cette réponse était le pH ($p=0,0214$). Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 8,8700 et sa valeur $p=0,0126$ indiquant une signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 1 lorsque la valeur du pH est à -0,254892 en unités codées (5,34 en unités usuelles), ce qui permet d'avoir un TRR égal à 0,7 préconisé par la SOP.

Concernant le pourcentage de l'impureté 2 de l'Acide Clavulanique, nous avons constaté que le facteur statistiquement significatif et influent sur cette réponse était aussi le pH ($p=0,0451$). Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 5,0835 et sa valeur $p=0,0455$ indiquant une signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 1 lorsque la valeur du pH est à -0,308 en unités codées (5,29 en unités usuelles), ce qui permet d'avoir un pourcentage égal à 0,038824 inférieur à 0,05 préconisé par la SOP.

Pour le TRR de l'impureté 3 de l'acide clavulanique, nous avons constaté qu'il n'y avait pas de facteurs statistiquement significatifs ($p \leq 0,05$).

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 1 lorsque la valeur de la température est à 0,2899368 en unités codées (25,45°C en unités usuelles), la valeur du pH est à -0,445875 en unités codées (5,15 en unités usuelles), et le débit à sa valeur

Chapitre III : Discussion

supérieure (+1 en unités codées, 0,5 mL/min en unités usuelles), ce qui permet d'avoir TRR égal à 1,76 préconisé par la SOP.

Concernant le pourcentage l'impureté 3 de l'acide clavulanique, nous avons constaté qu'il n'y avait pas aussi de facteurs statistiquement significatifs ($p \leq 0,05$).

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,903719 lorsque nous opérons à température élevée (+1 en unités codées, 30°C en unités usuelles), à pH bas (-1 en unités codées, 6,6 en unités usuelles), et lorsque la valeur du débit est à -0,077 en unités codées (0,2846mL/min en unités usuelles), ce qui permet d'avoir pourcentage égal à 0,038068 inférieur à 0,05 préconisé par la SOP.

Pour le TRR de l'impureté 4 de l'acide clavulanique, nous avons constaté que le facteur statistiquement significatif et influent sur cette réponse était le débit ($p=0,0491$). Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 4,6972 et sa valeur $p=0,0530$ indiquant que les variations des réponses mesurées sont comparables à celles des résidus.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,888451 lorsque nous opérons à débit élevé (+1 en unités codées, 0,5 mL/min en unités usuelles), ce qui permet d'avoir un TRR égal à 2,64, inférieur à 3,4 préconisé par la SOP.

Concernant le pourcentage l'impureté 4 de l'acide clavulanique, nous avons constaté que les facteurs statistiquement significatifs et influents sur cette réponse était la température, le pH et le débit avec une influence quadratique significative ($p < 0,0001$), visualisées sous forme de dépendance non linéaire dans les profileurs de surface, ce qui se rapproche de l'analyse des risques précédente.

Le tracé correspondant aux interactions Débit*Température de la colonne, Débit*pH et Température de la colonne*pH ($p < 0,0001$) nous a révélé que celles-ci n'étaient pas négligeables et qu'il fallait les prendre en compte pour faire l'interprétation.

Les interactions Débit*Température et Débit*pH ont montré qu'un pourcentage maximum de 0,05% (Préconisé par la SOP) est obtenu au niveau 0,75 en unités codées (0,45mL/min en unités usuelles) du débit lorsque la température et le pH sont au niveau inférieur, et au niveau inférieur du débit (-1 en unités codées, 0,1 mL/min en unités usuelles) lorsque la température et le pH sont au niveau supérieur.

L'interaction Température de la colonne*pH a montré qu'un pourcentage maximum de 0,05% (Préconisé par la SOP) est obtenu au niveau 0,75 en unités codées (28,75°C en unités usuelles) de la température lorsque le pH est au niveau supérieur, et au niveau inférieur de la température (-1 en unités codées, 20°C en unités usuelles) lorsque le pH est au niveau inférieur.

Chapitre III : Discussion

Cette analyse était confirmée par la droite de Henry où ces effets actifs ne sont pas alignés sur la ligne rouge de pente 1 qui représente les effets inactifs dus aux erreurs expérimentales.

Selon l'analyse de la variance la valeur de F était de 27536,36 et sa valeur $p < 0,0001$ indiquant une forte signification statistique et que les variations des réponses mesurées sont bien dues aux variations des facteurs.

Selon les profils de prévision nous avons constaté que la fonction désirabilité D vaut 0,89564 lorsque la valeur de la température est à -0,93081 en unités codées (20,34°C en unités usuelles), la valeur du pH est à -0,999997 en unités codées ($\approx 4,6$ en unités usuelles), et la valeur du débit à -0,108 en unités codées (0,2784 mL/min en unités usuelles). Ces paramètres permettent d'avoir un pourcentage égal à 0,033401 % inférieur à la limite supérieure de 0,05% préconisée par la SOP.

D'après les résultats cités ci-dessus, nous avons remarqué que les temps de rétention relatifs des différentes impuretés étaient impactés par les différents facteurs étudiés sous forme quadratique avec des interactions significatives. Les différences entre l'impact de ces facteurs est dû aux structures variées de ces impuretés et leurs interactions avec la phase stationnaire et la phase mobile.

Concernant le pourcentage des impuretés, celles-ci étaient impactés par les différents facteurs sous forme quadratique plus prononcée que pour les temps de rétention relatifs et cela peut être dû aux faibles pourcentages de ces impuretés sans oublier que l'effet de ces facteurs est fortement dépendant des autres sous forme d'interactions non négligeables.

A la fin de cette analyse nous avons mis en place un MODR qui regroupait les différentes réponses analysées avec leurs exigences respectives, ce qui a permis de générer un espace de conception garantissant la robustesse de la méthode. A l'intérieur de cet espace nous avons choisi un point expérimental dont les coordonnées sont les suivantes :

- Température de la colonne : -0,371951 en unités codées et 23,14 °C en unités usuelles ;
- pH : 0,097561 en unités codées et 5,697 en unités usuelles ;
- Débit : 0,945122 en unités codées et 0,489 mL/min en unités usuelles.

Ce point a été choisi loin des limites du MODR afin d'éviter toute dérive pendant la routine.

L'espace mis au point pour le pourcentage des impuretés était fortement réduit en comparaison avec ceux développés pour le dosage des principes actifs et pour les solutions de résolution, et cela est dû à la difficulté de respecter les différentes exigences pour les différentes formes

Chapitre III : Discussion

d'impuretés de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique qui sont différemment impactées par les différents facteurs étudiés, comme la diminution de la concentration en modificateur (Acétonitrile) qui augmente les temps de rétention des composés et vice versa. D'ailleurs, plusieurs impuretés de l'acide clavulanique n'ont pas été détectés au cours des différentes expériences et plusieurs impuretés de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique n'ont pas été quantifiée par le détecteur. Toutes ces restrictions ont conduit à la réduction considérable de notre champ de manœuvre pour ajuster les niveaux des facteurs.

2-5 : Validation de la méthode

Après l'établissement du MODR nous avons entrepris la validation de la méthode HPLC destinée au dosage et à l'uniformité de teneur de l'Amoxicilline et de l'Acide clavulanique. Concernant la méthode RP-UHPLC, nous avons différé sa validation à causes des difficultés rencontrées lors de son optimisation et la nécessité de se procurer des étalons de chaque impureté afin de les identifier et de les quantifier sans ambiguïté au sein du chromatogramme. L'étape de validation, aussi appelée Assay Performance Qualification, a visé à démontrer que la procédure analytique est adaptée à l'usage prévu décrit dans l'ATP, ce qui implique que les CQAs doivent être liées à la fiabilité des résultats analytiques, c'est-à-dire à la précision.[291] La validation des méthodes optimisées est une étape cruciale dans la démarche AQbD, citée dans différentes publications récentes. [292,293]

La méthode utilisée s'est basée sur l'utilisation du profil d'exactitude, approche axée sur la gestion des risques et proposée dans le protocole de la SFSTP 2003-2006 [200,294,295]. Cette démarche permet l'utilisation d'un outil de décision clair comme recommandé par l'ICH Q9.[283,296]

L'examen de la conformité du système chromatographique nous a renseigné sur l'aptitude du système chromatographique à effectuer l'analyse suivant des critères préétablis. Les résultats obtenus ont montré que le RSD de l'aire du pic de l'amoxicilline et le RSD de l'aire du pic de l'acide clavulanique pour les 5 injections de la solution standard était inférieur à 2,0% (0,055% et 0,076% respectivement), le facteur de trainée était inférieur à 1,5 (0,8 et 1,2 pour l'amoxicilline et l'acide clavulanique respectivement), le nombre de plateaux théorique était supérieur 550 (6789 et 6940 pour l'amoxicilline et l'acide clavulanique respectivement) et la résolution entre le pic de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique était supérieure à 3,5 (15,2).

L'examen des chromatogrammes de la phase mobile, du mélange amoxicilline et acide clavulanique sous forme de standard à 100% et du placebo qui contenait tous les excipients à l'exception de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique, a prouvé qu'aucun pic interférent n'a

Chapitre III : Discussion

été identifié aux temps de rétention de l'amoxicilline (9,30 minutes environ) et l'acide clavulanique (4,25 minutes environ.), ce qui prouve l'absence d'effet matrice et justifie la spécificité de la méthode.

Avant de tracer les différents profils, nous avons fixé le domaine de validation qui s'est étendu de 86,20mg à 201,15mg (344,80 à 804,60 mg/L) pour l'amoxicilline et de 10,99mg à 25,64mg (43,96 à 102,56 mg/L) pour l'acide clavulanique. Les limites d'acceptabilité étaient fixées à $\pm 10\%$ autour de la valeur cible et la proportion β était égale à 95 %.

Afin d'estimer les coefficients du modèle d'étalonnage, nous avons testé le modèle linéaire passant par l'origine, le modèle linéaire et le modèle après transformation logarithmique et après transformation racine carrée des données.

Concernant l'amoxicilline, lors de l'utilisation du modèle linéaire passant par l'origine, nous avons observé que :

- La justesse varie en fonction de la concentration puisque le biais de justesse varie de + 0,273 à - 0,200 %. Cette remarque souligne l'intérêt de procéder aux calculs niveau par niveau. Cependant, ce biais n'a pas d'influence importante sur la validité de la méthode. De plus, le taux de recouvrement est supérieur à 99% (Proche de 100%) ;
- La fidélité varie aussi en fonction de la concentration puisque son coefficient de variation passe de 0,533% à 0,131%, cependant la méthode reste fidèle pour chaque niveau, avec des coefficients de variation de répétabilité et des coefficients de variation de fidélité intermédiaire inférieurs à 2% ;
- Le profil d'exactitude montre un élargissement plus important de l'intervalle de tolérance au niveau 3 (143,23mg, 0,57mg/mL) et moins important pour les autres niveaux, avec un biais de 0,273%, mais reste toujours compris dans les limites d'acceptation de 10% ;
- La méthode développée donnera des résultats à moins de 10% de la valeur vraie dans au moins 95% de cas et ce, dans toute la gamme de masses (concentrations) sélectionnées, en d'autres termes les limites de tolérance à 95 % sont comprises entre les limites d'acceptabilité dans le domaine de validation choisi. La méthode est valide dans ce domaine ;
- La droite de la Figure 66 démontre un bon ajustement linéaire et que les quantités prédites sont strictement proportionnelles aux quantités introduites selon l'équation : Quantités Prédites = 1,0003 Quantités introduites - 0,052 dont la pente représente le taux moyen de recouvrement.

La linéarité de cette droite est confirmée par :

Chapitre III : Discussion

- ✓ Un coefficient de détermination acceptable de 0,999 ;
- ✓ Une pente comparable à 1 au risque 5% ;
- ✓ Une ordonnée à l'origine comparable à zéro au risque 5%.
- La limite inférieure (limite de quantification) est égale à limite inférieure de l'intervalle de validité, à savoir 86,26mg (345mg/L).

