

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

BIDDI Amin

**Mise au point de la préparation hospitalière de gélules d'aspirine
faiblement dosées dans le cadre d'un protocole de désensibilisation**

Membres du jury :

Président :

M. le Professeur Pascal ODOU, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier,
Faculté de Pharmacie de Lille- Pharmacie centrale, Centre Hospitalier Universitaire de
Lille.

Directeur, conseiller de thèse :

Mme le Docteur Cécile DANEL, Maître de Conférence des Universités – Praticien
Hospitalier,
Faculté de Pharmacie de Lille- Pharmacie centrale, Centre Hospitalier Universitaire de
Lille.

Assesseurs :

M. le Docteur Christophe BERNERON – Praticien Hospitalier,
Centre Hospitalier Universitaire de Lille.

Mme le Docteur Flore DURIEUX – Pharmacienne Assistante,
Centre Hospitalier Universitaire de Lille.

Faculté de Pharmacie de Lille
3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

Université de Lille

Président	Régis BORDET
Premier Vice-président	Etienne PEYRAT
Vice-présidente Formation	Christel BEAUCOURT
Vice-président Recherche	Olivier COLOT
Vice-présidente Réseaux internationaux et européens	Kathleen O'CONNOR
Vice-président Ressources humaines	Jérôme FONCEL
Directrice Générale des Services	Marie-Dominique SAVINA

UFR3S

Doyen	Dominique LACROIX
Premier Vice-Doyen	Guillaume PENEL
Vice-Doyen Recherche	Éric BOULANGER
Vice-Doyen Finances et Patrimoine	Damien CUNY
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires	Sébastien D'HARANCY
Vice-Doyen RH, SI et Qualité	Hervé HUBERT
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie	Caroline LANIER
Vice-Doyen Territoires-Partenariats	Thomas MORGENROTH
Vice-Doyenne Vie de Campus	Claire PINÇON
Vice-Doyen International et Communication	Vincent SOBANSKI
Vice-Doyen étudiant	Dorian QUINZAIN

Faculté de Pharmacie

Doyen	Delphine ALLORGE
Premier Assesseur et Assesseur en charge des études	Benjamin BERTIN
Assesseur aux Ressources et Personnels	Stéphanie DELBAERE
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement	Anne GARAT
Assesseur à la Vie de la Faculté	Emmanuelle LIPKA
Responsable des Services	Cyrille PORTA
Représentant étudiant	Honoré GUISE

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85

Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie - Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87

Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85

Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80

Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
-----	-------	---------	---	----

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique - RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bioinorganique	85

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille

03 20 96 40 40

<https://pharmacie.univ-lille.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux
opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont
propres à leurs auteurs.**

Remerciements

A Monsieur le Professeur P.Odou,

Pour me faire l'honneur de présider la soutenance de ma thèse, je vous exprime toute ma reconnaissance.

A Madame le Docteur C.Danel,

Je souhaite vous remercier du fond du cœur pour votre guidance, vos précieux conseils, et votre dévouement constant. Votre patience et votre expertise m'ont permis de mener à bien ce travail.

A Monsieur le Docteur C.Berneron,

Je tiens à vous exprimer toute ma gratitude pour l'ensemble des connaissances acquises à vos côtés au fil de mon cursus, et d'avoir accepté d'évaluer mon travail.

A Madame le Docteur F.Durieux,

D'avoir acceptée de faire partie de mon jury, soyez assurée de ma reconnaissance.

A toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à ce travail,

Marine, Loïc et la Blandine,

A vous qui avez toujours su m'assister ...

A l'ensemble des préparateurs : Charlotte, Elisa, Amélie, Léa, Guillaume,

A vous qui avez fait preuve d'une patience ...

A Léa,

Je peux aujourd'hui annoncer que j'ai enfin trouver le chemin, « celui de la nut' ».

A Adrien, dit « dridri »,

Merci à toi d'être aussi photogénique, mes meilleurs photomontages ont été fait avec toi.

A Myriam,

Nos divergences nous ont rapprochés. Merci pour ces moments de réflexions sur des sujets aussi futiles soit-il, afin de savoir qui a raison !

A Marine,

Ma coach, qui m'a permis d'entretenir ma santé physique et de devenir champion au « porter de bouteille ».

A Marion, première du nom, dite « ronron »,

Un grand merci à toi pour tout, depuis le premier jour où nous avons été co-interne.

A Loïc

Le seul et unique technicien de classe sup digne de ce nom. Bouilleur un jour, bouilleur toujours.

A la Blandinette,

Je dis merci. Merci pour la vie, pour tes triches au shifumi.

**A ma famille,
A mes parents,
A mes frères.**

Ô vous qui avez fait preuve d'encouragement et de patience à mon égard.

Nul ne sait l'importance que vous revêtez.

Malgré la distance que le destin nous a imposé.

Sachez que là où j'en suis rendu, sans vous, je n'en aurai pas fait le quart.

Je vous aime.
A vous,
Les meilleurs d'entre nous.

Table des matières

Table des matières

Abréviations	18
Liste des figures :	20
Liste des tableaux :	22
Liste des annexes :	23
Introduction.....	24
I – Hypersensibilité et désensibilisation à l’aspirine	28
1 L’aspirine	28
1.1 Historique	28
1.2 Monographie	29
1.3 Indications et posologies	30
1.4 Pharmacocinétique.....	30
1.5 Effets indésirables et contre-indications	31
2 Mécanisme d’action, hypersensibilité et désensibilisation	32
II - Matériels et méthodes	34
1. Matières premières à usage pharmaceutique (MPUP)	34
2. Liste des réactifs	34
3. Evaluation de la teneur en eau des excipients.....	35
1. Perte à la dessiccation	35
2. Méthode de Karl Fischer	36
4. Analyse par CLHP-UV et étude de dégradation forcée.....	37
1. Méthode de dosage par CLHP	37
2. Etude de dégradation forcée	38
5. Production des gélules d’aspirine	41

1.	Préparation et évaluation de la teneur des poudres	41
2.	Fabrication des gélules	42
3.	Contrôle des gélules	43
6	- Etude de stabilité des gélules	45
1.	Choix des formulations et fabrication des lots pour l'étude de stabilité	45
2.	Conditions et durée de conservation	45
3.	Dosages et évaluation de la stabilité	45
III	- Résultats	46
1.	Performances de la méthode de dosage	46
2.	Etude de dégradation forcée.....	48
1.	Milieu acide	48
2.	Milieu basique	49
3.	Milieu oxydant	51
4.	Exposition à la chaleur	51
5.	Exposition aux UV	53
3.	Etude de stabilité des gélules d'aspirine	55
1.	Préparation des gélules : évaluation de l'uniformité de masse et de teneur 55	
2.	Etude préliminaire de la stabilité des gélules	60
3.	Etude de stabilité des gélules.....	63
	Discussion et Conclusion.....	78
	Références bibliographiques	82
	Annexes.....	90

Abréviations

AAS	Acide acétyl salicylique
ACN	Acétonitrile
AINS	Anti-inflammatoire(s) non stéroïdien(s)
AS	Acide salicylique
CLHP	Chromatographie Liquide Haute Performance
Eau PPI	Eau pour préparations injectables
HCl	Acide chlorhydrique
HS	Hypersensibilité
m/m	Masse / masse
MPUP	Matières premières à usage pharmaceutique
NaOH	Hydroxyde de Sodium
U.M	Uniformité de masse
U.T	Uniformité de teneur
PA	Principe actif
PM	Phase mobile
SCR	Substance chimique de référence
p.e	Prise d'essai
QSP	Quantité suffisante pour
Tp P.	Tampon phosphate
v/v	Volume / volume

Liste des figures :

Figure 1 : Acide acétylsalicylique (AAS)	29
Figure 2 : Acide salicylique (AS)	29
Figure 3 : Chromatogramme d'un échantillon contenant de l'AAS et de l'AS	47
Figure 4 : Chromatogramme d'une solution d'AAS en présence d'HCl 0,5N pendant 1 heure.....	48
Figure 5 : Chromatogramme d'une solution d'AAS en présence de NaOH 1N pendant heure.....	49
Figure 6 : Dégradation de l'AAS en présence de NaOH (0,01N) pour une durée d'exposition totale de 60 minutes.....	50
Figure 7 : Chromatogramme d'une solution d'AAS en présence de NaOH 0,01N après une exposition de 5 minutes	50
Figure 8 : Chromatogramme des essais de dégradation forcée de l'AAS en présence d'H2O2 3% pendant 1 heure	51
Figure 9 : Chromatogramme des essais de dégradation forcée de l'AAS à 60°C pendant 6 heures.....	52
Figure 10 : Chromatogramme des essais de dégradation forcée de l'AAS à 80°C pendant 6 heures.....	52
Figure 11 : Chromatogramme des essais de dégradation forcée de l'AAS à 365 nm pendant 6 heures.....	53
Figure 12 : Chromatogramme des essais de dégradation forcée de l'AAS à 254 nm pendant 72 heures.....	53
Figure 13 : Teneur moyenne des lots de gélules d'AAS 1 mg à partir de mannitol, de J1 à J35.....	65
Figure 14 : Répartition de la teneur des gélules d'AAS 1 mg à partir de mannitol entre J1 et J35.	66
Figure 15 : Teneur moyenne des 4 lots de gélules d'AAS 1 mg à partir d'amidon de maïs, de J1 à J35.	68
Figure 16 : Répartition de la teneur des gélules d'AAS 1 mg à partir d'amidon de maïs, entre J1 et J35.	69
Figure 17 : Teneur moyenne des 4 lots de gélules d'AAS 0,1 mg à partir de lactose, de J1 à J21, fabriqués selon un remplissage en volume.	71

Figure 18 : Evolution de la teneur des gélules d'AAS 0,1 mg à partir de lactose, par lot de J1 à J21, fabriqués selon un remplissage en volume. 72

Figure 19 : Teneur moyenne des 4 lots de gélules d'AAS à 0,1 mg à partir de lactose, de J1 à J13, fabriqués selon un remplissage en masse. 74

Figure 20 : Répartition de la teneur des gélules d'AAS à 0,1 mg à partir de lactose, par lot de J1 à J21, fabriqués selon un remplissage en volume..... 74