Lors de l'utilisation du modèle linéaire, nous avons observé que :

- La justesse varie en fonction de la concentration puisque le biais de justesse varie de + 0,294 à -0,188 %. Cette remarque souligne l'intérêt de procéder aux calculs niveau par niveau. Cependant, ce biais n'a pas d'influence importante sur la validité de la méthode. De plus, le taux de recouvrement est supérieur à 99% (Proche de 100%) ;
- La fidélité varie aussi en fonction de la concentration puisque son coefficient de variation passe de 0,500% à 0,100%, cependant la méthode reste fidèle pour chaque niveau, avec des coefficients de variation de répétabilité et des coefficients de variation de fidélité intermédiaire inférieurs à 2% ;
- Le profil d'exactitude montre un élargissement plus important de l'intervalle de tolérance au niveau 3 (143,23mg, 0,57mg/mL) et moins important pour les autres niveaux, avec un biais de 0,294%, mais reste toujours compris dans les limites d'acceptation de 10% ;
- La méthode développée donnera des résultats à moins de 10% de la valeur vraie dans au moins 95% de cas et ce, dans toute la gamme de masses (concentrations) sélectionnées, en d'autres termes les limites de tolérance à 95 % sont comprises entre les limites d'acceptabilité dans le domaine de validation choisi. La méthode est valide dans ce domaine ;
- La droite de la Figure 69 démontre un bon ajustement linéaire et que les quantités prédites sont strictement proportionnelles aux quantités introduites selon l'équation : Quantités Prédites = 1xQuantités introduites +0,026 dont la pente représente le taux moyen de recouvrement.

La linéarité de cette droite est confirmée par :

- ✓ Un coefficient de détermination acceptable de 0,999 ;
- ✓ Une pente comparable à 1 au risque 5% ;
- ✓ Une ordonnée à l'origine comparable à zéro au risque 5%.
- La limite inférieure (limite de quantification) est égale à limite inférieure de l'intervalle de validité, à savoir 86,26mg (345mg/L).

Chapitre III : Discussion

Lors de l'utilisation du modèle après transformation logarithmique des données, nous avons observé que :

- La justesse varie en fonction de la concentration puisque le biais de justesse varie de + 0,0052 à -0,046 %. Cette remarque souligne l'intérêt de procéder aux calculs niveau par niveau. Cependant, ce biais n'a pas d'influence importante sur la validité de la méthode. De plus, le taux de recouvrement est supérieur à 99% (Proche de 100%) ;
- La fidélité varie aussi en fonction de la concentration puisque son coefficient de variation passe de 0,024% à 0,097%, cependant la méthode reste fidèle pour chaque niveau, avec des coefficients de variation de répétabilité et des coefficients de variation de fidélité intermédiaire inférieurs à 2% ;
- Le profil d'exactitude montre un élargissement minime de l'intervalle au niveau 3 (143,23mg, 0,57mg/mL) et moins important pour les autres niveaux, avec un biais de 0,052% nettement moins élevé que les précédents, mais reste toujours compris dans les limites d'acceptation de 10% ;
- La méthode développée donnera des résultats à moins de 10% de la valeur vraie dans au moins 95% de cas et ce, dans toute la gamme de masses (concentrations) sélectionnées, en d'autres termes les limites de tolérance à 95 % sont comprises entre les limites d'acceptabilité dans le domaine de validation choisi. La méthode est valide dans ce domaine ;
- La droite de la Figure 72 démontre que les quantités prédites sont proportionnelles aux quantités introduites selon l'équation :
$$\text{Quantités Prédites} = 0,999 \text{ Quantités introduites} + 0,003$$
 dont la pente représente le taux moyen de recouvrement.

L'étude de linéarité de cette droite est caractérisée par :

- ✓ Un coefficient de détermination acceptable de 0,999 ;
- ✓ Une pente non comparable à 1 au risque 5% ;
- ✓ Une ordonnée à l'origine comparable à zéro au risque 5%.
- La limite inférieure (limite de quantification) est égale à limite inférieure de l'intervalle de validité, à savoir 86,26mg (345mg/L).

Lors de l'utilisation du modèle après transformation racine carrée des données, nous avons observé que :

- La justesse varie en fonction de la concentration puisque le biais de justesse varie de + 0,129 à -0,117 %. Cette remarque souligne l'intérêt de procéder aux calculs niveau

Chapitre III : Discussion

par niveau. Cependant, ce biais n'a pas d'influence importante sur la validité de la méthode. De plus, le taux de recouvrement est supérieur à 99% (Proche de 100%) ;

- La fidélité varie aussi en fonction de la concentration puisque son coefficient de variation passe de 0,063% à 0,245%, cependant la méthode reste fidèle pour chaque niveau, avec des coefficients de variation de répétabilité et des coefficients de variation de fidélité intermédiaire inférieurs à 2% ;
- Le profil d'exactitude montre un élargissement minime de l'intervalle au niveau 3 (143,23mg, 0,57mg/mL) et moins important pour les autres niveaux, avec un biais de 0,129% nettement moins élevé que les précédents, mais reste toujours compris dans les limites d'acceptation de 10% ;
- La méthode développée donnera des résultats à moins de 10% de la valeur vraie dans au moins 95% de cas et ce, dans toute la gamme de masses (concentrations) sélectionnées, en d'autres termes les limites de tolérance à 95 % sont comprises entre les limites d'acceptabilité dans le domaine de validation choisi. La méthode est valide dans ce domaine ;
- La droite de la Figure 75 démontre un bon ajustement linéaire et que les quantités prédites sont strictement proportionnelles aux quantités introduites selon l'équation :
Quantités Prédites = 0,999 Quantités introduites + 0,008 dont la pente représente le taux moyen de recouvrement.

La linéarité de cette droite est confirmée par :

- ✓ Un coefficient de détermination acceptable de 0,999 ;
- ✓ Une pente comparable à 1 au risque 5% ;
- ✓ Une ordonnée à l'origine comparable à zéro au risque 5%.
- La limite inférieure (limite de quantification) est égale à limite inférieure de l'intervalle de validité, à savoir 86,26mg (345mg/L).

Une autre méthode a été employée pour calculer les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) en exploitant les surfaces des pics du chromatogramme du blanc (Phase mobile). La LOD pour l'amoxicilline était égale à 0,017 mg et la LOQ était égale à 0,050 mg, différente de la limite rencontrée au niveau du profil car l'intervalle de dosage sélectionné ne permet pas d'extrapoler au-dessous de la limite inférieure cette gamme.

Concernant l'Acide clavulanique, lors de l'utilisation du modèle linéaire passant par l'origine, nous avons observé que :

- Le biais au niveau 4 est important (-4,281%) comparant aux profils précédents et les coefficients de variation de la fidélité intermédiaire dépassent les 2% ;

Chapitre III : Discussion

- Le taux de recouvrement au niveau 4 est de l'ordre de 96%, loin du 100% ;
- L'intervalle de tolérance n'est pas compris entre les limites d'acceptation et le dépasse au niveau 3, la méthode n'est donc pas valide et ne convient pas à l'objectif fixé ;
- Ce dépassement peut être dû à la faible quantité de l'acide clavulanique dans la préparation qui augmente le risque de l'erreur aléatoire et impacte l'erreur totale ;
- Pour que la méthode soit validée, le facteur β pourrait être diminué (80 % par exemple) ou la limite d'acceptabilité augmentée (20% par exemple), dans ce cas, la probabilité d'avoir un résultat plus acceptable serait augmenté.

Lors de l'utilisation du modèle linéaire, nous avons observé que :

- La justesse varie en fonction de la concentration puisque le biais de justesse varie de + 1,710 à -4,461 %. Cette remarque souligne l'intérêt de procéder aux calculs niveau par niveau. Cependant, ce biais n'a pas d'influence importante sur la validité de la méthode. De plus, le taux de recouvrement est supérieur à 95% ;
- La fidélité varie aussi en fonction de la concentration puisque son coefficient de variation passe de 1,1% à 2,9% ;
- Le profil d'exactitude montre un élargissement de l'intervalle de tolérance ($\approx 8\%$) au niveau 3 (18,58mg, 74,32mg/L) et moins important pour les autres niveaux, avec un biais de 0,294% au niveau 4 (22mg, 88mg/L), mais reste toujours compris dans les limites d'acceptation de 10% ;
- La méthode développée donnera des résultats à moins de 10% de la valeur vraie dans au moins 95% de cas et ce, dans toute la gamme de masses (concentrations) sélectionnées, en d'autres termes les limites de tolérance à 95 % sont comprises entre les limites d'acceptabilité dans le domaine de validation choisi. La méthode est valide dans ce domaine ;
- La droite de la Figure 81 démontre que les quantités prédites sont strictement proportionnelles aux quantités introduites selon l'équation :
Quantités Prédites = 1,0002Quantités introduites - 0,046 dont la pente représente le taux moyen de recouvrement.

L'étude de la linéarité de cette droite démontre :

- ✓ Un coefficient de détermination acceptable de 0,989 ;
- ✓ Une pente comparable à 1 au risque 5% ;
- ✓ Une ordonnée à l'origine comparable à zéro au risque 5%.
- La limite inférieure (limite de quantification) est égale à limite inférieure de l'intervalle de validité, à savoir 10,86mg (43,44mg/L).

Chapitre III : Discussion

Lors de l'utilisation du modèle après transformation logarithmique des données, nous avons observé que :

- La justesse varie en fonction de la concentration puisque le biais de justesse varie de + 0,727 à -1,319 %. Cette remarque souligne l'intérêt de procéder aux calculs niveau par niveau. Cependant, ce biais n'a pas d'influence importante sur la validité de la méthode. De plus, le taux de recouvrement est supérieur à 98% ;
- La fidélité varie aussi en fonction de la concentration puisque son coefficient de variation passe de 0,296% à 0,829%, mais reste inférieur à 2% ;
- La méthode développée donnera des résultats à moins de 10% de la valeur vraie dans au moins 95% de cas et ce, dans toute la gamme de masses (concentrations) sélectionnées, en d'autres termes les limites de tolérance à 95 % sont comprises entre les limites d'acceptabilité dans le domaine de validation choisi. La méthode est valide dans ce domaine.
- Le profil d'exactitude montre un élargissement de l'intervalle de tolérance (3,482%) au niveau 3 (18,58mg, 74,32mg/L), inférieur aux précédents, avec un biais de -1,319% au niveau 4 (22mg, 88mg/L), inférieur aussi au précédent, mais reste toujours compris dans les limites d'acceptation de 10%. Cette diminution est dû à la transformation logarithmique ;
- La droite de la Figure 84 démontre que les quantités prédites sont strictement proportionnelles aux quantités introduites selon l'équation :
$$\text{Quantités Prédites} = 1,006\text{Quantités introduites} - 0,015$$
 dont la pente représente le taux moyen de recouvrement.

L'étude de la linéarité de cette droite démontre :

- ✓ Un coefficient de détermination acceptable de 0,993;
- ✓ Une pente comparable à 1 au risque 5% ;
- ✓ Une ordonnée à l'origine comparable à zéro au risque 5%.
- La limite inférieure (limite de quantification) est égale à limite inférieure de l'intervalle de validité, à savoir 10,86mg (43,44mg/L).

Lors de l'utilisation du modèle après transformation racine carrée des données, nous avons observé que :

- La justesse varie en fonction de la concentration puisque le biais de justesse varie de + 0,179 à -2,011 %. Cette remarque souligne l'intérêt de procéder aux calculs niveau par niveau. Cependant, ce biais n'a pas d'influence importante sur la validité de la méthode. De plus, le taux de recouvrement est supérieur à 97% ;

Chapitre III : Discussion

- La fidélité varie aussi en fonction de la concentration puisque son coefficient de variation passe de 0,490% à 1,239%, mais reste inférieur à 2% ;
- La méthode développée donnera des résultats à moins de 10% de la valeur vraie dans au moins 95% de cas et ce, dans toute la gamme de masses (concentrations) sélectionnées, en d'autres termes les limites de tolérance à 95 % sont comprises entre les limites d'acceptabilité dans le domaine de validation choisi. La méthode est valide dans ce domaine ;
- Le profil d'exactitude montre un élargissement de l'intervalle de tolérance (3,715%) au niveau 3 (18,58mg, 74,32mg/L) légèrement supérieur au précédent, avec un biais de - 2,011% au niveau 4 (22mg, 88mg/L) supérieur aussi au précédent, mais reste toujours compris dans les limites d'acceptation de 10%. Ces valeurs sont supérieures au modèle logarithmique mais restent inférieures aux modèles linéaires grâce à la transformation racine carrée ;
- La droite de la Figure 87 démontre que les quantités prédites sont strictement proportionnelles aux quantités introduites selon l'équation :
$$\text{Quantités Prédites} = 1,008 \text{Quantités introduites} - 0,029$$
 dont la pente représente le taux moyen de recouvrement.

L'étude de la linéarité de cette droite démontre :

- ✓ Un coefficient de détermination acceptable de 0,991 ;
 - ✓ Une pente comparable à 1 au risque 5% ;
 - ✓ Une ordonnée à l'origine comparable à zéro au risque 5%.
- La limite inférieure (limite de quantification) est égale à limite inférieure de l'intervalle de validité, à savoir 10,86mg (43,44mg/L).

Une autre méthode a été employée pour calculer les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) en exploitant les surfaces des pics du chromatogramme du blanc (Phase mobile). La LOD pour l'acide clavulanique était égale à 0,106 mg et la LOQ était égale à 0,320 mg, différente de la limite rencontrée au niveau du profil car l'intervalle de dosage sélectionné ne permet pas d'extrapoler au-dessous de la limite inférieure cette gamme.

Nous avons remarqué lors de l'étude de la validité des droites de régression que l'une d'elles étaient non valides ($F_{\text{calculé}} > F_{\text{tabulaire}}$), mais ce qui nous intéresse est la qualité des prédictions inverses plutôt que la qualité de l'ajustement, quitte à violer certaines des hypothèses statistiques requises

D'après les données précédentes, il s'est avéré que tous les modèles mathématiques utilisés pour l'amoxicilline et que les modèles mathématiques (A l'exception du modèle linéaire passant

Chapitre III : Discussion

par l'origine) utilisés pour l'acide clavulanique sont adaptés pour générer des profils répondants aux objectifs prédéfinis de la méthode.

Cependant, par souci de simplicité et afin d'éviter toute erreur pouvant survenir lors du dosage en routine, nous avons opté pour le modèle linéaire passant par l'origine pour l'Amoxicilline et le modèle linéaire pour l'acide clavulanique.

2-6 : Etablissement des cartes contrôle

La dernière étape de notre développement par l'approche AQbD était la mise en place d'une stratégie de contrôle de la méthode optimisée et validée. Nous avons opté pour la mise en place de cartes de contrôle avec des limites de contrôle supérieures et inférieures propres à des CQAs (Résolution entre le pic de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique et le nombre de plateaux théoriques entre le pic de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique) afin de surveiller la stabilité de la méthode dans le temps et de détecter toute dégradation des performances.

Les règles de décision se sont basées sur les règles utilisées par la société Ford qui stipulent que des actions correctrices sont entreprises dès que :

- Une mesure sort des limites de contrôle ;
- 7 mesures successives sont situées toutes au-dessus ou toutes au-dessous de la valeur cible ;
- 8 mesures successives indiquent une tendance systématique vers le haut ou vers le bas ;
- Toute répartition des mesures fait suspecter un comportement non aléatoire.[297]

Ces cartes de contrôle interne et ces règles de décision peuvent être utilisées comme un outil de contrôle de qualité tout au long de la vie du produit et de la méthode.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et Perspectives

Conclusion et perspectives

Classiquement, le développement et la fabrication des produits pharmaceutiques, ainsi que le développement des méthodes analytiques faisait appel au modèle QbT ou OFAT respectivement. Ces approches ont prouvé leurs limites et ne permettait pas de caractériser correctement la relation entre les facteurs critiques et les réponses d'intérêt.

Récemment une approche flexible, nommée QbD, est recommandée dans les différentes étapes de développement de nouveaux produits, ainsi qu'au produits déjà existants ou en phase de développement tardif dans le but d'une amélioration continue.

Dans ce but, nous avons appliqué le QbD et l'AQbD dans le développement du processus de production et dans l'optimisation des méthodes analytiques de contrôle de l'Amoclan® 8 :1 500mg/62,5mg sachets et l'Amoclan® 8 :1 1g/125mg sachets.

Notre étude a contribué à établir un DS délimitant une zone où les différentes contraintes expérimentales étaient respectées et la robustesse du processus garantie.

Enfin, une stratégie de contrôle utilisant le PAT a été suggérée. L'utilisation de méthodes analytiques sensibles comme le NIR, l'UV-Visible, l'HPLC, les analyseurs de perméation OTR et WVTR, et des systèmes d'imagerie visuelle On-line ou At-line permettra de contrôler en temps réel les différents CQAs et de réduire considérablement les temps de libération des lots.

L'application de l'AQbD a abouti à la mise en place d'un MODR pour les méthodes RP-HPLC et RP-UHPLC délimitant une zone où les différentes contraintes expérimentales étaient respectées et leurs robustesses garanties.

Enfin, une stratégie de contrôle, utilisant des cartes de contrôle des différents CQAs sélectionnés, a été élaborée avec des limites de contrôle supérieures et inférieures. Des règles de décision, basées sur celles utilisées par la société Ford, ont été énoncées afin d'aider l'analyste à suivre ces méthodes dans le temps et à entreprendre des corrections en cas d'anomalies.

Cette stratégie offrira une grande flexibilité pour les industriels facilitant le travail de routine et diminuera les contraintes vis-à-vis des autorités réglementaires.

Cependant, en dépit de l'apport positif et non contesté du QbD dans l'amélioration des processus de production et dans l'optimisation des méthodes analytiques, l'industrie pharmaceutique n'a pas encore pleinement adopté cette approche, en particulier dans la fabrication commerciale courante, et cela peut être imputé à :

Conclusion et Perspectives

- La nécessité d'approbation de la démarche par toutes les parties prenantes (Organismes réglementaires et industriels) ;
- L'absence d'unités de recherches et de développement capable de mettre en place cette méthode ;
- L'investissement dans de nouveaux équipements et dans la formation du personnel ;
- La définition harmonisée des normes réglementaires permettant d'évaluer les attributs de qualité critiques (CQAs), les méthodes analytiques, etc.

Lors de l'emploi du QbD dans le processus de production de l'Amoclan[®] 8 :1 sachets et de l'AQbD dans l'optimisation des méthodes chromatographiques de contrôle, nous avons rencontré quelques difficultés qui peuvent être solutionnées comme suit :

- Explorer plus de paramètres du processus lors de l'étude expérimentale en ayant accès à des appareils adaptés à la recherche et au développement, pouvant reproduire les étapes de mélange, de mise en sachets, etc. ;
- Acquérir des étalons d'impuretés étudiées afin de mieux les identifier et de les quantifier ;
- Etudier d'une manière plus poussée l'impact des attributs des matières et des paramètres du processus sur ces impuretés ;
- Valider une méthode RP-UHPLC robuste capable de détecter et de quantifier l'ensemble des impuretés ;
- Généraliser l'utilisation du PAT dans la stratégie de contrôle ;
- Utilisation de logiciels spécifiques tel que le Lean QbD[™], afin de faciliter l'implantation du QbD au sein des industries pharmaceutique.

Références bibliographiques

- [1] Blackburn TD, Mazzuchi TA, Sarkani S. Overcoming Inherent Limits to Pharmaceutical Manufacturing Quality Performance with QbD (Quality by Design). *J Pharm Innov* 2011;6:69–76. <https://doi.org/10.1007/s12247-011-9102-x>.
- [2] Nagar P, Garg M, Chauhan C, Kumar R, Chaudhary AK. Analytical Quality by Design (AQbD) Approach for HPLC Method 2022;13:8.
- [3] Gupta K. Analytical Quality by Design: A Mini Review. *Biomed J Sci Tech Res* 2017;1. <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2017.01.000484>.
- [4] Reddy KR, Deepa M, Satyanarayana SV. A review on Quality by Design approach for analytical method development. *J Pharm Res* 2017;6.
- [5] Pallagi E, Ambrus R, Szabó-Révész P, Csóka I. Adaptation of the quality by design concept in early pharmaceutical development of an intranasal nanosized formulation. *Int J Pharm* 2015;491:384–92. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.06.018>.
- [6] Bhise JJ, Bhusnure OG, Mule ST, Mujewar IN, Gholve SB, Jadhav PU. A review on Quality by Design approach (QbD) for pharmaceuticals. *J Drug Deliv Ther* 2019;9:10.
- [7] Das DP, Maity A. Analytical Quality by Design (AQbD) : A New Horizon For Robust Analytics in Pharmaceutical Process and Automation. *Int J Pharm Drug Anal* 2017:324–37.
- [8] Peraman R, Kalva B, Reddy YP, Sharma H. Analytical Quality by Design Approach in Selection of Method Variables for Simultaneous Analysis of Ciprofloxacin and Hydrocortisone by LC Method Using Taguchi Method. *Anal Chem Lett* 2016;6:1–12. <https://doi.org/10.1080/22297928.2016.1153431>.
- [9] Tietje C, Brouder A, editors. International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. *Handb. Transnatl. Econ. Gov. Regimes*, Brill | Nijhoff; 2010, p. 1041–53. <https://doi.org/10.1163/ej.9789004163300.i-1081.897>.
- [10] Singh L, Sharma V. Quality by Design (QbD) Approach in Pharmaceuticals: Status, Challenges and Next Steps. *Drug Deliv Lett* 2015;5:2–8. <https://doi.org/10.2174/2210303104666141112220253>.
- [11] Dispas A, Avohou HT, Lebrun P, Hubert P, Hubert C. ‘Quality by Design’ approach for the analysis of impurities in pharmaceutical drug products and drug substances. *TrAC Trends Anal Chem* 2018;101:24–33. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.10.028>.
- [12] Jayagopal B, Shivashankar M. Analytical Quality by Design – A Legitimate Paradigm for Pharmaceutical Analytical Method Development and Validation. *Mater Sci* 2017;11.
- [13] Phadke R, Gosar DA, Mali R, Patil D. A review on Quality by Design approaches to analytical method development. *Indo Am J Pharm Res* 2019;9:12.
- [14] Bhutani H, Kurmi M, Singh S, Beg S, Singh B. Quality by Design (QbD) in Analytical Sciences: An Overview n.d.:5.
- [15] Philipoz F, Dennett R. Le “quality by design” : un guide pour débuter 2012;22:8.
- [16] Tietje C, Brouder A, editors. International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. *Handb. Transnatl. Econ. Gov. Regimes*, Brill | Nijhoff; 2010, p. 1041–53. <https://doi.org/10.1163/ej.9789004163300.i-1081.897>.
- [17] Patil AS, Pethe AM. Quality by Design (QbD): A new concept for development of quality pharmaceuticals 2013:8.
- [18] Guidance for Industry PAT - A Framework for Innovative Pharmaceutical Development, manufacturing, and Quality Assurance 2004.
- [19] FDA. Pharmaceutical CGMPs for the 21st century- a risk-based approach 2004.
- [20] EMEA. The European Medicines Agency Road Map to 2010: Preparing the Ground for the Future 2005.

- [21] Tietje C, Brouder A, editors. International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. Handb. Transnatl. Econ. Gov. Regimes, Brill | Nijhoff; 2010, p. 1041–53. <https://doi.org/10.1163/ej.9789004163300.i-1081.897>.
- [22] WHO. WHO guideline on quality risk management 2010.
- [23] EMA. Road map to 2015 2010.
- [24] FDA. Process Validation : General Principles and Practices 2011.
- [25] Tietje C, Brouder A, editors. International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. Handb. Transnatl. Econ. Gov. Regimes, Brill | Nijhoff; 2010, p. 1041–53. <https://doi.org/10.1163/ej.9789004163300.i-1081.897>.
- [26] EMA. ICH Quality IWG Points to consider for ICH Q8/Q9/Q10 guidelines 2012.
- [27] EMA. Guideline on Real Time Release Testing (formerly Guideline on Parametric Release) 2012.
- [28] FDA. Quality by Design for ANDAs: An Example for Immediate-Release Dosage Forms 2012.
- [29] Tietje C, Brouder A, editors. International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. Handb. Transnatl. Econ. Gov. Regimes, Brill | Nijhoff; 2010, p. 1041–53. <https://doi.org/10.1163/ej.9789004163300.i-1081.897>.
- [30] FDA-EMA. EMA-FDA pilot program for parallel assessment of Quality-by-Design applications : lessons learnt and Q&A resulting from the first parallel assessment 2013.
- [31] EMA. Guideline on process validation for finished products - information and data to be provided in regulatory submissions 2016.
- [32] FDA-EMA. Report from the EMA-FDA QbD pilot program 2017.
- [33] ICH. ICH Q14 : Analytical Procedure Development and Revision of Q2(R1) Analytical Validation 2018.
- [34] ICH. Technical and regulatory considerations for pharmaceutical product lifecycle management Q12 2019.
- [35] ICH. Continuous manufacturing of drug substances and drug products Q13 2021.
- [36] Singh L, Sharma V. Quality by Design (QbD) Approach in Pharmaceuticals : Status, Challenges and Next Steps. *Drug Deliv Lett* 2015;5:2–8. <https://doi.org/10.2174/2210303104666141112220253>.
- [37] Jagan BGVS, Mahapatra AK, Murthy NP, Patra RK. Quality by Design (QbD): Principles, Underlying Concepts and Regulatory Prospects. *Thai J Pharm Sci TJPS* 2021;45.
- [38] Mishra V, Thakur S, Patil A, Shukla A. Quality by design (QbD) approaches in current pharmaceutical set-up. *Expert Opin Drug Deliv* 2018;15:737–58. <https://doi.org/10.1080/17425247.2018.1504768>.
- [39] Bing X, Xin-yuan S, Zhi-sheng W, Yan-ling Z, Yun W, Yan-jiang Q. Quality by design approaches for pharmaceutical development and manufacturing of Chinese medicine 2017:11.
- [40] Elliott P, Billingham S, Bi J, Zhang H. Quality by design for biopharmaceuticals: a historical review and guide for implementation. *Pharm Bioprocess* 2013;1:105–22. <https://doi.org/10.4155/pbp.13.6>.
- [41] Zhang L, Mao S. Application of quality by design in the current drug development. *Asian J Pharm Sci* 2017;12:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2016.07.006>.
- [42] Campbell GA, Vallejo E. Primary Packaging Considerations in Developing Medicines for Children: Oral Liquid and Powder for Constitution. *J Pharm Sci* 2015;104:52–62. <https://doi.org/10.1002/jps.24223>.