Figure 21 : Répartition des teneurs des 4 lots de gélules d'AAS 0,1 mg à partir d'amidon de maïs, selon un remplissage en masse..... 76

Liste des tableaux :

<i>Tableau 1 : Protocoles de désensibilisation à l'aspirine</i>	<i>25</i>
<i>Tableau 2 : Essais de perte à la dessiccation selon les monographies de la Ph.Eur</i>	<i>35</i>
<i>Tableau 3 : Préparation des échantillons de Contrôle Qualité</i>	<i>38</i>
<i>Tableau 4 : Conditions physicochimiques employées lors des tests de dégradation....</i>	<i>39</i>
<i>Tableau 5 : Fabrication d'un lot de 100 gélules d'AAS, taille 4 (quel que soit l'excipient)</i>	<i>42</i>
<i>Tableau 6 : Caractéristiques de la méthode de dosage lors de sa validation</i>	<i>46</i>
<i>Tableau 7 : Résultat d'analyse des échantillons de CQ.....</i>	<i>47</i>
<i>Tableau 8 : Teneur (%) des gélules dosées à 1 mg d'AAS.....</i>	<i>56</i>
<i>Tableau 9 : Teneur (%) des gélules dosées à 0,1 mg d'AAS.....</i>	<i>57</i>
<i>Tableau 10 : Teneur des poudres mères d'AAS 10% pour chaque excipient</i>	<i>58</i>
<i>Tableau 11 : Evolution des teneurs d'AAS après 1 mois de conservation pour les différents lots de gélules fabriqués.</i>	<i>60</i>
<i>Tableau 12 : Perte à la dessiccation de l'amidon de maïs, cellulose microcristalline et mannitol.</i>	<i>61</i>
<i>Tableau 13 : Teneurs en eau (% m/m) des excipients par le procédé de Karl Fischer. 62</i>	
<i>Tableau 14 : Etude de stabilité : nombre de gélules hors intervalles par lot en fonction du temps.</i>	<i>64</i>
<i>Tableau 15 : Evolution de la teneur des lots d'AAS 1 mg à base de mannitol, par rapport au J1.....</i>	<i>67</i>
<i>Tableau 16 : Evolution des teneurs des lots d'AAS 1 mg à base d'amidon de maïs, par rapport au J1.....</i>	<i>69</i>
<i>Tableau 17 : Evolution des teneurs des lots d'AAS 0,1 mg à base de lactose par rapport au J1.....</i>	<i>75</i>

Liste des annexes :

<i>Annexe 1 : Spécialités contenant de l'acide acétylsalicylique, Base de données publique du médicament, le 12/07/2023.....</i>	<i>90</i>
<i>Annexe 2 : Etude de dégradation forcée en milieu acide.....</i>	<i>91</i>
<i>Annexe 3 : Préparation des échantillons en milieu basique : 0.1N, 0.5N, 1N.....</i>	<i>91</i>
<i>Annexe 4 : Préparation des échantillons, en milieu basique : 0.1N et 1N, 8 prélèvements en 1 heure.....</i>	<i>92</i>
<i>Annexe 5 : Préparation des échantillons, en milieu oxydant (H₂O₂ 3%).....</i>	<i>92</i>
<i>Annexe 6 : Préparation des échantillons pour les essais d'exposition à la chaleur ou UV.....</i>	<i>93</i>
<i>Annexe 7 : Courbe d'étalonnage obtenue lors de la validation de méthode.....</i>	<i>93</i>
<i>Annexe 8 : Profil d'exactitude de la méthode CLHP pour le dosage de l'aspirine.....</i>	<i>94</i>
<i>Annexe 9 : Dégradation en milieu acide (0,5N et 1N) pendant 1 heure.....</i>	<i>94</i>
<i>Annexe 10 : Dégradation en milieu basique (1N, 0,5N, 0,1N) pendant 1 heure.....</i>	<i>95</i>
<i>Annexe 11 : Dégradation en milieu oxydant (H₂O₂ 3%) pendant 3 heures.....</i>	<i>95</i>
<i>Annexe 12 : Uniformité de masse (g) des lots de faisabilité à 1 mg d'AAS.....</i>	<i>96</i>
<i>Annexe 13 : Uniformité de masse (g) des lots de faisabilité à 0,1 mg d'AAS.....</i>	<i>97</i>
<i>Annexe 14 : Répartition des teneurs de 3 lots d'AAS à partir d'amidon de maïs à 1 mg entre J1 et J33 (échantillons = 10 gélules).....</i>	<i>98</i>
<i>Annexe 15 : Répartition des teneurs de 3 lots d'AAS à partir de cellulose microcristalline à 1 mg entre J1 et J33 (échantillons = 10 gélules).....</i>	<i>98</i>
<i>Annexe 16 : Répartition des teneurs de 3 lots d'AAS à partir de mannitol à 1 mg entre J1 et J33 (échantillons = 10 gélules).....</i>	<i>99</i>
<i>Annexe 17 : Répartition des teneurs de 3 lots d'AAS à partir de lactose à 0,1 mg entre J1 et J33 (échantillons = 10 gélules).....</i>	<i>99</i>
<i>Annexe 18 : Uniformités de masse (g) des lots de « l'étude préliminaire ».....</i>	<i>100</i>
<i>Annexe 19 : Uniformités de masse (g) des lots de « l'étude de stabilité J0 à J35»</i>	<i>101</i>
<i>Annexe 20 : Uniformités de teneur des lots de « l'étude de stabilité J0 à J35» au J1.</i>	<i>102</i>

Introduction

L'infarctus du myocarde, communément appelé crise cardiaque est une affection cardiaque grave, engageant le pronostic vital, survenant lors de l'obstruction d'une artère coronaire alimentant le cœur en sang et donc en oxygène (1,2). En 2014, Santé publique France dénombre de l'ordre de 100 000 cas par an en France, hospitalisés pour un syndrome coronarien aigu dont plus de 60.000 pour un infarctus du myocarde (2).

L'aspirine, ou acide acétylsalicylique (AAS), joue un rôle crucial dans la prévention secondaire et dans la prise en charge de l'infarctus du myocarde en raison de ses propriétés antiplaquettaires (3). Elle agit en réduisant entre autres la formation de caillots sanguins en inhibant l'activité plaquettaire par blocage de la synthèse du Thromboxane A2 (4). Cette action préventive de l'aspirine compte tenu de son rapport bénéfice risque lui confère un service médical rendu important (5).

Selon les données de l'étude permanente sur la prescription médicale d'IMS Health (IMS-EPPM), la spécialité Kardegic® a fait l'objet de près de 12 millions de prescriptions, dont plus de 9 millions pour le dosage à 75 mg utilisé comme anti agrégant plaquettaire (cumul mobile annuel du printemps 2016) (5).

Cependant, malgré l'intérêt thérapeutique élevé de l'aspirine dans cette prise en charge, certains patients peuvent présenter une intolérance ou une hypersensibilité à ce médicament. Certaines études (6,7) montrent que les effets indésirables liés aux médicaments seraient responsables d'environ 6% des hospitalisations. Parmi les classes de médicaments causant des effets indésirables, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) représentent 29,6% des cas, avec l'aspirine en tête (61% des effets indésirables suite à la prise d'un AINS). Ces réactions indésirables liées à l'aspirine peuvent aller d'une simple éruption cutanée (urticaire), dyspnée, ou rhinorrhée, à des complications graves (angioœdème), voire potentiellement mortelles(7,8). La prévalence de cette hypersensibilité avoisine 0,6 à 2,5% de la population générale, et entre 4,3 et 11% des adultes asthmatique (7).

Cette hypersensibilité aux AINS dont fait partie l'aspirine a été décrite pour la première fois par Widal en 1922 (9), puis documentée dans un syndrome plus global par Samter et Bers en 1967 (10,11) associant dans un tableau clinique appelé Triade de Samter : un asthme, une polypose nasale et une intolérance à l'aspirine (12).

La publication de Stevenson en 1984 (13), rapporte le premier cas de patients présentant un asthme aggravé par l'ASA désensibilisés. ceci ouvrant la voie à la réintroduction de l'aspirine chez des patients précédemment contre indiqués.

Cette désensibilisation consiste à diminuer la sensibilité allergique d'un sujet, grâce à une induction de tolérance. Elle vise à réintroduire un médicament en administrant des doses faibles progressivement croissantes, jusqu'à la dose complète thérapeutique (14–16).

A la suite des travaux de Stevenson (13), des protocoles de désensibilisation à l'aspirine ont été proposés par différents auteurs avec une posologie initiale différente selon les auteurs, comme indiqué dans le tableau 1 :

Tableau 1 : Protocoles de désensibilisation à l'aspirine

Références	Protocoles
<i>Szmidt et al, 1987 (8)</i>	Dose initiale variable selon patient (5, 20, 40, 60 mg) puis augmentation progressive, 20 mg par 24h, jusqu'à 300 mg
<i>Wong et al 2000, (17)</i>	Suspension buvable : Augmentation de posologie toutes les 10 à 30 minutes selon les patients (0.1, 0.3, 1, 3, 10, 20, 40, 81, 162, 325 mg)
<i>Silberman et al, 2005 (18)</i>	Gélules : dose initiale de 5 mg, puis augmentation, toutes les 30 minutes (10, 20, 40, 75 mg)
<i>Christou et al, 2011 (19)</i>	Suspension buvable : Augmentation de la posologie toute les 15 à 25 minutes (0.1, 0.3, 10, 30, 40, 81, 162, 325 mg)
<i>Cortellini et al, 2017 (20)</i>	Suspension buvable : Augmentation de la posologie toute les 20 minutes (0.1, 1, 2, 3, 4, 5, 10mg) puis 40 min (15, 20, 25, 35 mg)
<i>Rossini et al, 2017 (21)</i>	Suspension buvable : Administration toutes les 30 minutes (1, 5, 10, 20 mg), puis 120 minutes (40, 100 mg)
<i>Jackson et al, 2019 (22)</i>	Suspension buvable : dose initiale de 5 mg, augmentation de la dose toutes les 30 minutes (10, 20 ,40, 75 mg)

Ces protocoles sont toujours réalisés en milieu hospitalier dans un service formé aux pratiques de réanimation médicale, commençant à la dose la plus faible possible afin de prévenir l'apparition d'effets indésirables (14). Les recommandations actuelles sont d'initier le protocole à une posologie de 0,1 mg suivie d'une autre à 1 mg (20).