- [43] Namjoshi S, Dabbaghi M, Roberts MS, Grice JE, Mohammed Y. Quality by Design: Development of the Quality Target Product Profile (QTPP) for Semisolid Topical Products. *Pharmaceutics* 2020;12:287. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12030287>.
- [44] Mesut B, Ozsoy Y, Aksu B. The place of drug product critical quality parameters in quality by design (QbD). *Turk J Pharm Sci* 2015;12:75–92.
- [45] Yu LX, Amidon G, Khan MA, Hoag SW, Polli J, Raju GK, et al. Understanding Pharmaceutical Quality by Design. *AAPS J* 2014;16:771–83. <https://doi.org/10.1208/s12248-014-9598-3>.
- [46] Jameel F, Hershenson S, Khan MA, Martin-Moe S, editors. *Quality by Design for Biopharmaceutical Drug Product Development*. vol. 18. New York, NY: Springer New York; 2015. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2316-8>.
- [47] Jain S. Quality by design (QbD): A comprehensive understanding of implementation and challenges in pharmaceuticals development. *Int J Pharm Pharm Sci* 2014;6:29–35.
- [48] Sonawane D, Chaudhari DP, Thorat V, Dhavale S. Quality by design approach for development of azithromycin oral reconstitutable suspension and its comparison with marketed product. *Eur J Pharm Med Res* 2020;7:10.
- [49] Elliott P, Billingham S, Bi J, Zhang H. Quality by design for biopharmaceuticals: a historical review and guide for implementation. *Pharm Bioprocess* 2013;1:105–22. <https://doi.org/10.4155/pbp.13.6>.
- [50] Kalyan S, Parle A. Quality by Design: Changing outlook of pharmaceutical development. *Int J Pharm Sci Res* 2019;10:9.
- [51] Yu LX, Amidon G, Khan MA, Hoag SW, Polli J, Raju GK, et al. Understanding Pharmaceutical Quality by Design. *AAPS J* 2014;16:771–83. <https://doi.org/10.1208/s12248-014-9598-3>.
- [52] Schlindwein WS, Gibson M, editors. *Pharmaceutical Quality by Design : A Practical Approach*. Chichester, UK : John Wiley & Sons, Ltd; 2018. <https://doi.org/10.1002/9781118895238>.
- [53] Pramod K, Tahir Ma, Charoo N, Ansari S, Ali J. Pharmaceutical product development: A quality by design approach. *Int J Pharm Investig* 2016;6:129. <https://doi.org/10.4103/2230-973X.187350>.
- [54] Rathore AS, Mhatre R, editors. *Quality by design for biopharmaceuticals: principles and case studies*. Hoboken, N.J: Wiley; 2009.
- [55] THIRUMALAIRAJAN S, NOVAK J, GHONE S. QbD in the Development of ADCs with PBD Dimer Warheads. *BioPharm Int* 2018;31.
- [56] Pramod K, Tahir Ma, Charoo N, Ansari S, Ali J. Pharmaceutical product development: A quality by design approach. *Int J Pharm Investig* 2016;6:129. <https://doi.org/10.4103/2230-973X.187350>.
- [57] Pallagi E, Karimi K, Ambrus R, Szabó-Révész P, Csóka I. New aspects of developing a dry powder inhalation formulation applying the quality-by-design approach. *Int J Pharm* 2016;511:151–60. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.07.003>.
- [58] Ohage E, Iverson R, Krummen L, Taticek R, Vega M. QbD implementation and Post Approval Lifecycle Management (PALM). *Biologicals* 2016;44:332–40. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2016.06.007>.
- [59] ISO. Risk management — Principles and guidelines ISO 31000:2009(E) 2009.
- [60] ISO. Risk management-Vocabulary-Guidelines for use in standards ISO/IEC GUIDE 73 2002(E/F) 2002.
- [61] Darkunde SL. A review on Quality by Design. *Int J Pharm Chem Anal* 2020;5:1–6. <https://doi.org/10.18231/2394-2797.2018.0001>.
- [62] Sangshetti JN, Deshpande M, Zaheer Z, Shinde DB, Arote R. Quality by design approach: Regulatory need. *Arab J Chem* 2017;10:S3412–25. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.01.025>.

- [63] Iurian S, Turdean L, Tomuta I. Risk assessment and experimental design in the development of a prolonged release drug delivery system with paliperidone. *Drug Des Devel Ther* 2017;Volume11:733–46. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S125323>.
- [64] Venkatesh MP, Philip A, Gangadharappa HV. Quality by design : The tool for regulatory compliance. *Int J Pharm Sci Res* 2019;10.
- [65] Landy G. AMDEC: guide pratique. 2e éd. La Plaine-Saint-Denis: AFNOR; 2007.
- [66] Reklaitis GV, Seymour C, García-Munoz S, editors. *Comprehensive Quality by Design for Pharmaceutical Product Development and Manufacture*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2017. <https://doi.org/10.1002/9781119356189>.
- [67] Vora C, Patadia R, Mittal K, Mashru R. Risk based approach for design and optimization of stomach specific delivery of rifampicin. *Int J Pharm* 2013;455:169–81. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.07.043>.
- [68] Bluvband Z, Grabov P, Nakar O. Expanded FMEA (EFMEA). *Annu. Symp. Reliab. Maintainab.* 2004 - RAMS, Los Angeles, CA, USA: IEEE; 2004, p. 31–6. <https://doi.org/10.1109/RAMS.2004.1285419>.
- [69] Rausand M. *Risk assessment: theory, methods, and applications*. Hoboken, N.J: Wiley; 2011.
- [70] Popov G, Lyon BK, Hollcroft B. *Risk assessment: a practical guide to assessing operational risks*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc; 2016.
- [71] Patwardhan DM, Amrutkar SS, Kotwal TS, Wagh MP. Application of Quality by Design to different aspects of pharmaceutical technologies. *Int J Pharm Sci Res* n.d.;8:14.
- [72] Narang AS. *Handbook of pharmaceutical wet granulation: theory and practice in a quality by design paradigm*. 1st edition. Cambridge, MA: Elsevier; 2018.
- [73] Beg S, Rahman M, Imam SS, Alruwaili NK, Robaian MA, Panda SK, editors. *Pharmaceutical Drug Product Development and Process Optimization: Effective Use of Quality by Design*. 1st ed. Includes Bibliographical References and Index.: Apple Academic Press; 2020. <https://doi.org/10.1201/9780367821678>.
- [74] N. Politis S, Colombo P, Colombo G, M. Rekkas D. Design of experiments (DoE) in pharmaceutical development. *Drug Dev Ind Pharm* 2017;43:889–901. <https://doi.org/10.1080/03639045.2017.1291672>.
- [75] Fukuda IM, Pinto CFF, Moreira C dos S, Saviano AM, Lourenço FR. Design of Experiments (DoE) applied to Pharmaceutical and Analytical Quality by Design (QbD). *Braz J Pharm Sci* 2018;54. <https://doi.org/10.1590/s2175-9790201800001006>.
- [76] Lewis GA, Mathieu D, Phan RTL. *Pharmaceutical experimental design*. New York: Dekker; 1999.
- [77] Rozet E, Lebrun P, Hubert P, Debrus B, Boulanger B. Design Spaces for analytical methods. *TrAC Trends Anal Chem* 2013;42:157–67. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.09.007>.
- [78] Otto M. *Chemometrics: statistics and computer application in analytical chemistry*. Third edition. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2017.
- [79] Dean A, Voss D, Draguljić D. *Design and Analysis of Experiments*. Cham: Springer International Publishing; 2017. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-52250-0>.
- [80] Molnár I, Fekete S. *Software-assisted method development in high performance liquid chromatography*. World Scientific Publishing Europe Ltd.; 2019.
- [81] Rozet E, Lebrun P, Hubert P, Debrus B, Boulanger B. Design Spaces for analytical methods. *TrAC Trends Anal Chem* 2013;42:157–67. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.09.007>.
- [82] Barker TB, Milivojević A. *Quality by Experimental Design*. Fourth. CRC Press Taylor & Francis Group; 2016.
- [83] Beg S, Rahman M, Imam SS, Alruwaili NK, Robaian MA, Panda SK, editors. *Pharmaceutical Drug Product Development and Process Optimization: Effective Use of*

- Quality by Design. 1st ed. Includes Bibliographical References and Index.: Apple Academic Press; 2020. <https://doi.org/10.1201/9780367821678>.
- [84] NCSS Statistical Software. D-Optimal Designs, n.d., p. 20.
- [85] NIST. D-Optimal designs. Eng. Stat. Handb., 2022.
- [86] Chu Y-H, Han I-S, Han C. Improved evolutionary operation based on D-optimal design and response surface method. *Korean J Chem Eng* 2002;19:535–44. <https://doi.org/10.1007/BF02699292>.
- [87] Lourenço V, Lochmann D, Reich G, Menezes JC, Herdling T, Schewitz J. A quality by design study applied to an industrial pharmaceutical fluid bed granulation. *Eur J Pharm Biopharm* 2012;81:438–47. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.03.003>.
- [88] Torbeck LD, editor. *Pharmaceutical and Medical Device Validation by Experimental Design*. 0 ed. CRC Press; 2007. <https://doi.org/10.3109/9781420055702>.
- [89] Ferreira SLC, dos Santos WNL, Quintella CM, Neto BB, Bosque-Sendra JM. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry—review. *Talanta* 2004;63:1061–7. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.01.015>.
- [90] Wu C-F, Hamada M. *Experiments: planning, analysis, and optimization*. Third edition. Hoboken, NJ: Wiley; 2020.
- [91] Armstrong NA. *Pharmaceutical Experimental Design and Interpretation*. 0 ed. CRC Press; 2006. <https://doi.org/10.1201/9781420021455>.
- [92] Goupy J, Creighton L. *Introduction aux plans d'expériences*. 3e éd. Paris: Dunod “L’Usine nouvelle”; 2006.
- [93] Tamhane AC. *Statistical analysis of designed experiments: theory and applications*. Hoboken, N.J: Wiley; 2009.
- [94] Davis R, John P. Application of Taguchi-Based Design of Experiments for Industrial Chemical Processes. In: Silva V, editor. *Stat. Approaches Emphas. Des. Exp. Appl. Chem. Process., InTech*; 2018. <https://doi.org/10.5772/intechopen.69501>.
- [95] Giesbrecht FG, Gumpertz ML. *Planning, construction, and statistical analysis of comparative experiments*. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience; 2004.
- [96] Montgomery DC. *Design and Analysis of Experiments* Montgomery. n.d.
- [97] Antony J. *Design of experiments for engineers and scientists*. 2nd edition. London: Elsevier; 2014.
- [98] Wu C-F, Hamada M. *Experiments: planning, analysis, and optimization*. Third edition. Hoboken, NJ: Wiley; 2020.
- [99] Minitab, LLC. <https://www.minitab.com/en-us/support/> 2022.
- [100] GOUPY J. *Plans d'expériences par Jacques GOUPY* 1997.
- [101] Protassov K. *Analyse statistique de données expérimentales*. EDP Sciences; 2014.
- [102] Montgomery DC, Peck EA, Vining GG. *Introduction to linear regression analysis*. 5th ed. Hoboken, NJ: Wiley; 2012.
- [103] Wu H, Khan MA. Quality by Design: Process Trajectory Development for a Dynamic Pharmaceutical Coprecipitation Process Based on an Integrated Real-Time Process Monitoring Strategy. In: Reklaitis GV, Seymour C, García-Munoz S, editors. *Compr. Qual. Des. Pharm. Prod. Dev. Manuf.*, Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2017, p. 235–56. <https://doi.org/10.1002/9781119356189.ch9>.
- [104] Mori D, Rathod P, Parmar R, Dudhat K, Chavda J. Preparation and optimization of multi-functional directly compressible excipient: an integrated approach of principal component analysis and design of experiments. *Drug Dev Ind Pharm* 2020;46:2010–21. <https://doi.org/10.1080/03639045.2020.1841788>.
- [105] Miller JN, Miller JC. *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*. 6th ed. Harlow: Prentice Hall/Pearson; 2010.

- [106] Ferreira AP, Tobyn M. Multivariate analysis in the pharmaceutical industry: enabling process understanding and improvement in the PAT and QbD era. *Pharm Dev Technol* 2015;20:513–27. <https://doi.org/10.3109/10837450.2014.898656>.
- [107] Moshgbar M, Hammond S. Advanced Process Control: Advanced Process Control. *Qual Assur J* 2010;13:62–6. <https://doi.org/10.1002/qaj.472>.
- [108] Borchert D, A. Suarez-Zuluaga D, E. Thomassen Y, Herwig C, 1 Exputec GmbH, Mariahilferstraße 88a/1/9, 1070 Vienna, Austria, 2 Intravacc, Antonie van Leeuwenhoeklaan 9, 3721 MA Bilthoven, The Netherlands, et al. Risk assessment and integrated process modeling—an improved QbD approach for the development of the bioprocess control strategy. *AIMS Bioeng* 2020;7:254–71. <https://doi.org/10.3934/bioeng.2020022>.
- [109] Jameel F, Hershenson S, Khan MA, Martin-Moe S, editors. *Quality by Design for Biopharmaceutical Drug Product Development*. vol. 18. New York, NY: Springer New York; 2015. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2316-8>.
- [110] Lionberger RA, Lee SL, Lee L, Raw A, Yu LX. Quality by Design: Concepts for ANDAs. *AAPS J* 2008;10:268–76. <https://doi.org/10.1208/s12248-008-9026-7>.
- [111] FDA. *Guidance for Industry PAT - A Framework for Innovative Pharmaceutical Development, manufacturing, and Quality Assurance* 2004.
- [112] Popkin ME, Borman PJ, Omer BA, Seibert KD, Srivastava S, Lepore JV, et al. The Delivery of Flexibility from the Application of QbD to API Development. *J Pharm Innov* 2018;13:367–72. <https://doi.org/10.1007/s12247-018-9339-8>.
- [113] FDA. Q8, Q9, & Q10 Questions and Answers- Appendix: Q&As from Training Sessions (Q8, Q9, & Q10 Points to Consider) 2020.
- [114] Murphy T, O'Mahony N, Panduru K, Riordan D, Walsh J. Pharmaceutical manufacturing and the quality by design (QbD), process analytical technology (PAT) approach. 2016 27th Ir. Signals Syst. Conf. ISSC, Londonderry: IEEE; 2016, p. 1–7. <https://doi.org/10.1109/ISSC.2016.7528465>.
- [115] Mishra A, Singh H, Gupta G, Singh SK. QbD: Review of a revolutionary approach for quality products. *Pharmacovigil. Healthc. Prof. Scope Oppor.*, India: Amity Institute of Pharmacy; 2020, p. 171.
- [116] Tai Y, Qu H, Gong X. Design Space Calculation and Continuous Improvement Considering a Noise Parameter: A Case Study of Ethanol Precipitation Process Optimization for Carthami Flos Extract. *Separations* 2021;8:74. <https://doi.org/10.3390/separations8060074>.
- [117] Aksu B, Mesut B. Quality by design (QbD) for pharmaceutical area. *İstanbul Ecz Fak Derg J Fac Pharm Istanbul* 2015;45:19.
- [118] Riley CM, Rosanske TW, Reid GL. *Specification of Drug Substances and Products: Development and Validation of Analytical Methods*. Second edition. Elsevier; 2020.
- [119] Sangshetti JN, Deshpande M, Zaheer Z, Shinde DB, Arote R. Quality by design approach: Regulatory need. *Arab J Chem* 2017;10:S3412–25. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.01.025>.
- [120] NIHS. *Quality by Design in the Development of Analytical Procedures* n.d.
- [121] Goswami S, Chakraverty R. A review on application of Quality by Design concept to analytical techniques. *Int J Curr Res Health Biol Sci* 2016;1:10.
- [122] Tome T, Žigart N, Časar Z, Obreza A. Development and Optimization of Liquid Chromatography Analytical Methods by Using AQbD Principles: Overview and Recent Advances. *Org Process Res Dev* 2019;23:1784–802. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.9b00238>.
- [123] Yuan Q, Li W, Regan L. Implementing QbD in Analytical Development: Case Study of Anion-Exchange HPLC Method. *BioProcess Int* 2017;15.

- [124] Sharma T, Jain A, Saini S, Katare O, Singh B. Implementation of analytical quality-by-design and green analytical chemistry approaches for the development of robust and ecofriendly UHPLC analytical method for quantification of chrysin. *Sep Sci PLUS* 2020;3:384–98. <https://doi.org/10.1002/sscp.202000028>.
- [125] Peraman R, Bhadraya K, Padmanabha Reddy Y. Analytical Quality by Design: A Tool for Regulatory Flexibility and Robust Analytics. *Int J Anal Chem* 2015;2015:1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/868727>.
- [126] Beg S, Saquib Hasnain M, Rahman M, Almalki WH, editors. Handbook of analytical quality by design. Waltham: Elsevier; 2021.
- [127] Panda SS, Ravi Kumar Bera VV, Beg S, Mandal O. Analytical Quality by Design (AQbD)-oriented RP-UFLC method for quantification of lansoprazole with superior method robustness. *J Liq Chromatogr Relat Technol* 2017;40:479–85. <https://doi.org/10.1080/10826076.2017.1327442>.
- [128] Ermer J. Analytical Target Profile: establishment of precision requirements for assay. *J Pharm Biomed Anal* 2018;160:73–9. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.07.035>.
- [129] Parr MK, Schmidt AH. Life cycle management of analytical methods. *J Pharm Biomed Anal* 2018;147:506–17. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.06.020>.
- [130] McDowall RD. Data integrity and data governance: practical implementation in regulated laboratories. London: Royal Society of Chemistry; 2019.
- [131] Kovacs E, Ermer J, McGregor PL, Nethercote P, LoBrutto R, Martin GP, et al. Analytical control strategy, 2016, p. 29.
- [132] Rignall A, Borman P, Hanna-Brown M, Grosche O, Hamilton P, Katzenbach S, et al. Analytical Procedure Lifecycle Management: Current Status and Opportunities n.d.:18.
- [133] Jackson P, Borman P, Campa C, Chatfield M, Godfrey M, Hamilton P, et al. Using the Analytical Target Profile to Drive the Analytical Method Lifecycle. *Anal Chem* 2019;91:2577–85. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04596>.
- [134] cofrac. Exigences pour l'accréditation des laboratoires selon la norme NF EN ISO/IEC 17025:2017 2021.
- [135] ISO/IEC. Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais (ISO/IEC 17025:2017) 2017.
- [136] Lloyd DK, Bergum J. Application of quality by design (QbD) to the development and validation of analytical methods. *Specif. Drug Subst. Prod.*, Elsevier; 2014, p. 29–72. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-098350-9.00003-5>.
- [137] Panda SS, Bera R K V V, Behera AK, Beg S. Chemometrics-assisted development of a liquid chromatography method for estimation of lapatinib in tablets: A case study on a novel quality concept. *Sep Sci PLUS* 2020;3:12–21. <https://doi.org/10.1002/sscp.201900096>.
- [138] Nadella NP, Ratnakaram VN, Srinivasu N. Quality-by-design-based development and validation of a stability-indicating UPLC method for quantification of teriflunomide in the presence of degradation products and its application to *in-vitro* dissolution. *J Liq Chromatogr Relat Technol* 2017;40:517–27. <https://doi.org/10.1080/10826076.2017.1330211>.
- [139] Patil TS, Deshpande AS. Development of an Innovative Quality by Design (QbD) Based Stability-Indicating HPLC Method and its Validation for Clofazimine from its Bulk and Pharmaceutical Dosage Forms. *Chromatographia* 2019;82:579–90. <https://doi.org/10.1007/s10337-018-3660-8>.
- [140] Jayagopal B, Shivashankar M. Analytical Quality by Design – A Legitimate Paradigm for Pharmaceutical Analytical Method Development and Validation. *Mater Sci* 2017:11.
- [141] Barnett KL, McGregor PL, Martin GP, LeBlond DJ, Jane ML, Ermer J, et al. Analytical target profile: Structure and application throughout the analytical lifecycle n.d.:18.

- [142] Weitzel J, Meija J. Measurement Uncertainty for the Pharmaceutical Industry. vol. 44, 2018, p. 26.
- [143] JCGM. Vocabulaire international de métrologie – Concepts fondamentaux et généraux et termes associés (VIM). 3e édition. 2012.
- [144] Nickerson B, editor. Sample Preparation of Pharmaceutical Dosage Forms. Boston, MA: Springer US; 2011. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9631-2>.
- [145] Hanna-Brown M, Barnett K, Harrington B, Graul T, Morgado J, Colgan S, et al. Using Quality by Design to develop robust chromatographic methods. *Pharm Technol Eur* 2014;26.
- [146] Alhakeem MA, Ghica MV, Pîrvu CD, Anuța V, Popa L. Analytical Quality by Design with the Lifecycle Approach: A Modern Epitome for Analytical Method Development. *Acta Medica Marisiensis* 2019;65:37–44. <https://doi.org/10.2478/amma-2019-0010>.
- [147] Snee R. The Use of the Analytical Target Profile in the Lifecycle of an Analytical Procedure: with an example for an HPLC Procedure. *Valid Technol* 2015.
- [148] Mosford K. Analytical Life Cycle Management— The Coming Revolution. *The Column* 2018;14:35.
- [149] Thakur K, Sharma G, Singh B, Chhibber S, Katare OP. Analytical QbD-Integrated Method Development and Validation of Silver Sulphadiazine in Pure Drug and Topical Nanocarrier(s). *Anal Chem Lett* 2018;8:727–46. <https://doi.org/10.1080/22297928.2018.1552537>.
- [150] Raman NVVSS, Mallu UR, Bapatu HR. Analytical Quality by Design Approach to Test Method Development and Validation in Drug Substance Manufacturing. *J Chem* 2015;2015:1–8. <https://doi.org/10.1155/2015/435129>.
- [151] Basso J, Mendes M, Cova TFGG, Sousa JJ, Pais AACC, Vitorino C. Analytical Quality by Design (AQbD) as a multiaddressable platform for co-encapsulating drug assays. *Anal Methods* 2018;10:5659–71. <https://doi.org/10.1039/C8AY01695J>.
- [152] Khurana RK, Rao S, Beg S, Katare OP, Singh B. Systematic Development and Validation of a Thin-Layer Densitometric Bioanalytical Method for Estimation of Mangiferin Employing Analytical Quality by Design (AQbD) Approach. *J Chromatogr Sci* 2016;54:829–41. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmw001>.
- [153] Ellwanger JB, Wingert NR, Volpato NM, Garcia CV, Schapoval EES, Steppe M. Analytical Quality by Design Approach for a Stability-Indicating Method to Determine Apixaban and Its Related Impurities. *Chromatographia* 2020;83:65–75. <https://doi.org/10.1007/s10337-019-03815-9>.
- [154] Deidda R, Avohou HT, Baronti R, Davolio PL, Pasquini B, Del Bubba M, et al. Analytical quality by design: Development and control strategy for a LC method to evaluate the cannabinoids content in cannabis olive oil extracts. *J Pharm Biomed Anal* 2019;166:326–35. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.01.032>.
- [155] Mitrović M, Protić A, Malenović A, Otašević B, Zečević M. Analytical quality by design development of an ecologically acceptable enantioselective HPLC method for timolol maleate enantiomeric purity testing on ovomucoid chiral stationary phase. *J Pharm Biomed Anal* 2020;180:113034. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.113034>.
- [156] Riley CM, Mueller BJ, Rosanske TW, Riley SRR. Specification of Drug Substances and Products: Development and Validation of Analytical Methods. Elsevier; 2014. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-098350-9.00001-1>.
- [157] Panda SS, Bera RKVV, Acharjya SK, Sahoo P, Beg S. Analytical lifecycle management approach: Application to development of a reliable LC method for estimation of lacidipine. *Sep Sci Plus* 2019;2:18–25. <https://doi.org/10.1002/sscp.201800110>.
- [158] Sharma T, Khurana RK, Jain A, Katare OP, Singh B. Development of a validated liquid chromatographic method for quantification of sorafenib tosylate in the presence of stress-induced degradation products and in biological matrix employing analytical quality by