Parmi les spécialités pharmaceutiques contenant de l'aspirine disposant d'une AMM (cf *Annexe 1*), aucune ne propose un dosage inférieur à 75 mg. La pratique actuelle au CHU de Lille consiste à préparer dans les services, par le personnel soignant, des suspensions buvables extemporanées à 10 mg.mL⁻¹ à partir d'une forme commerciale en sachet puis à administrer une dose cible de 0,1 et 1 mg à l'aide d'une seringue graduée de 1 mL. Cependant, les imprécisions et variabilités d'une telle pratique (pour des volumes de 10 et 100 µL) mènent à des écarts entre dose administrée et dose prescrite évalués précédemment à 87% en moyenne (23), rendant ce protocole incompatible avec la sécurisation de la prise en charge médicamenteuse.

L'article 8 de l'Arrêté du 6 avril 2011, mis à jour le 15 octobre 2022, relatif au management de la qualité de la prise en charge médicamenteuse et aux médicaments dans les établissements de santé (24), dispose que l'étude des risques encourus par les patients lors de la prise en charge médicamenteuse doit notamment : « *garantir que le médicament à administrer, la dose à administrer, la forme pharmaceutique à administrer, la voie d'administration, le schéma posologique, la préparation et le suivi thérapeutique sont conformes à ceux de la prescription médicale* ».

Ainsi, l'absence de spécialité pharmaceutique adaptée à une réintroduction initiale de 0,1 mg et 1 mg d'aspirine tout comme les limites du protocole utilisé actuellement, nous conduisent à évaluer la faisabilité d'une préparation hospitalière de gélules dosées à 0,1 mg et 1 mg.

Ce travail a pour but de déterminer la faisabilité de deux préparations hospitalières de gélules d'acide acétylsalicylique à 0,1 et 1 mg, afin d'améliorer et de sécuriser le circuit pharmaceutique autour de cette préparation.

L'évaluation de plusieurs excipients (amidon de maïs, cellulose, lactose, mannitol) sera réalisée en termes de facilité de mélange, d'uniformité de masse, de teneur et d'uniformité de teneur ainsi que de stabilité. Les formulations retenues devront être conformes aux différentes exigences en termes de stabilité (25,26).

Il est décrit que l'AAS est particulièrement sensible à l'hydrolyse, en milieu acide et basique, et se dégrade principalement en acide salicylique (AS) (27). Ceci nous conduit à évaluer la teneur en eau des différents excipients et à évaluer l'impact éventuel de celle-ci sur la stabilité des gélules. Deux méthodes seront mises en œuvre : la perte à la dessiccation et la méthode de Karl Fischer.

La méthode analytique utilisée afin d'évaluer la teneur des gélules en AAS devra avoir prouvé sa sélectivité vis-à-vis des excipients et produits de dégradation (28). Pour cela une étude de dégradation forcée sera réalisée par chromatographie liquide haute performance (CLHP).

L'étude de la stabilité des lots produits (répondant aux exigences d'uniformité de masse et de teneur) permettra d'évaluer la péremption des préparations.

I – Hypersensibilité et désensibilisation à l'aspirine

1 L'aspirine

1.1 Historique

Avant le 18^{ème} siècle, des écrits évoquaient l'utilisation de la salicyline pour traiter divers rhumatismes à partir d'une poudre extraite de l'écorce de saule blanc (*Salix alba*).

Au 19^{ème} siècle, le chimiste français Gerhardt synthétisa pour la première fois en 1853 un sel impur et instable qui sera plus tard identifié comme étant de l'acide acétylsalicylique.

Les laboratoires Bayer® fondés en 1863, ont commencé à s'intéresser à cette nouvelle famille chimique au début des années 1900. Le premier procédé de production d'AAS stable fut mis au point par Hoffmann en 1897 suite à la reprise des travaux de Gerhardt et à une amélioration du processus d'hémisynthèse par une acétylation du groupement phénol composant l'acide salicylique. Cette acétylation se fait via l'anhydride acétique en présence d'acide salicylique, en chauffant pendant 3 heures (29,30).

Initialement administrée pour ses propriétés antipyrétiques, anti inflammatoires et antalgiques, l'AAS a par la suite été employée comme antithrombotique suite à la compréhension du mécanisme d'action ayant valu à sir John Vane le prix Nobel de médecine de 1982 (31).

De nos jours, l'aspirine est considérée parmi les médicaments les plus consommés au monde, avec une production annuelle d'environ 44 000 tonnes (32).

1.2 Monographie

L'aspirine, ou acide acétylsalicylique dispose d'une monographie à la Pharmacopée Européenne (27).

Caractères :

Aspect : poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche, cristaux incolores

Solubilité : peu soluble dans l'eau, facilement soluble dans l'éthanol à 96 pour cent.

Nom chimique : Acide 2-(acétyloxy)benzoïque

Formule chimique : C₉H₈O₄

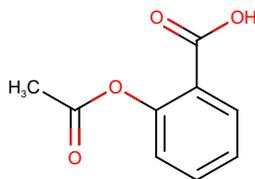


Figure 1 : Acide acétylsalicylique (AAS)

La principale impureté est l'acide 2-hydroxybenzène-carboxylique, autrement appelé acide salicylique (AS). La formation de ce composé se fait par une hydrolyse de la fonction ester de l'AAS.

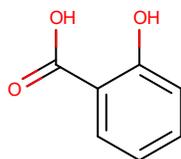


Figure 2 : Acide salicylique (AS)

1.3 Indications et posologies

L'AAS dispose de nombreuses indications directement en rapport avec les posologies administrées. Dans une indication antipyrétique ou antalgique les posologies peuvent aller jusque 3 grammes par jour (33). Tandis que pour bénéficier de l'action anti thrombotique (par un effet anti agrégant plaquettaire) les posologies employées sont de l'ordre de 75 à 160 mg par jour (3,34).

En tant qu'analgésique non opioïde de catégorie 1 selon l'échelle de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) (35), l'aspirine est utilisée dans le traitement de diverses pathologies tel que des douleurs d'intensité légère à modérée, les rhumatismes inflammatoires aigus et chroniques de l'adulte et de l'enfant (33).

En cardiologie cette molécule est indiquée dans la prévention primaire et secondaire des complications cardiovasculaires et cérébrovasculaires liées à l'athérosclérose (chez des patients à haut risque vasculaire ayant une pathologie artérielle ischémique confirmée), ainsi que la prévention des accidents vasculaires cérébraux chez des patients ayant une fibrillation auriculaire contre indiqués ou non indiqués aux antivitamine K (36).

1.4 Pharmacocinétique

L'absorption de l'aspirine se fait sous forme d'AAS au niveau gastro intestinal. L'hydrolyse plasmatique conduit à la formation d'AS, avec un taux sanguin atteignant son pic entre 30 et 40 minutes.

La distribution se fait dans tout l'organisme par liaison aux protéines plasmatiques. L'AAS est rapidement métabolisé en AS (moins actif), puis une inactivation hépatique par conjugaison et hydroxylation. L'inactivation se fait par transformation en différents métabolites : acide salicylurique, acide gentisique et en dérivés glucuronoconjugués (37). L'élimination sous forme d'AS et des métabolites, se fait par voie rénale avec une clairance augmentant avec le pH, tandis que la demie vie d'élimination est dose dépendante (36).

1.5 Effets indésirables et contre-indications

Concernant les effets indésirables, la prise d'aspirine peut conduire à des effets gastro-intestinaux (ulcères gastriques et hémorragies digestives), hématologiques (avec des syndromes hémorragiques type épistaxis, purpura ...) et des réactions d'hypersensibilité (urticaire, asthme, œdème de Quincke, accident anaphylactique).

Ces éléments entraînent des précautions d'emplois chez les patients présentant des antécédents d'ulcères gastrique ou duodénal ainsi que des hémorragies digestives ou en cas d'insuffisance rénale.

Parmi les nombreuses contre-indications figurant sur les résumés des caractéristiques des produits (RCP), celles en rapport avec des manifestations affectant le système immunitaire sont les suivantes :

- hypersensibilité à la substance active ou à l'un des excipients, ou aux autres AINS (réaction croisée),
- asthme ou antécédents d'asthme avec ou sans polypes nasaux induits par les salicylés ou les substances d'activité proche notamment les AINS (36).

Les autres contre-indications comprennent les ulcères gastro-duodénaux en évolution, toute maladie hémorragique constitutionnelle ou acquise, les insuffisances d'organes sévères (hépatique, rénale, cardiaque) et l'association à certains traitements en fonction des posologies (méthotrexate, anticoagulants oraux ...) (38).

En ce qui concerne l'hypersensibilité à la substance active ou des antécédents d'asthme induits par l'administration de salicylés (notamment les AINS), le RCP des différentes spécialités à partir d'aspirine contre indiquent l'utilisation de celle-ci (33,36,38).

2 Mécanisme d'action, hypersensibilité et désensibilisation

Comme tout AINS, l'AAS a un mécanisme d'action qui passe par une inhibition des COX (Cyclooxygenase) par acétylation du site actif sur des résidus sérine (39). L'aspirine agit de façon irréversible et non sélective sur les isoformes de la COX : 1 et 2. Néanmoins cette inhibition se fait préférentiellement sur l'isoforme 1 grâce à une affinité à 20 à 50 fois supérieure à celle de l'isoforme 2 (40).

Tandis que la COX 1 est constitutive participant ainsi à l'équilibre homéostatique (plaquettes, endothélium, muqueuse gastrique, reins), la COX 2 est inductible (par des cytokines ou facteurs de croissance) conduisant à la production de nombreux médiateurs (41).

Le rôle physiologique de ces COX est de métaboliser l'acide arachidonique membranaire, en PGH₂ (prostaglandine) permettant par la suite de former d'autres métabolites (prostaglandines, prostacyclines, et thromboxane) (42). Cet effet inhibiteur sur la production de prostaglandines à partir de l'acide arachidonique a été démontré dans les années 1970 par Vane et al (43).