- design approach. *Biomed Chromatogr* 2018;32:e4169. <https://doi.org/10.1002/bmc.4169>.
- [159] Patel KG, Patel AT, Shah PA, Gandhi TR. Multivariate optimization for simultaneous determination of aspirin and simvastatin by reverse phase liquid chromatographic method using AQbD approach. *Bull Fac Pharm Cairo Univ* 2017;55:293–301. <https://doi.org/10.1016/j.bfopcu.2017.08.003>.
- [160] Basso J, Mendes M, Cova TFGG, Sousa JJ, Pais AACC, Vitorino C. Analytical Quality by Design (AQbD) as a multiaddressable platform for co-encapsulating drug assays. *Anal Methods* 2018;10:5659–71. <https://doi.org/10.1039/C8AY01695J>.
- [161] Little TA. *QbD Approach to Assay Development and Method Validation* 2014.
- [162] Deidda R, Orlandini S, Hubert P, Hubert C. Risk-based approach for method development in pharmaceutical quality control context: A critical review. *J Pharm Biomed Anal* 2018;161:110–21. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.07.050>.
- [163] Graul TW, Barnett KL, Bale SJ, Gill I, Hanna-Brown M. Quality by Design for Analytical Methods. In: am Ende DJ, editor. *Chem. Eng. Pharm. Ind.*, Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2010, p. 543–62. <https://doi.org/10.1002/9780470882221.ch29>.
- [164] Oldenhof MT, van Leeuwen JF, Nauta MJ, de Kaste D, Odekerken-Rombouts YMCF, Vredendregt MJ, et al. Consistency of FMEA used in the validation of analytical procedures. *J Pharm Biomed Anal* 2011;54:592–5. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.09.024>.
- [165] Soler A, Alvarez L, Mira A, Bedini JL, Rico N, Fernández RM, et al. Analytical performance assessment and improvement by means of the Failure mode and effect analysis (FMEA). *Biochem Medica* 2020;30:250–6. <https://doi.org/10.11613/BM.2020.020703>.
- [166] Stocker E, Becker K, Hate S, Hohl R, Schiemenz W, Sacher S, et al. Application of ICH Q9 Quality Risk Management Tools for Advanced Development of Hot Melt Coated Multiparticulate Systems. *J Pharm Sci* 2017;106:278–90. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.09.025>.
- [167] Witcher MF. Failure Mode and Effect Analysis (FMEA) as a Quality by Design (QbD) Tool for Managing Biopharmaceutical Product Development and Manufacturing Risks. *Bioprocess J Trends Dev BioProcess Technol* 2014;13:9.
- [168] van Leeuwen JF, Nauta MJ, de Kaste D, Odekerken-Rombouts YMCF, Oldenhof MT, Vredendregt MJ, et al. Risk analysis by FMEA as an element of analytical validation. *J Pharm Biomed Anal* 2009;50:1085–7. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.06.049>.
- [169] Sharma K, Srivastava S. Failure Mode and Effect Analysis (FMEA) Implementation: A Literature Review 2018.
- [170] Barends DM, Oldenhof MT, Vredendregt MJ, Nauta MJ. Risk analysis of analytical validations by probabilistic modification of FMEA. *J Pharm Biomed Anal* 2012;64–65:82–6. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.02.009>.
- [171] Panda SS. Analytical Quality-By-Design Compliant Ultrafast Liquid Chromatographic Method for Determination of Paliperidone in Extended Release Tablet Dosage Form. *J Bioanal Biomed* 2015;07. <https://doi.org/10.4172/1948-593X.1000133>.
- [172] Panda SS, Ravi Kumar Bera VV, Sahu B. Integrated Quality by Design (QbD) and Quality Risk Management (QRM) based Liquid Chromatographic Method Development and Validation for Estimation of Capecitabine in Pharmaceutical Dosage Form. *Anal Chem Lett* 2018;8:665–76. <https://doi.org/10.1080/22297928.2018.1516567>.
- [173] Ameenuzzafar, El-Bagory I, Alruwaili NK, Imam SS, Alomar FA, Elkomy MH, et al. Quality by design (QbD) based development and validation of bioanalytical RP-HPLC method for dapagliflozin: Forced degradation and preclinical pharmacokinetic study. *J*

- [174] Reid GL, Morgado J, Barnett K, Harrington B, Wang J, Harwood J, et al. Analytical Quality by Design (AQbD) in Pharmaceutical Development 2013. <http://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/144191-Analytical-Quality-by-Design-AQbD-in-Pharmaceutical-Development/> (accessed October 7, 2021).
- [175] Jianing Meng VA. Application of Design of Experiment and Simulation Methods in Liquid Chromatography Analysis of Topical HIV Microbicides Stampidine and HI443. *J Anal Bioanal Tech* 2014;05. <https://doi.org/10.4172/2155-9872.1000180>.
- [176] Chaudhari SR, Shirkhedkar AA. Design of experiment avenue for development and validation of RP-HPLC-PDA method for determination of apremilast in bulk and in in-house tablet formulation. *J Anal Sci Technol* 2019;10:10. <https://doi.org/10.1186/s40543-019-0170-8>.
- [177] Abu el Maaty MA, Hanafi RS, Aboul-Enein HY, Gad MZ. Design-of-Experiment Approach for HPLC Analysis of 25-Hydroxyvitamin D: A Comparative Assay with ELISA. *J Chromatogr Sci* 2015;53:66–72. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmu017>.
- [178] S.N M, Mahapatra A. Analytical Quality by Design - A review. 2020.
- [179] Alam AMU. Lifecycle of Analytical Method Developed by Quality by Design (QbD) Approach 2020. <https://doi.org/10.13141/RG.2.2.16476.71132>.
- [180] Ganorkar SB, Shirkhedkar AA. Design of experiments in liquid chromatography (HPLC) analysis of pharmaceuticals: analytics, applications, implications and future prospects. *Rev Anal Chem* 2017;36. <https://doi.org/10.1515/revac-2016-0025>.
- [181] Orlandini S, Pinzauti S, Furlanetto S. Application of quality by design to the development of analytical separation methods. *Anal Bioanal Chem* 2013;405:443–50. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6302-2>.
- [182] Burdick RK, LeBlond DJ, Pfahler LB, Quiroz J, Sidor L, Vukovinsky K, et al. Statistical Applications for Chemistry, Manufacturing and Controls (CMC) in the Pharmaceutical Industry. Cham: Springer International Publishing; 2017. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-50186-4>.
- [183] Sahu PK, Ramiseti NR, Cecchi T, Swain S, Patro CS, Panda J. An overview of experimental designs in HPLC method development and validation. *J Pharm Biomed Anal* 2018;147:590–611. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.006>.
- [184] Dhoot AS, Fernandes GJ, Naha A, Rathnanand M, Kumar L. Design of Experiments in Pharmaceutical Development. *Pharm Chem J* 2019;53:730–5. <https://doi.org/10.1007/s11094-019-02070-4>.
- [185] Beg S, Kohli K, Swain S, Hasnain MS. Development and validation of RP-HPLC method for quantitation of amoxicillin trihydrate in bulk and pharmaceutical formulations using Box-Behnken experimental design. *J Liq Chromatogr Relat Technol* 2012;35:393–406. <https://doi.org/10.1080/10826076.2011.601493>.
- [186] Sharma V, Singh L, Verma N. Establishment and Escalation of an Amino Acid Stacked Repressible Release Embedded System Using Quality by Design. *Turk J Pharm Sci* 2019;16:20–6. <https://doi.org/10.4274/tjps.44154>.
- [187] Cózar-Bernal MJ, Rabasco AM, González-Rodríguez ML. Development and validation of a high performance chromatographic method for determining sumatriptan in niosomes. *J Pharm Biomed Anal* 2013;72:251–60. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.08.030>.
- [188] Vera Candiotti L, De Zan MM, Cámara MS, Goicoechea HC. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. *Talanta* 2014;124:123–38. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.01.034>.

- [189] Tietje C, Brouder A, editors. International Conference On Harmonisation Of Technical Requirements For Registration Of Pharmaceuticals For Human Use. Handb. Transnatl. Econ. Gov. Regimes, Brill | Nijhoff; 2010, p. 1041–53. <https://doi.org/10.1163/ej.9789004163300.i-1081.897>.
- [190] Monks K, Molnár I, Rieger H-J, Bogáti B, Szabó E. Quality by Design: Multidimensional exploration of the design space in high performance liquid chromatography method development for better robustness before validation. *J Chromatogr A* 2012;1232:218–30. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.12.041>.
- [191] Ferreira SLC, Caires AO, Borges T da S, Lima AMDS, Silva LOB, dos Santos WNL. Robustness evaluation in analytical methods optimized using experimental designs. *Microchem J* 2017;131:163–9. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.12.004>.
- [192] César I da C, Pianetti GA. Robustness evaluation of the chromatographic method for the quantitation of lumefantrine using Youden’s test. *Braz J Pharm Sci* 2009;45:235–40. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502009000200007>.
- [193] Karageorgou E, Samanidou V. Youden test application in robustness assays during method validation. *J Chromatogr A* 2014;1353:131–9. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.01.050>.
- [194] Ravisankar P, Navya CN, Pravallika D, Sri DN. A review on step-by-step analytical method validation 2015;5:14.
- [195] Summers M, Fountain KJ. Validation of a Method for the Separation of Ziprasidone and Its Degradants using Empower 2 with Method Validation Manager (MVM) 2011.
- [196] Bliesner DM. Validating chromatographic methods: a practical guide. Hoboken, N.J: Wiley; 2006.
- [197] Feinberg M. Approche globale et harmonisée de la validation 2006:8.
- [198] Reichenbacher M, Einax JW. Challenges in Analytical Quality Assurance. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2011. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-16595-5>.
- [199] Bouklouze A, Cherrah Y. Validation des procédures analytiques selon la nouvelle approche basée sur l’erreur total (Profil d’exactitude). *Technol Lab* 2009;4.
- [200] Boulanger B, Chapuzet E, Chiap P, Cohen N, Compagnon PA, Dewe W, et al. Validation des procédures analytiques quantitatives Harmonisation des démarches 2003;13:38.
- [201] Feinberg M. Validation des méthodes d’analyse quantitatives au moyen du profil d’exactitude. *Qual Sécurité Au Lab* 2015. <https://doi.org/10.51257/a-v2-p224>.
- [202] Inra. Cahier des techniques - Validation des méthodes n.d. <https://www6.inrae.fr/novae/Les-Cahiers-parus/Les-n-Speciaux-et-les-n-Thematiques/Validation-des-methodes> (accessed October 28, 2021).
- [203] Deidda R, Avohou HT, Baronti R, Davolio PL, Pasquini B, Del Bubba M, et al. Analytical quality by design: Development and control strategy for a LC method to evaluate the cannabinoids content in cannabis olive oil extracts. *J Pharm Biomed Anal* 2019;166:326–35. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.01.032>.
- [204] Panda SS, Bera RKVV, Mohanty S, Panigrahi S, Sahu B. Analytical procedure development: Concept to application for chemometry based ultrafast LC estimation of pimavanserin in pharmaceuticals. *J Liq Chromatogr Relat Technol* 2020;43:118–30. <https://doi.org/10.1080/10826076.2019.1680389>.
- [205] Radić I, Runje M, Babić S. Development of an analytical method for the determination of pimavanserin and its impurities applying analytical quality by design principles as a risk-based strategy. *J Pharm Biomed Anal* 2021;201:114091. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114091>.
- [206] Rozet E, Lebrun P, Hubert P, Debrus B, Boulanger B. Design Spaces for analytical methods. *TrAC Trends Anal Chem* 2013;42:157–67. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.09.007>.