Les COX aussi appelées PGHS (prostaglandine endoperoxyde synthétase) possèdent deux sites actifs, un premier possédant une activité cyclo oxygénase transformant l'acide arachidonique en PGG₂ (prostaglandine G₂). Le second site disposant de l'activité peroxydase qui permet de transformer ce PGG₂ en PGH₂ (prostaglandine H₂). A partir de cette molécule en découle la production d'autres médiateurs à savoir les prostacyclines (PGI₂) par la paroi vasculaire endothéliale, le thromboxane A₂ (TXA₂) par les plaquettes et les prostaglandines (E₂, D₂, F₂, I₂) par l'estomac et le rein (42).

Le mécanisme d'action de l'aspirine passe par une inhibition de cette cyclooxygénase de type 1 réduisant d'autant la production de l'ensemble de ces médiateurs conduisant aux effets recherchés : antithrombotique par réduction de la production de Thromboxane A₂ plaquettaire et de prostacycline endothéliale qui ont un effet prothrombotique. La diminution de production de prostaglandines par les muqueuses gastriques réduit la synthèse de mucus expliquant ses effets indésirables gastriques (40).

La baisse de production des prostaglandines rénales (PGE2 et PGI2) peut conduire à un ensemble de perturbations rénales pouvant aller jusqu'à l'insuffisance rénale aiguë par diminution de la vasodilatation des artères afférentes, une baisse du flux sanguin rénal et une diminution du débit de filtration glomérulaire (44).

Parallèlement à cette voie de métabolisation de l'acide arachidonique par les COX, il existe une seconde voie faisant intervenir la 5LOX (5 Lipo Oxygenase). Cette voie permet la synthèse de leucotriène A4 (LTA4) rapidement métabolisé en leucotriène B4 (LTB4), et d'autres cysteinyl leucotriènes (CysLT).

Physiologiquement il existe un équilibre entre ces deux voies (COX vs 5LOX). La prise d'aspirine inhibant les COX conduit à une hausse du métabolisme au travers de la 5LOX ce qui conduit à favoriser la production de leucotriènes. Ces molécules ont un effet chimiotactique augmentation l'inflammation par les éosinophiles qui produisent des CysLT, et entraînent une bronchoconstriction par activation des récepteurs bronchiques aux leucotriènes chez les patients atteints d'hypersensibilité à l'aspirine (12).

Le mécanisme global de l'hypersensibilité à l'aspirine ferait intervenir un excès de production de cysteinyl leucotriènes (CysLT) (45).

Il semble également y avoir une action de la LTC4 synthase, enzyme produisant les sulfido peptido leucotriènes (LTC4, LTD4, LTE4) qui présente une surexpression au niveau de certaines biopsies bronchiques (mastocytes et éosinophiles) chez des patients asthmatiques présentant une intolérance à l'aspirine (46).

Afin de désensibiliser les patients de nombreux protocoles existent comme mentionnés sur le tableau 1. Une méta analyse de 1990 à 2018 publiée en 2019 par *Chopra et al* montre l'absence de différence statistique entre des protocoles d'une durée inférieure à 2 heures et ceux supérieurs à une durée de 2 heures. Néanmoins les protocoles comportant plus de 6 escalades de doses étaient associés à des taux de réussite plus élevés que ceux comportant moins de 6 doses.

II - Matériels et méthodes

1. Matières premières à usage pharmaceutique (MPUP)

L'acide acétylsalicylique, l'acide salicylique et le lactose monohydrate ont été obtenus auprès d'Inresa® (Bartenheim, France)

- Aspirine : lot 22000047006, péremption le 31/03/2024,
- Acide salicylique : lot 20003823001, péremption le 30/11/2024,
- Lactose monohydrate : lot 8118, péremption le 31/10/2023,
- Lactose monohydrate : lot 8546, péremption le 31/08/2025.

L'amidon de maïs, la cellulose microcristalline ainsi que le mannitol ont été obtenus auprès de la Cooper® (Melun, France)

- Amidon de maïs : lot 21100030/A/B, péremption le 30/09/2025,
- Cellulose microcristalline : lot 22030127/A, péremption le 28/02/2026
- Cellulose microcristalline : lot 21020125/B, péremption le 30/09/2024
- Mannitol : lot 21030170/B, péremption le 30/11/2023

Plusieurs lots de gélules de taille N°4 ont été fournies par LGA (La Seyne-sur-Mer, France).

2. Liste des réactifs

L'ensemble des réactifs utilisés sont de qualité analytique et compatibles à une utilisation en CLHP (Chromatographie Liquide Haute Performance).

L'acide acétylsalicylique de qualité SCR (Substance Chimique de Référence) utilisé pour préparer les solutions standards est fourni par la direction européenne de la qualité du médicament et des soins de santé de la Pharmacopée Européenne.

Les produits suivants ont été obtenus auprès de VWR Chemicals® (Fontenay-sous-Bois, France) :

- Le dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) : lot 21G094104, péremption le 14/06/2026,
- Acétonitrile (ACN) : lot 22G224007, péremption le 21/07/2025,
- Normadose HCl 1N : lot 211028C004, péremption au 10/2024,
- Normadose NaOH 1N : lot 220602C003, péremption au 06/2025.

3. Evaluation de la teneur en eau des excipients

1. Perte à la dessiccation

Tous les essais sont réalisés à l'aide d'un four thermostaté. Les essais de perte à la dessiccation suivent les monographies de chacun des excipients testés (47–49).

Tableau 2 : Essais de perte à la dessiccation selon les monographies de la Ph.Eur

Excipient	Amidon de maïs	Cellulose microcristalline	Mannitol
Maximum accepté	15,0%	7,0%	0,5%
Température	130°C	105°C	105°C
Durée	90 min	3h	4h
Prise d'essai	1,000g	1,000g	1,000g

Aucun essai n'est préconisé sur la monographie du lactose monohydrate (50).

La pesée est réalisée dans un cristalliseur préalablement taré à l'aide d'une balance de précision. Après la durée préconisée, le cristalliseur est immédiatement pesé afin de pouvoir calculer la perte à la dessiccation.

La perte à la dessiccation étant la différence de masse de l'échantillon avant et après dessiccation en pourcentage (51), se calcule comme suit :

$$\text{perte à la dessiccation (\%)} = -\frac{m1 - m2}{m1}$$

- m1 : masse avant dessiccation

- m2 : masse après dessiccation

2. Méthode de Karl Fischer

La teneur en eau des différents excipients a également été évaluée par la méthode de Karl Fischer à l'aide d'un dispositif Metrohm® 701 KF Titrino + 703 Ti Stand après solubilisation d'un volume variable de poudre dans 75 mL d'un mélange 50 : 50 (méthanol : chloroforme).

La réaction de Karl Fischer fait intervenir une réaction d'oxydo-réduction : réduction du diiode en présence d'eau (contenue dans les échantillons à doser) par le monométhylsulfite d'ammonium formé extemporanément par réaction entre le réactif titrant et le méthanol (le réactif titrant contenant notamment du diiode, du dioxyde de soufre et de la pyridine) (52).

Préalablement au dosage des excipients, l'appareil a été étalonné afin de déterminer la quantité nécessaire de solution titrante (Hydranal®, Fluka), pour neutraliser une quantité donnée d'eau. Cette valeur a été calculée en faisant la moyenne obtenue suite à 4 injections d'eau dans le milieu réactionnel.

Afin de connaître la quantité exacte d'échantillon introduite dans le milieu réactionnel, celle-ci est calculée par une pesée du sabot avant et après introduction. La teneur en eau est calculée par le dispositif et exprimée en % m/m qui correspond à la masse d'eau contenue dans l'échantillon en rapport de la masse totale de l'échantillon (en mg).

4. Analyse par CLHP-UV et étude de dégradation forcée

Le laboratoire de contrôle de la pharmacie du CHRU de Lille dispose d'un système CLHP-UV Dionex Ultimate 3000 (Thermo-scientific®) équipé d'une pompe quaternaire, d'un système de dégazage en ligne, d'un passeur d'échantillons automatique WPS-3000TSL et d'un détecteur à barrettes de photodiodes. La collecte et le traitement des données se fait par le logiciel Chromeleon® (version 7.1) provenant du même fournisseur.

Les analyses sont réalisées à l'aide d'une colonne C₁₈ Accucore AQ de dimensions 100 x 2,1 mm (2,6 µm) précédée d'une pré-colonne de même nature de dimensions 10 x 2,1 mm (2,6 µm). La phase mobile est composée d'un mélange Acétonitrile (ACN) / tampon phosphate (Tp P.) (10 mM, pH=2,0) avec une proportion 20/80 (v/v), préalablement dégazée dont le débit est fixé à 0,4 mL.min⁻¹. La colonne est thermostatée à 25°C, le volume d'injection est de 2µL et les analytes sont détectés à 247 nm.

Le tampon phosphate est préparé par dissolution de 1,36 gramme de dihydrogénophosphate de potassium (KH₂PO₄) dans une fiole jaugée de 1000 mL et avec un ajustement du pH à 2,0 par du HCl 1N. Le tampon est utilisé après filtration sous vide (filtre cellulose 0,22µm) et dégazage aux ultrasons pendant 10 minutes.

1. Méthode de dosage par CLHP

Les dosages sont réalisés à l'aide d'une méthode de dosage, qui a été validée antérieurement à l'initiation de ce travail sur une gamme de concentrations en aspirine de 7 à 13 µg.mL⁻¹ (23). Les performances de la méthode (notamment sa justesse et sa sélectivité) ont été vérifiées.

Afin de s'assurer de la justesse de la méthode, une série de 4 échantillons de contrôle qualité (QC) à 7, 9, 11, 13 µg.mL⁻¹ est préparée à chaque dosage à partir de la substance chimique de référence (SCR) de l'AAS fournie par l'EDQM.

Le flacon de SCR 10 mg est conservé à une température comprise entre 2 et 8°C. Des aliquots sont réalisés en diluant le SCR dans de l'ACN afin d'obtenir une concentration à 1 mg.mL⁻¹ afin d'être conservés au congélateur à -18°C.

Lors de la réalisation des QC, un aliquot est décongelé puis dilué au 1/10^{ème} dans de l'ACN pour avoir une solution à 0,1 mg.mL⁻¹ servant aux dilutions, comme précisé sur le tableau 3 ci-dessous.

Tableau 3 : Préparation des échantillons de Contrôle Qualité

	CQ1	CQ2	CQ3	CQ4
	7 µg.mL ⁻¹	9µg.mL ⁻¹	11 µg.mL ⁻¹	13 µg.mL ⁻¹
Solution				
SCR AAS 0,1 mg.mL ⁻¹	70 µL	90 µL	110 µL	130 µL
ACN	930 µL	910 µL	890 µL	870 µL

Afin d'évaluer la sélectivité de la méthode de dosage, et donc son aptitude à quantifier l'analyte et à le séparer des produits de dégradation, une étude de dégradation forcée de l'AAS a été réalisée.

2. Etude de dégradation forcée

L'étude de dégradation forcée a été réalisée en suivant les recommandations du « Guide méthodologique des études de stabilité des préparations » (28) issu d'une collaboration entre le groupe stabilité de la SFPC (Société Française de Pharmacie Clinique) et le GERPAC (Groupe d'Evaluation et de Recherche sur la Protection en Atmosphère Contrôlée).

Le but de cette étude est de soumettre le principe actif à des conditions environnementales extrêmes afin de le dégrader volontairement et de s'assurer que la méthode d'analyse est capable de séparer les produits de dégradation du principe actif. Ceci permet ainsi d'évaluer le caractère « indicateur de stabilité » de la méthode (53). Les conditions de stress doivent couvrir un panel de conditions extrêmes : conditions chimiques (acide, basique, oxydant), et physiques (chaleur et lumière) (54,55). Le but de

cette étude d'obtenir une dégradation du PA de l'ordre de 20% afin d'éviter la formation de produits de dégradations secondaires (28).

L'ensemble des tests ont été réalisés avec des MPUP conformes aux spécifications de la Pharmacopée Européenne (27,56). Le principal produit de dégradation décrit étant l'acide salicylique, nous avons réalisé en parallèle une solution à partir de la matière première pour l'identification de son pic chromatographique.

Le tableau 4 ci-dessous résume l'ensemble des tests réalisés. La neutralisation de l'effet a pour but de limiter au maximum la poursuite de la dégradation du principe actif au cours du temps avant le dosage.

Tableau 4 : Conditions physicochimiques employées lors des tests de dégradation.

Condition	Dégradation par	Neutralisation de l'effet
Acide	HCl	NaOH
Basique	NaOH	HCl
Oxydante	H ₂ O ₂	Dilution (ACN)
Température	Bain marie	Refroidissement
Luminosité	Lampe UV	Arrêt de l'exposition

a) Préparation des solutions subissant une dégradation forcée

A partir de la matière première d'AAS, une pesée de 40 mg est réalisée dans une fiole jaugée de 10 mL pour obtenir, après solubilisation dans l'ACN, une solution mère à 4000 µg.mL⁻¹. Cette solution est utilisée pour réaliser deux dilutions : une première au 1/10^{ème} (pour les essais en milieu acide, basique, et oxydant) et une seconde au 1/40^{ème} (pour l'exposition à la chaleur et aux UV).

b) Milieu acide : HCl

Les essais en milieu acide sont réalisés en plaçant la solution à dégrader obtenue par un mélange volume à volume de la solution d'AAS et d'acide dans un bain marie à une température stable de 60°C pendant 1 heure (cf Annexe 2)

Deux concentrations d'HCl ont été testées : 0,5N et 1N pendant 1 heure. Après neutralisation (par ajout d'un volume équivalent de NaOH 0,5N et 1N), la solution est

diluée au 1/10^{ème} dans la phase mobile pour avoir une concentration en AAS proche de 10 µg/mL (milieu de gamme d'étalonnage).

c) Milieu basique : NaOH

Les essais en milieu basique ont été réalisés aux mêmes concentrations qu'en milieu acide, en utilisant de la soude. Par la suite d'autres essais ont été développés avec des concentrations plus faibles en NaOH (0,01N et 0,1N) avec des temps de prélèvement plus rapprochés. Six prélèvements intermédiaires ont été effectuées (cf Annexes 3, 4).

d) Milieu oxydant : H₂O₂

Les essais en milieu oxydant sont mis en œuvre sur une durée de 180 minutes à partir d'une solution d'eau oxygénée H₂O₂ à 3% (cf Annexe 5).

e) Exposition à la chaleur et aux UV

Le protocole de dilution est identique pour les essais d'exposition à la chaleur et aux UV (cf Annexe 6). Les essais de dégradation par la chaleur ont été conduits à 60°C et 80°C en utilisant un bain marie, pendant une durée de 6 heures. Les essais d'exposition aux UV se sont déroulés dans un premier temps à une longueur d'onde de 365nm pendant 6h, puis à 254 nm pendant 72h.

5. Production des gélules d'aspirine

La production des gélules est réalisée par des préparateurs en pharmacie hospitalière formés, dans le respect des Bonnes Pratiques de Préparation (BPP) (57).

1. Préparation et évaluation de la teneur des poudres

La fabrication des lots de gélules nécessite préalablement de produire extemporanément les poudres entrant dans leur composition.

La quantité de poudre à préparer dépend de la taille des gélules utilisées (ici Taille 4 soit 0,21 mL par gélule) et de la capacité du gélulier (gélulier LGA® ; d'une capacité de 100 gélules), ce qui donne 21 mL de poudre par lot.

La première étape de fabrication consiste à peser le principe actif (PA).

Alors que pour la préparation d'un lot de 100 gélules à 1 mg, la précision de la balance utilisée permet d'effectuer une pesée précise (100 mg), il n'en est pas de même pour les gélules à 0,1 mg (10 mg étant le seuil de précision de la balance). Ainsi, la préparation des gélules à 0,1 mg a été réalisée en deux étapes par dilution dans l'excipient d'une poudre mère préparée à 10% m/m dans le même excipient.

La poudre mère est réalisée au mortier avec 100,00 mg de PA pour 900,00 mg d'excipient. Ceci permet ensuite une pesée de 100 mg de cette poudre mère pour la fabrication d'un lot de 100 gélules à 0,1 mg d'aspirine.

Dans un second temps la quantité adéquate d'excipient doit être ajoutée et mélangée au principe actif. Cette quantité a été mesurée de deux manières différentes : par volume ou par masse. Le protocole usuel est de travailler en volume mais il semblait intéressant, pour ces poudres très faiblement concentrées, de travailler en masse de manière à réduire l'impact d'un changement de préparateur au cours de l'étude (le tassement de la poudre pouvant être opérateur-dépendant).

La première méthode (par volume) a consisté à considérer le volume de principe actif comme négligeable et donc de mesurer à l'aide d'une éprouvette graduée les 21 mL d'excipient en évitant autant que possible de tasser la poudre. La seconde méthode (par masse) a nécessité au préalable de déterminer la masse moyenne de poudre pouvant

être contenue dans une gélule pour chaque excipient. Pour ce faire, la masse a été déterminée en calculant la masse moyenne de poudre contenue dans une gélule de 0,21 mL à partir d'un lot gélules contenant l'excipient considéré.

L'ensemble des mélanges sont réalisés au mortier un lot à la fois. Après avoir pesé la quantité nécessaire de PA, celle-ci est versée en intégralité dans le mortier, tandis que l'excipient est ajouté au fur et à mesure du mélange jusqu'à homogénéisation.

La teneur en aspirine des poudres est déterminée par dosage en CLHP-UV après solubilisation de celles-ci dans l'ACN afin d'atteindre une concentration théorique en AAS de 10 µg.mL⁻¹ (milieu de la gamme d'étalonnage).

2. Fabrication des gélules

La fabrication des gélules se fait dans le respect des BPP (57). Les quantités nécessaires de PA et d'excipients sont résumés dans le tableau 5 ci-dessous.

Tableau 5 : Fabrication d'un lot de 100 gélules d'AAS, taille 4 (quel que soit l'excipient)

Dosage	0,1 mg	1 mg
1 – Fabrication de la Poudre mère (10% AAS)	100,0 mg AAS + 900, 0 mg Excipient	N/A
2 – Pesée de la quantité nécessaire d'AAS	100,0 mg de poudre mère à 10% d'AAS (soit 10,0 mg AAS)	100,0 mg AAS MPUP
3 – Prélèvement de la quantité d'excipient pour un lot	Soit utilisation d'un volume d'excipient : $v_e = 21,00$ mL Soit une masse d'excipient, $m_e = 21,00$ mL * masse moyenne de poudre dans une gélule.	

Immédiatement après la réalisation du mélange entre le PA et l'excipient, la poudre est répartie dans des gélules afin de fabriquer des lots de 100 unités à l'aide d'un gélulier. La répartition se fait de telle sorte à obtenir une uniformité de remplissage des gélules par arasement et sans tassement. Après scellement des gélules, celles-ci sont mises en blister (PVC/Aluminium) afin d'assurer leur conservation avant la réalisation des différents contrôles.

3. Contrôle des gélules

La Pharmacopée Européenne décrit pour les préparations unidoses 2 tests d'uniformité : l'uniformité de masse (25) et l'uniformité de teneur (26).

i. Uniformité de masse

Les essais d'uniformité de masse sont réalisés une seule fois après fabrication, à l'aide d'une balance de précision conformément à la monographie de la Ph.Eur (26). Les pesées sont réalisées après tarage de la balance à l'aide d'une gélule vide. La masse moyenne de poudre est calculée sur un total de 20 gélules. Ainsi les écarts limites tolérés sont :

- pour des gélules de moins de 300 mg : +/- 10% (intervalle retenu)
- pour des gélules de plus de 300 mg : +/- 7,5%

Tout au plus 2 gélules peuvent présenter un écart de masse supérieure à ce pourcentage sans toutefois avoir un écart supérieur à 2 fois ce pourcentage (+/- 20% dans notre cas). L'uniformité de teneur est réalisée à la condition que l'uniformité de masse soit conforme, le cas échéant les lots non conformes sont refabriqués.

ii. Uniformité de teneur

Les essais d'uniformité de teneur sont réalisés sur 10 gélules par lot (excepté pour le suivi hebdomadaire de la stabilité : (6 gélules par lot). La limite fixée par la Pharmacopée Européenne est de +/- 15% avec tout au plus 1 gélule en dehors de cet intervalle sans toutefois dépasser l'intervalle fixé à +/- 25% de la teneur moyenne (26). Dans notre cas en ce qui concerne la teneur moyenne, la valeur limite d'acceptation a été fixée à +/- 10% de la teneur théorique.