- [207] Rm A. Implementing a Quality by Design Approach in Chromatographic Determination of Some Antidiabetic Drugs 2018;1:9.
- [208] Ayre A, Mane P, Ghude K, Nemade M, Gide P. Implementing Quality by Design-A methodical approach in the RP-HPLC method development process. *Int J Adv Pharm Anal* 2014;4:6.
- [209] Panda SS, Samanta R. Ultrafast Liquid Chromatographic estimation of sertaconazole nitrate in pharmaceuticals using Analytical Quality by Design. *Malays J Anal Sci* 2019;23. <https://doi.org/10.17576/mjas-2019-2302-15>.
- [210] DrugBank Online. Amoxicillin Trihydrate | DrugBank Online. DrugBank Online n.d. <https://go.drugbank.com/salts/DBSALT000867> (accessed December 5, 2022).
- [211] National Library of Medicine. Clavulanate potassium. *Natl Cent Biotechnol Inf* n.d. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/23665591> (accessed December 5, 2022).
- [212] GlaxoSmithKline. AUGMENTIN AMOXICILLINE/ACIDE CLAVULANIQUE 1 g/125 mg Adulte poudre pour suspension buvable en sachet-dose, 500 mg/62,5 mg Adulte comprimé pelliculé, 100 mg/12,50 mg par ml Enfant, 100 mg/12,50 mg par ml Nourrisson, poudre pour suspension buvable en flacon 2012.
- [213] USP43-NF38. Amoxicillin and Clavulanate Potassium for Oral Suspension 2020. https://doi.org/10.31003/USPNF_M4190_01_01.
- [214] USP43-NF38. Amoxicillin 2020.
- [215] USP43-NF38. Clavulanate Potassium 2020.
- [216] USP 34–NF 29. Uniformity of dosage units 2011.
- [217] The British Pharmacopoeia Commission Secretariat of the Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency (MHRA). *British Pharmacopoeia 2020* 2020.
- [218] WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products. C: ICH; 2018.
- [219] NICHD-FDA. Intra-Agency Agreement Between the NICHD and the FDA, Oral Formulations Platform--Report 1 n.d. https://www.nichd.nih.gov/sites/default/files/inline-files/Formulations_Platform_Report1.pdf (accessed December 5, 2022).
- [220] Thakore S. Product Information Report: Amoxicillin. USAID-USP; 2018.
- [221] PubChem. Clavulanic acid. *Natl Cent Biotechnol Inf* n.d. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280980> (accessed December 5, 2022).
- [222] The Metabolomics Innovation Center. Human Metabolome Database: Showing metabocard for Clavulanate (HMDB0014904). *HMDB* 2022. <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0014904> (accessed December 5, 2022).
- [223] Yu LX. Pharmaceutical Quality by Design: Product and Process Development, Understanding, and Control. *Pharm Res* 2008;25:781–91. <https://doi.org/10.1007/s11095-007-9511-1>.
- [224] Uhlenbrock L, Sixt M, Strube J. Quality-by-Design (QbD) process evaluation for phytopharmaceuticals on the example of 10-deacetylbaccatin III from yew. *Resour-Effic Technol* 2017;3:137–43. <https://doi.org/10.1016/j.reffit.2017.03.001>.
- [225] Waghule T, Dabholkar N, Gorantla S, Rapalli VK, Saha RN, Singhvi G. Quality by design (QbD) in the formulation and optimization of liquid crystalline nanoparticles (LCNPs): A risk based industrial approach. *Biomed Pharmacother* 2021;141:111940. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111940>.
- [226] Toma I. Development and characterization of loratadine liposomal gel using QbD approach. *FARMACIA* 2022;70:204–13. <https://doi.org/10.31925/farmacia.2022.2.4>.
- [227] Puratchikody A, Prabu SL, Umamaheswari A, editors. *Computer applications in drug discovery and development*. Hershey, PA: Medical Information Science Reference; 2019.

- [228] Kim J-E, Park Y-J. QbD Consideration for Developing a Double-Layered Tablet into a Single-Layered Tablet with Telmisartan and Amlodipine. *Pharmaceutics* 2022;14:377. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020377>.
- [229] Kovács B, Péterfi O, Kovács-Deák B, Székely-Szentmiklósi I, Fülöp I, Bába L-I, et al. Quality-by-design in pharmaceutical development: From current perspectives to practical applications. *Acta Pharm* 2021;71:497–526. <https://doi.org/10.2478/acph-2021-0039>.
- [230] The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe. European pharmacopoeia. Tenth edition. Strasbourg: Council of Europe : European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare; 2019.
- [231] DAVID J. AM ENDE, MARY T. AM ENDE. *Chemical Engineering in the Pharmaceutical Industry*. Second Edition. Wiley; 2019.
- [232] Barbălată CI, Tomuță I, Achim M, Boșca AB, Cherecheș G, Sorișău O, et al. Application of the QbD Approach in the Development of a Liposomal Formulation with EGCG. *J Pharm Innov* 2022;17:867–80. <https://doi.org/10.1007/s12247-021-09541-w>.
- [233] Soni G, Yadav KS, Gupta MK. QbD based approach for formulation development of spray dried microparticles of erlotinib hydrochloride for sustained release. *J Drug Deliv Sci Technol* 2020;57:101684. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101684>.
- [234] Manu Shree V, Chandramouli R. Review on Quality by Design Approach (Qbd). *Curr Trends Biotechnol Pharm* 2021;15. <https://doi.org/10.5530/ctbp.2021.4.47>.
- [235] Lievense R. *Pharmaceutical Quality by Design Using JMP*. SAS Inst Inc 2018:436.
- [236] Manzon D, Claeys-Bruno M, Declomesnil S, Carité C, Sergent M. Quality by Design: Comparison of Design Space construction methods in the case of Design of Experiments. *Chemom Intell Lab Syst* 2020;200:104002. <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2020.104002>.
- [237] Dahmash EZ, Al-khattawi A, Iyire A, Al-Yami H, Dennison TJ, Mohammed AR. Quality by Design (QbD) based process optimisation to develop functionalised particles with modified release properties using novel dry particle coating technique. *PLOS ONE* 2018;13:e0206651. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206651>.
- [238] Iurian S, Bogdan C, Tomuță I, Szabó-Révész P, Chvatal A, Leucuța SE, et al. Development of oral lyophilisates containing meloxicam nanocrystals using QbD approach. *Eur J Pharm Sci* 2017;104:356–65. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.04.011>.
- [239] Committee to Identify Innovative Technologies to Advance Pharmaceutical Manufacturing, Board on Chemical Sciences and Technology, Division on Earth and Life Studies, National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. *Innovations in Pharmaceutical Manufacturing on the Horizon: Technical Challenges, Regulatory Issues, and Recommendations*. Washington, D.C.: National Academies Press; 2021. <https://doi.org/10.17226/26009>.
- [240] Kim EJ, Kim JH, Kim M-S, Jeong SH, Choi DH. Process Analytical Technology Tools for Monitoring Pharmaceutical Unit Operations: A Control Strategy for Continuous Process Verification. *Pharmaceutics* 2021;13:919. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13060919>.
- [241] Thakur G, Rathore A. Near Infrared Spectroscopy as a Versatile PAT Tool for Continuous Downstream Bioprocessing. *Pharm Technol* 2021;45:32–40.
- [242] AMETEK MOCON. Analyseur de perméabilité à l'oxygène Série OX-TRAN 2/48 pour les emballages complets AMETEK MOCON. <https://www.ametekmocon.fr/products/permeationanalyzers/otr-permeation-analyzers/www.ametekmocon.com/products/permeationanalyzers/otr-permeation-analyzers/ox-tran-2-48-series> (accessed December 8, 2022).
- [243] AMETEK MOCON. Analyseur WVTR AQUATRAN 3. <https://www.ametekmocon.fr/products/permeationanalyzers/wvtr-permeation->

- analyzers/www.ametekmocon.com/products/permeationanalyzers/wvtr-permeation-analyzers/aquatran-3-wvtr-analyzer (accessed December 8, 2022).
- [244] Miranda M, Pais AACC, Cardoso C, Vitorino C. aQbD as a platform for IVRT method development – A regulatory oriented approach. *Int J Pharm* 2019;572:118695. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118695>.
- [245] Rmandić M, Malenović A. Chaotropic chromatography method development for the determination of aripiprazole and its impurities following analytical quality by design principles. *J Sep Sci* 2020;43:3242–50. <https://doi.org/10.1002/jssc.201900985>.
- [246] Shao J, Cao W, Qu H, Pan J, Gong X. A novel quality by design approach for developing an HPLC method to analyze herbal extracts: A case study of sugar content analysis. *PLOS ONE* 2018;13:e0198515. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198515>.
- [247] Sandhu PS, Kumar R, Katare O, Singh B. Surface-tailored nanomixed micelles containing quercetin–salicylic acid physical complex for enhanced cellular and *in vivo* activities: a quality by design perspective. *Nanomed* 2017;12:1281–303. <https://doi.org/10.2217/nmm-2017-0040>.
- [248] Hafez HM, Elshanawany AA, Abdelaziz LM, Mohram MS. Design of Experiment Utilization to Develop a Simple and Robust RP- UPLC Method for Stability Indicating Method of anti glaucoma Ophthalmic Drops. *Eurasian J Anal Chem* 2015:23.
- [249] Xavier CM, Basavaiah K, Vinay KB, Swamy N. Quality by Design Approach for the Development and Validation of Glipizide, an Antidiabetic Drug, by RP-UPLC with Application to Formulated Forms and Urine. *ISRN Chromatogr* 2013;2013:1–10. <https://doi.org/10.1155/2013/738397>.
- [250] Varaha Bera R kumar V, Gain A, Panda SS, Beg S. Spectrophotometric Determination of Sertaconazole Nitrate in Pharmaceutical Dosage Form using Quality by Design (QbD) Framework. *J Bioanal Biomed* 2015;09. <https://doi.org/10.4172/1948-593X.1000185>.
- [251] Ratih R, Wätzig H, Stein MO, El Deeb S. Quality by Design Assisted Optimization of a Chiral Capillary Electrokinetic Chromatographic Method for the Separation of Amlodipine Enantiomers Using Maltodextrin as Chiral Selector. *Pharmaceuticals* 2022;15:319. <https://doi.org/10.3390/ph15030319>.
- [252] Šljivić J, Protić A, Malenović A, Otašević B, Zečević M. Simple and Efficient Solution for Robustness Testing in Gradient Elution Liquid Chromatographic Methods. *Chromatographia* 2018;81:1135–45. <https://doi.org/10.1007/s10337-018-3545-x>.
- [253] Peraman R, Bhadraya K, reddy Yp, reddy Cs, Lokesh T. Analytical quality by design approach in RP-HPLC method development for the assay of etofenamate in dosage forms. *Indian J Pharm Sci* 2015;77:751. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.174971>.
- [254] Radi M, Karbane ME, ElAlami A, Issmaili S, Bakhous K. Optimization and Validation of a Method for Simultaneous Determination of Amoxicillin and Clavulanic acid by HPLC in Different Pharmaceutical Forms 2015:8.
- [255] Pajchel G, Pawłowski K, Tyski S. CE versus LC for simultaneous determination of amoxicillin/clavulanic acid and ampicillin/sulbactam in pharmaceutical formulations for injections. *J Pharm Biomed Anal* 2002;29:75–81. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(02\)00029-8](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(02)00029-8).
- [256] Tippa DMR, Singh N. Development and Validation of Stability Indicating HPLC Method for Simultaneous Estimation of Amoxicillin and Clavulanic Acid in Injection. *Am J Anal Chem* 2010;01:95–101. <https://doi.org/10.4236/ajac.2010.13013>.
- [257] 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. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.12.032>.