Le dosage des gélules se fait par une dissolution de leur contenu dans une fiole jaugée de 10 mL avec de l'ACN. Cette étape se fait à l'aide d'un entonnoir en prenant soin de rincer abondamment le corps et l'enveloppe de la gélule.

Les fioles sont mises aux ultrasons pendant 5 minutes pour assurer la solubilisation du principe actif.

A cette étape, les solutions contenant la poudre issue des gélules d'AAS dosées à 0,1 mg ont une concentration théorique de $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (milieu de la gamme d'étalonnage). Pour les solutions préparées à partir des gélules d'AAS à 1 mg, une dilution au 1/10 dans l'ACN est nécessaire pour obtenir la même concentration théorique.

Ensuite les solutions sont filtrées sur seringue à l'aide de filtres à $0,2 \mu\text{m}$ avant analyse chromatographique.

6 - Etude de stabilité des gélules

L'étude de stabilité est menée sur plusieurs lots de gélules d'AAS, préparées avec différents excipients. Ces excipients sont préalablement sélectionnés en fonction de leur capacité à assurer à une homogénéité optimale. Cette étude réalisée sur plusieurs semaines a pour but de déterminer, pour chaque excipient testé, l'évolution de différents paramètres en fonction du temps, permettant d'identifier la ou les formulation(s) assurant la meilleure stabilité et ainsi de définir une durée d'utilisation adaptée (durée avant péremption).

1. Choix des formulations et fabrication des lots pour l'étude de stabilité

Afin de sélectionner les formulations adaptées pour chaque dosage (0,1 et 1 mg), deux lots ont été fabriqués pour chaque excipient (0,1 et 1 mg), afin de ne retenir que ceux présentant les meilleurs résultats en termes de teneurs moyennes, d'uniformités de masse et d'uniformité de teneur (analyse des extremums, étendue, écart type et coefficient de variation).

Après avoir choisi les excipients pouvant être utilisés pour chacun des dosages, une étude de stabilité est initiée pour chaque formulation sur 4 lots fabriqués le même jour.

2. Conditions et durée de conservation

Les recommandations issues des ICH Q1(R2) sont une conservation de 12 mois à une température de 25°C (+/- 2°C) et une humidité relative à 60% (+/- 5%) (54). Après blistérisation les lots sont conservés à l'abri de la lumière dans une pièce climatisée à une température inférieure à 25°C et une humidité relative inférieure à 60%.

3. Dosages et évaluation de la stabilité

Pour l'étude de stabilité, les dosages ont lieu avec un intervalle hebdomadaire sur une série de 6 gélules prélevées aléatoirement par lot. La durée de stabilité a été définie comme étant la durée durant laquelle la dégradation moyenne du principe actif dans un lot, ne dépasse pas 10% de la concentration initiale (teneur moyenne au J0).

III - Résultats

1. Performances de la méthode de dosage

Une méthode de dosage de l'AAS avait été préalablement développée et validée au laboratoire de contrôle (23). Une fonction de réponse de type linéaire avait été établie pour une gamme d'étalonnage en ASS de 6 à 14 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ avec pour équation de droite :

$$y = 0,0443x + 0,0059$$

Les résultats de validation sont présentés en Annexe 7 (courbe d'étalonnage) et 8 (profil d'exactitude).

Lors de cette validation de méthode, les biais relatifs ainsi que les coefficients de variation (CV) de répétabilité et de fidélité intermédiaire obtenus par l'analyse des échantillons de CQ sont résumés dans le tableau 6 ci-dessous.

Tableau 6 : Caractéristiques de la méthode de dosage lors de sa validation

Concentration	Biais relatif	CV répétabilité	CV fidélité intermédiaire
7 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	-0,23%	2,14%	2,59%
9 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,56%	2,03%	2,56%
11 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	-0,54%	0,77%	0,77%
13 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	0,23%	0,60%	0,60%

Afin de vérifier les performances de la méthode analytique et notamment sa justesse, de nouveaux échantillons de CQ ont été préparés (en triplicat) puis analysés. Les résultats sont résumés dans le tableau 7 ci-dessous.

Tableau 7 : Résultat d'analyse des échantillons de CQ

Concentration théorique (µg/mL)	Concentration mesurée (µg/mL)	Biais (%) (mesurée/théorique)	CV (%)
7	6,87	-1,83	2,49%
7	6,97	-0,38	
7	7,21	2,98	
9	8,68	-3,54	1,46%
9	8,66	-3,76	
9	8,89	-1,18	
11	10,40	-5,44	3,34%
11	10,50	-4,55	
11	11,06	0,59	
13	12,36	-4,90	1,09%
13	12,42	-4,47	
13	12,62	-2,91	

Les résultats montrent que la méthode précédemment validée a gardé ses caractéristiques en termes de quantification de l'AAS, avec des biais compris dans un intervalle entre +/- 10% et un CV < 5%.

La sélectivité de la méthode n'avait été que partiellement étudiée en vérifiant la séparation chromatographique entre l'AAS et l'AS, principal produit de dégradation décrit. Sur le chromatogramme de la Figure 3, obtenu par l'analyse d'un mélange des 2 composés, on observe que le pic d'AAS a un temps de rétention inférieur à celui de l'AS, avec une résolution de 4,78 permettant une intégration correcte de chacun.

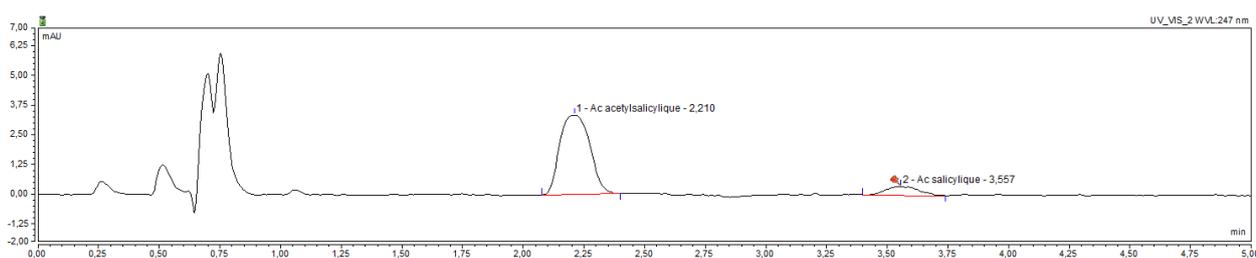


Figure 3 : Chromatogramme d'un échantillon contenant de l'AAS et de l'AS

Afin de compléter les données concernant la sélectivité de la méthode nous avons entrepris une étude de dégradation forcée de l'AAS.

2. Etude de dégradation forcée

Afin de s'assurer que la méthode est indicatrice de stabilité, c'est-à-dire capable de séparer avec une résolution correcte, le principe actif du ou des produit(s) de dégradation qui pourraient être formés lors de l'étude de stabilité, une étude de dégradation forcée a été réalisée.

1. Milieu acide

Après une heure d'exposition en présence de HCl 0,5N, l'AAS est dégradé à hauteur de 20%. Le chromatogramme de la figure 4 ci-dessous met en évidence l'apparition d'un seul pic au temps de rétention de l'acide salicylique. Le spectre correspond à celui de l'AS et confirme ainsi l'apparition de ce produit de dégradation. Au bout d'une heure on obtient une dégradation de l'ordre de 40% avec du HCl 1N (Cf Annexe 9). Aucun autre produit de dégradation n'est apparu sur le chromatogramme.

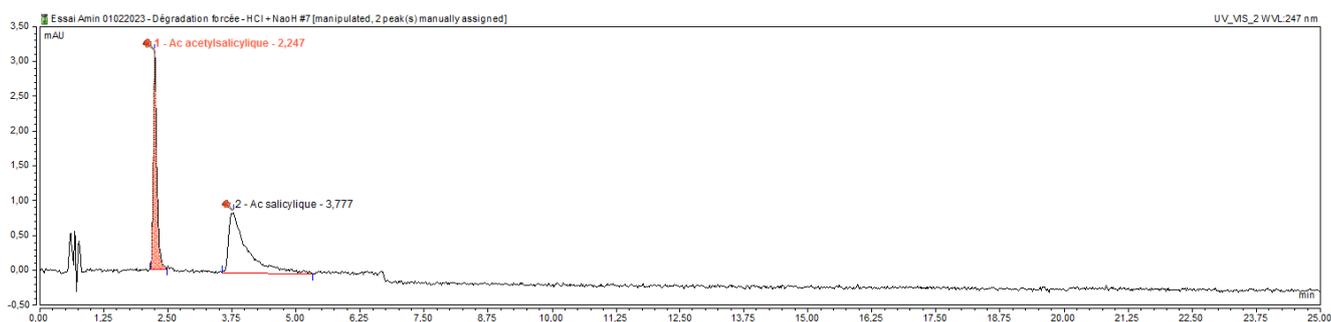


Figure 4 : Chromatogramme d'une solution d'AAS en présence d'HCl 0,5N pendant 1 heure.

2. Milieu basique

En condition basique, l'AAS est totalement hydrolysé en AS et ce dès la concentration la plus faible à 0,1N comme le montre le chromatogramme ci-dessous (figure 5).

L'AAS est indétectable au bout d'une heure avec les 3 concentrations initialement testées 1N, 0,5 et 0,1N.