- [258] Dibbern H-W, editor. UV and IR spectra: pharmaceutical substances (UV and IR) and pharmaceutical and cosmetic excipients (IR). Aulendorf (Germany): ECV, Editio Cantor-Verl; 2002.
- [259] Borman P, Campa C, Delpierre G, Hook E, Jackson P, Kelley W, et al. Selection of Analytical Technology and Development of Analytical Procedures Using the Analytical Target Profile. *Anal Chem* 2022;94:559–70. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c03854>.
- [260] Gilardoni E, Regazzoni L. Liquid phase separation techniques for the characterization of monoclonal antibodies and bioconjugates. *J Chromatogr Open* 2022;2:100034. <https://doi.org/10.1016/j.jcoa.2022.100034>.
- [261] Cazes J, Scott RPW. *Chromatography theory*. New York: Marcel Dekker; 2002.
- [262] Ahuja S, Dong MW. *Handbook of pharmaceutical analysis by HPLC*. 1st ed. Amsterdam Boston: Elsevier Academic Press; 2005.
- [263] Kazakevich Y, LoBrutto R, editors. *HPLC for pharmaceutical scientists*. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience; 2007.
- [264] Kennedy JF, Quinton LA. Analytical Instrumentation: Performance, Characteristics and Quality. *Carbohydr Polym* 2003;51:364. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00148-0](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00148-0).
- [265] Rouessac F, Rouessac A. *Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques*. 2nd ed. Chichester, England ; Hoboken, NJ: John Wiley; 2007.
- [266] Parab Gaonkar V, Mannur VK, Hullatti K. Quality assessment and Analytical Quality by Design-based RP-HPLC method development for quantification of Piperine in *Piper nigrum* L. *Future J Pharm Sci* 2022;8:16. <https://doi.org/10.1186/s43094-022-00405-9>.
- [267] Jayagopal B, Muruges S. QbD-mediated RP-UPLC method development invoking an FMEA-based risk assessment to estimate nintedanib degradation products and their pathways. *Arab J Chem* 2020;13:7087–103. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.07.014>.
- [268] Saha C, Gupta NV, Chandan RS. Development and validation of a UPLC-MS method for determination of atazanavir sulfate by the “analytical quality by design” approach. *Acta Pharm* 2020;70:17–33. <https://doi.org/10.2478/acph-2020-0008>.
- [269] Ferey L, Raimbault A, Rivals I, Gaudin K. UHPLC method for multiproduct pharmaceutical analysis by Quality-by-Design. *J Pharm Biomed Anal* 2018;148:361–8. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.10.014>.
- [270] Burgess C, Curry PD, Ermer J, Gratzl GS, Hammond JP, Herrmann J, et al. *Lifecycle Management of Analytical Procedures: Method Development, Procedure Performance Qualification, and Procedure Performance Verification* n.d.:16.
- [271] Reid GL, Cheng G, Fortin DT, Harwood JW, Morgado JE, Wang J, et al. Reversed-phase liquid chromatographic method development in an analytical quality by design framework. *J Liq Chromatogr Relat Technol* 2013;36:2612–38. <https://doi.org/10.1080/10826076.2013.765457>.
- [272] Ahuja S, Rasmussen H. *HPLC method development for pharmaceuticals*. 1st ed. Amsterdam Boston: Elsevier, Academic Press; 2007.
- [273] Heidorn M. *The Role of Temperature and Column Thermostatting in Liquid Chromatography* 2016.
- [274] Schad GJ, Iwata N. High Performance Liquid Chromatography Analysis of Cinnamon from Different Origin. *Column* 2022;32:18–21.
- [275] Guillarme D, Veuthey J-L. *Guidelines for the Use of UHPLC Instruments* 2009.
- [276] Blanco Gomis D, Núñez NS, García EA, Abrodo PA, Álvarez DG. Modification of a Conventional High Performance Liquid Chromatograph for Use in High Speed Liquid Chromatography. *J Liq Chromatogr Relat Technol* 2006;29:1861–75. <https://doi.org/10.1080/10826070600757623>.

- [277] Fanali S, Haddad PR, Lloyd D, Poole CF, Schoenmakers PJ, editors. Liquid chromatography. Fundamentals and instrumentation / [edited by] Salvatore Fanali, Paul R. Haddad, Colin F. Poole, Peter Schoenmakers, David Lloyd. Amsterdam: Elsevier; 2013.
- [278] Foroutan SM, Zarghi A, Shafaati A, Khoddam A, Movahed H. Simultaneous determination of amoxicillin and clavulanic acid in human plasma by isocratic reversed-phase HPLC using UV detection. *J Pharm Biomed Anal* 2007;45:531–4. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.06.019>.
- [279] Rudakov OB, Rudakova LV, Selemenev VF. Acetonitrile as tops solvent for liquid chromatography and extraction. *J Anal Chromatogr Spectrosc* 2018;1. <https://doi.org/10.24294/jacs.v1i2.883>.
- [280] Sha'at M, Spac AF, Stoleriu I, Bujor A, Cretan MS, Hartan M, et al. Implementation of QbD Approach to the Analytical Method Development and Validation for the Estimation of Metformin Hydrochloride in Tablet Dosage Forms by HPLC. *Pharmaceutics* 2022;14:1187. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061187>.
- [281] Prajapati PB, Radadiya K, Shah SA. Quality Risk Management Based: Analytical Quality by Design Approach to Eco-Friendly and Versatile Chromatography Method for Simultaneous Estimation of Multiple Fixed-Dose-Combination Products of Anti-Diabetic Drugs. *J Pharm Innov* 2022;17:111–28. <https://doi.org/10.1007/s12247-020-09506-5>.
- [282] Chanduluru HK, Sugumaran A. Estimation of pitavastatin and ezetimibe using UPLC by a combined approach of analytical quality by design with green analytical technique. *Acta Chromatogr* 2022;34:361–72. <https://doi.org/10.1556/1326.2021.00949>.
- [283] Almeida J, Bezerra M, Markl D, Berghaus A, Borman P, Schlindwein W. Development and Validation of an in-line API Quantification Method Using AQbD Principles Based on UV-Vis Spectroscopy to Monitor and Optimise Continuous Hot Melt Extrusion Process. *Pharmaceutics* 2020;12:150. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12020150>.
- [284] Ns T, Sv A. Implementing Quality by Design (QbD) in Chromatography n.d.:5.
- [285] Lee K, Yoo W, Jeong JH. Analytical Method Development for 19 Alkyl Halides as Potential Genotoxic Impurities by Analytical Quality by Design. *Molecules* 2022;27:4437. <https://doi.org/10.3390/molecules27144437>.
- [286] Suman Panda S. Implementation of Quality by Design Approach for Developing Chromatographic Methods with Enhanced Performance: A Mini Review. *J Anal Pharm Res* 2016;2. <https://doi.org/10.15406/japlr.2016.02.00039>.
- [287] Hecht ES, McCord JP, Muddiman DC. Definitive Screening Design Optimization of Mass Spectrometry Parameters for Sensitive Comparison of Filter and Solid Phase Extraction Purified, INLIGHT Plasma N -Glycans. *Anal Chem* 2015;87:7305–12. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b01609>.
- [288] Hone CA, Boyd A, O'Kearney-McMullan A, Bourne RA, Muller FL. Definitive screening designs for multistep kinetic models in flow. *React Chem Eng* 2019;4:1565–70. <https://doi.org/10.1039/C9RE00180H>.
- [289] Wu L, Zhang S, Zhou L, Xiong H, Gong X, Zhang S, et al. Establishment and validation of the quantitative analysis of multi-components by single marker for the quality control of Qishen Yiqi dripping pills by high-performance liquid chromatography with charged aerosol detection. *Phytochem Anal* 2021;32:942–56. <https://doi.org/10.1002/pca.3037>.
- [290] Felix C, Ubando A, Madrazo C, Sutanto S, Tran-Nguyen PL, Go AW, et al. Investigation of direct biodiesel production from wet microalgae using definitive screening design. *Energy Procedia* 2019;158:1149–54. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2019.01.296>.
- [291] Lesaffre E, Baio G, Boulanger B. Bayesian Methods in Pharmaceutical Research. CRC Press Taylor&Francis Group. 2020.

- [292] Wani DV, Mokale SN. A Validated Stability-Indicating Liquid Chromatographic Method for the Determination of Lorcaserin and Related Impurities in DRUG Substance Supported by Quality by Design. *J Chromatogr Sci* 2020;58:661–71. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmaa034>.
- [293] Subramanian VB. Stability-indicating reversed-phase-HPLC method development and validation for sacubitril/valsartan complex in the presence of impurities and degradation products: Robustness by quality-by-design approach. *Biomed Chromatogr* 2022. <https://doi.org/10.1002/bmc.5240>.
- [294] Boulanger B, Chapuzet E, Cohen N, Compagnon PA, Dewé W, Feinberg M, et al. Validation des procédures analytiques quantitatives: Harmonisation des démarches Partie II - Statistiques 2006;16:31.
- [295] Boulanger B, Chapuzet E, Cohen N, Compagnon PA, Dewé W, Feinberg M, et al. Validation des procédures analytiques quantitatives: harmonisation des démarches Partie III. Exemples d'application 2006;16:36.
- [296] Dispas A, Avohou HT, Lebrun P, Hubert P, Hubert C. 'Quality by Design' approach for the analysis of impurities in pharmaceutical drug products and drug substances. *TrAC Trends Anal Chem* 2018;101:24–33. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.10.028>.
- [297] Feinberg M. Validation interne des méthodes d'analyse. *Tech L'Ingénieur Traité Anal Caractér* 2001:24.

Résumé

Introduction :

Les critiques sur la qualité des produits pharmaceutiques ont augmenté ces derniers temps à cause de l'écart entre la capacité du système de production pharmaceutique et la qualité fournie lié à la gestion des risques, ce qui a amené des organismes de réglementation tels que l'U.S. Food and Drug Administration à affirmer la nécessité d'approches systématiques pour le développement des médicaments.

Dans ce contexte, nous avons appliqué la démarche Quality by Design et Analytical Quality by Design dans le développement du processus de production et dans l'optimisation des méthodes analytiques de contrôle d'un produit fini : Amoclan[®] 8:1 aux dosages : 1g/125mg et 500mg/62,5mg.

Matériel et méthodes :

Après avoir défini le Quality Target Product Profile, les Critical Quality Attributes (CQAs) ont été soumis à une étude de risques commençant par une Preliminary Hazard Analysis (PHA), suivie d'un diagramme d'Ishikawa et enfin une Failure Mode Effects and Criticality Analysis (FMECA).

Concernant le développement analytique, nous avons défini l'Analytical Target Profile de la RP-HPLC et de la RP-UHPLC, suivi des CQAs qui ont été soumis à une étude de risques commençant par un PHA, suivie d'un diagramme d'Ishikawa et enfin une FMECA combinée à une Cause and effects matrix C-N-X.

Résultats :

Nous avons mis en place, à l'aide de plans de criblage définitifs, un Design Space garantissant la robustesse du processus et des Method Operable Design Regions garantissant la robustesse des méthodes. Enfin, un système de contrôle a été proposé en s'appuyant sur la Process Analytical Technology et des cartes de contrôles pour la résolution et le nombre de plateaux théoriques de l'amoxicilline et de l'acide clavulanique.

Conclusion :

Les approches QbD et AQbD offriront une grande flexibilité pour les industriels facilitant le travail de routine et diminueront les contraintes vis-à-vis des autorités réglementaires.

Mots clés : *QbD, AQbD, Amoclan[®] 8:1, RP-HPLC, RP-UHPLC.*

Abstract

Introduction:

Criticism of the quality of pharmaceutical products has increased in recent times due to the gap between the capacity of the pharmaceutical production system and the quality provided related to risk management, which has led regulatory agencies such as the U.S. Food and Drug Administration to assert the need for systematic approaches to drug development. In this context, we applied the Quality by Design and Analytical Quality by Design approach in the development of the production process and in the optimization of analytical methods of control of a finished product: Amoclan® 8:1 at the dosages: 1g/125mg and 500mg/62.5mg.

Material and Methods:

After defining the Quality Target Product Profile, the Critical Quality Attributes (CQAs) were subjected to a risk study starting with a Preliminary Hazard Analysis (PHA), followed by an Ishikawa diagram and finally a Failure Mode Effects and Criticality Analysis (FMECA).

Concerning the analytical development, we defined the Analytical Target Profile of RP-HPLC and RP-UHPLC, followed by the CQAs which were subjected to a risk study starting with a PHA, followed by an Ishikawa diagram and finally a FMECA combined with a Cause and effects matrix C-N-X.

Results:

Using Definitive Screening Designs, we implemented a Design Space ensuring the robustness of the process and Method Operable Design Regions ensuring the robustness of the methods. Finally, a control system was proposed based on Process Analytical Technology and control charts for the resolution and the number of theoretical plates of amoxicillin and clavulanic acid.

Conclusion:

The QbD and AQbD approaches will offer a great flexibility for the industrialists facilitating the routine work and will decrease the constraints towards the regulatory authorities.

Keywords: *QbD, AQbD, Amoclan® 8:1, RP-HPLC, RP-UHPLC.*