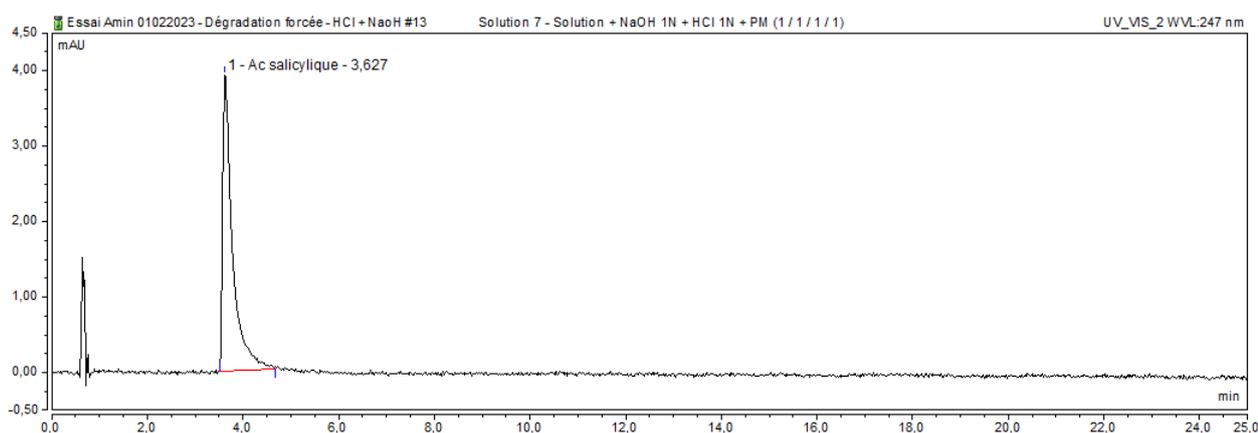


Figure 5 : Chromatogramme d'une solution d'AAS en présence de NaOH 1N pendant heure

Un second essai a été réalisé à une concentration en NaOH plus faible (0,1N) avec des dosages intermédiaires entre T_0 et $T_{60\text{min}}$ en prélevant dans le même tube à intervalle de temps régulier. Dès T_0 un échantillon est prélevé puis neutralisé avec du HCl 0,1N pour stopper la réaction avant analyse.

Cet échantillon subit une dégradation de l'ordre de 30%. Par la suite les autres prélèvements ne contiennent plus d'AAS dès $T_{5\text{min}}$.

Afin d'obtenir une dégradation de l'ordre de 20% (28), un dernier essai a été réalisé en diluant le NaOH à 0,01N. Le graphique ci-dessous (figure 6) montre une dégradation plus lente conduisant à former de l'AS.

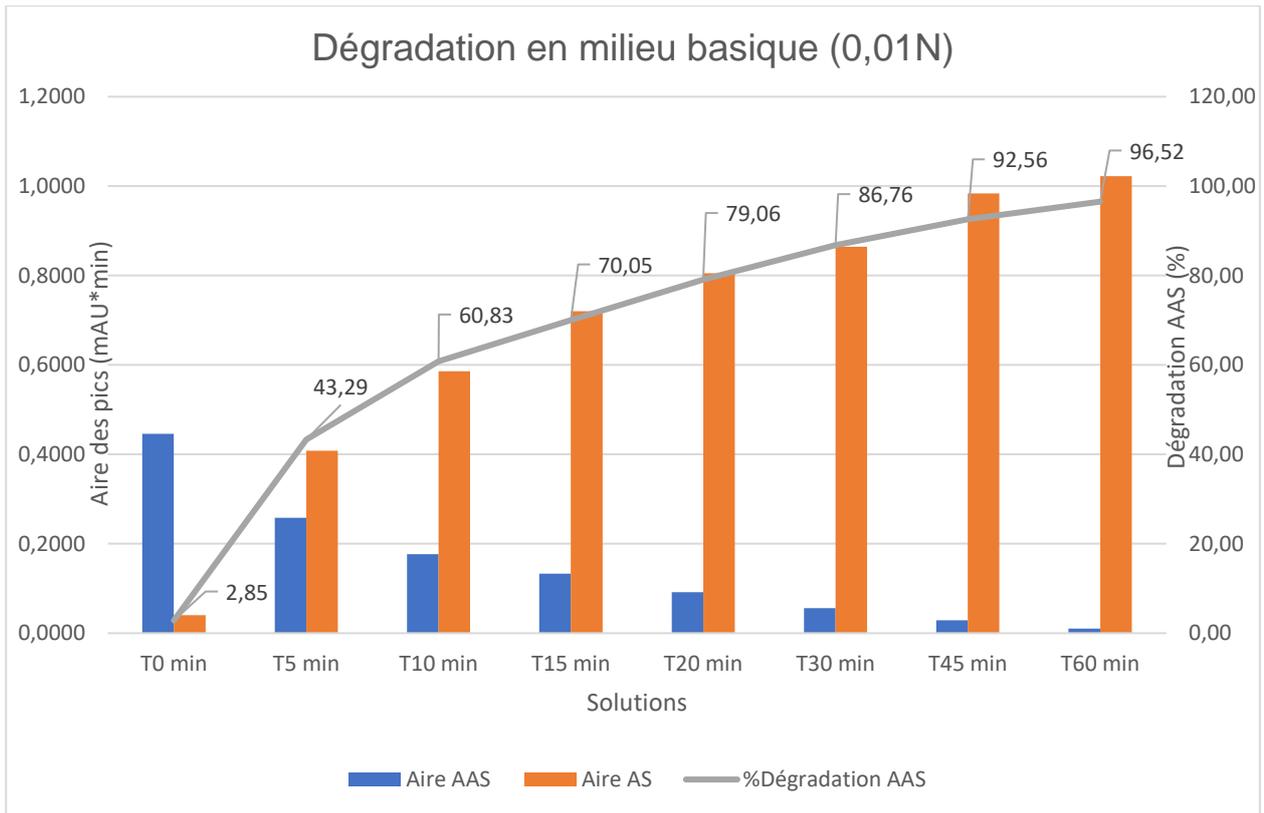


Figure 6 : Dégradation de l'AAS en présence de NaOH (0,01N) pour une durée d'exposition totale de 60 minutes

Le chromatogramme ci-dessous (figure 7) est le résultat d'une dégradation de l'AAS en présence de NaOH (0,01N) à T₅min.

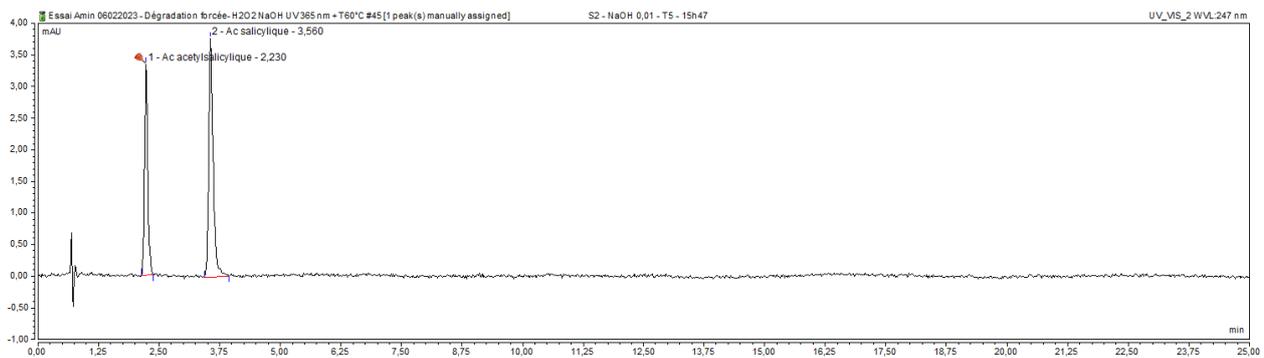


Figure 7 : Chromatogramme d'une solution d'AAS en présence de NaOH 0,01N après une exposition de 5 minutes

Ce chromatogramme permet de conclure à l'absence d'autres produits de dégradation que l'AS dans ces conditions.

3. Milieu oxydant

Pour la dégradation en milieu oxydant, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à une concentration de 3% pendant une durée de 3 heures permet d'obtenir une dégradation atteignant les 20% (cf Annexe 11)

Le chromatogramme ci-dessous (figure 8) représente la dégradation de 20% du PA au bout d'une heure.

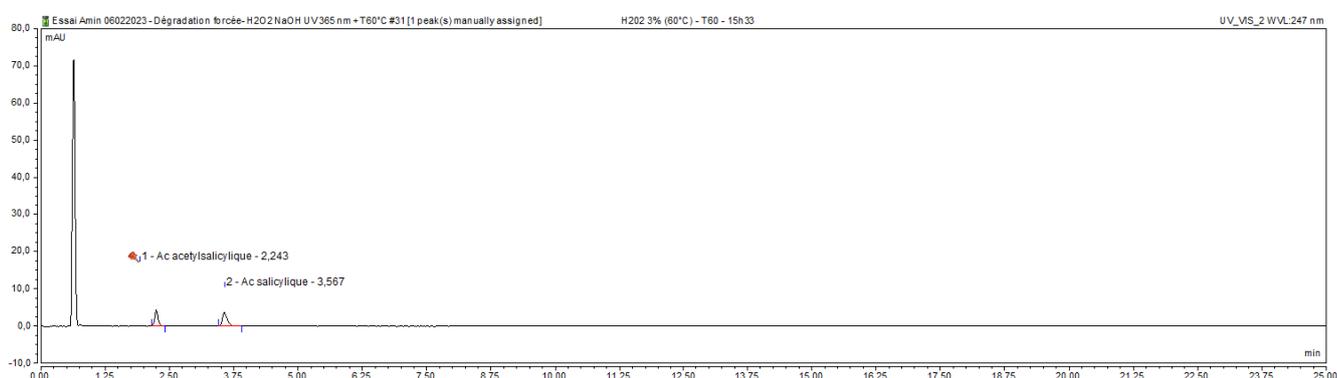


Figure 8 : Chromatogramme des essais de dégradation forcée de l'AAS en présence d'H₂O₂ 3% pendant 1 heure

On peut voir sur cette figure un premier pic aux alentours de 40 secondes qui correspond à l'H₂O₂ (identifié par le passage d'un blanc H₂O₂ sans AAS). On peut ensuite identifier deux autres pics avec l'AAS élué en premier puis l'AS, et l'absence d'autres produits de dégradations sur une durée de 25 minutes.

4. Exposition à la chaleur

Les essais ont dans un premier temps été réalisés à 60°C, cette température étant celle utilisée lors des essais en milieu acide, basique et oxydant. Ceci afin de pouvoir identifier une potentielle influence de la chaleur sur la formation des produits de dégradation. Le chromatogramme obtenu après une durée de 6 heures à 60°C correspond à la figure 9 ci-dessous.

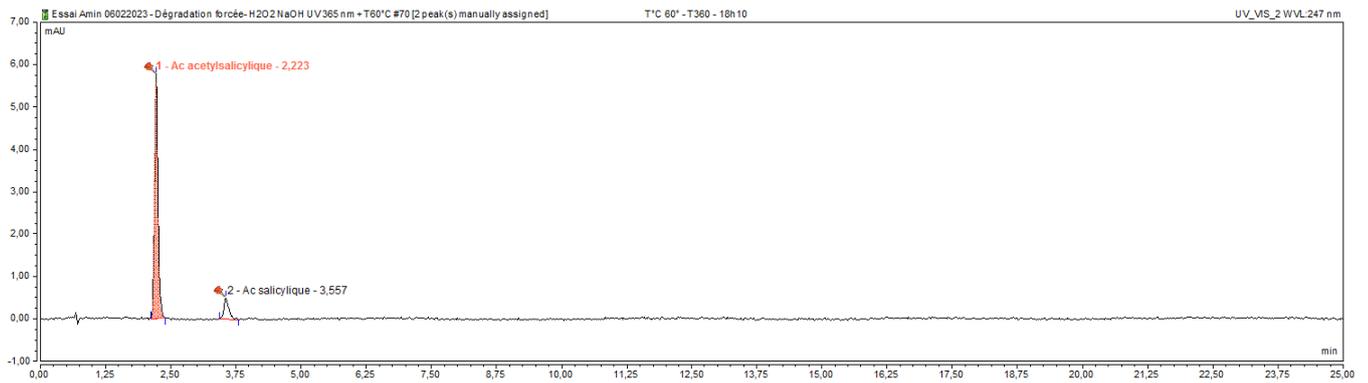


Figure 9 : Chromatogramme des essais de dégradation forcée de l'AAS à 60°C pendant 6 heures

A une température de 60°C pendant une durée de 6 heures le chromatogramme ci-dessus (figure 9) ne montre aucun produit de dégradation autre que l'AS.

Par la suite un essai a été réalisé à une température de 80°C pendant 6 heures (figure 10) :

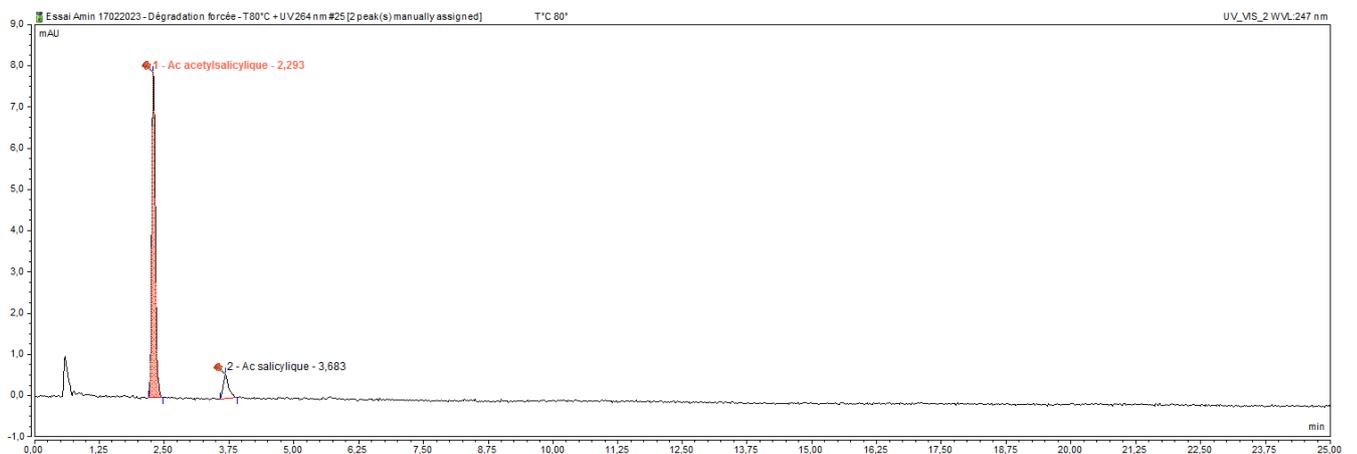


Figure 10 : Chromatogramme des essais de dégradation forcée de l'AAS à 80°C pendant 6 heures

A une température de 80°C pendant une durée de 6 heures, une légère dégradation de l'AAS en AS, sans qu'on puisse voir l'apparition d'autres pics.

La chaleur dans les conditions testées, ne semble pas être un élément pouvant conduire à la dégradation de l'AAS en d'autres produits que l'AS.

5. Exposition aux UV

Les essais d'exposition aux UV ont débuté avec une longueur d'onde de 365 nm. La figure 11 ci-dessous correspond au chromatogramme après 6 heures d'exposition à une lampe UV à 365 nm.

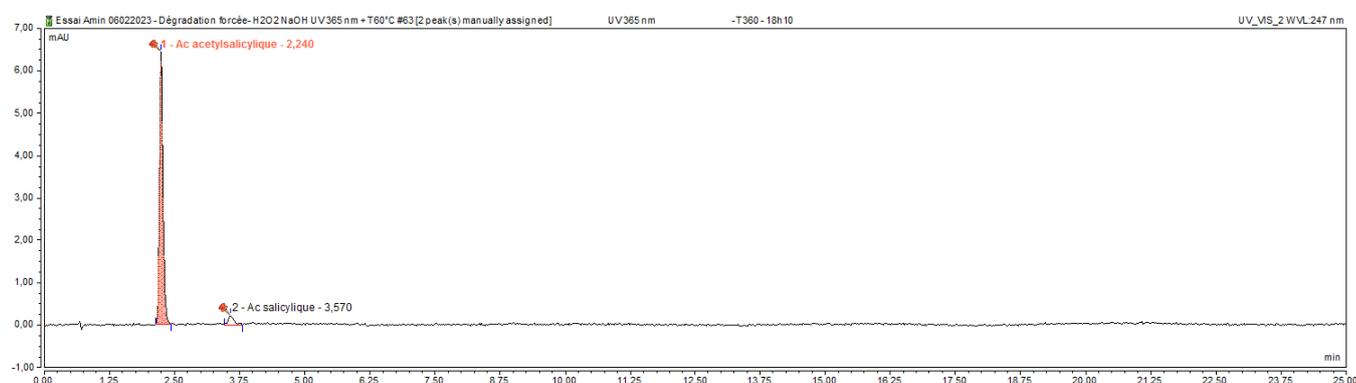


Figure 11 : Chromatogramme des essais de dégradation forcée de l'AAS à 365 nm pendant 6 heures

Après 6 heures, l'AAS s'est légèrement dégradé en AS, et aucun autre pic n'apparaît sur le chromatogramme.

Afin d'augmenter les effets liés aux UV, la longueur a été abaissée à 254 nm, et l'essai reproduit sur une durée cette fois-ci de 72h, ce qui nous permet d'avoir le chromatogramme suivant (figure 12).

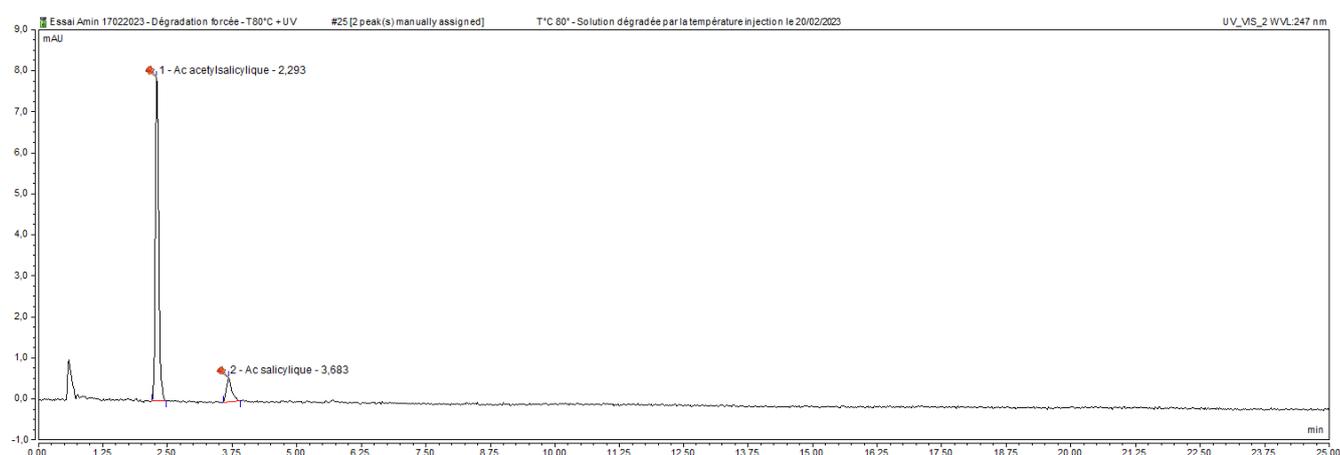


Figure 12 : Chromatogramme des essais de dégradation forcée de l'AAS à 254 nm pendant 72 heures

On observe une apparition d'AS au bout de 72 heures, sans toutefois être accompagnée d'autres produits de dégradation.

Les résultats obtenus dans les différentes conditions de dégradation forcée montrent qu'un seul produit de dégradation est retrouvé : l'AS.

Celui-ci étant correctement séparé de l'AAS, sa présence n'impactera pas l'intégration du pic d'AAS et donc sa quantification lors de l'étude de stabilité.

La méthode développée apparaît donc indicatrice de stabilité.

Remarque : Le risque d'une co-élution d'un produit de dégradation avec l'AAS ne peut pas être totalement écarté même si aucune modification spectrale n'a été détectée. L'utilisation d'une autre méthode chromatographique, d'un détecteur spécifique (spectromètre de masse) ou d'une technique orthogonale permettrait de s'en assurer.

Ces éléments permettent de passer à l'étape suivante qui porte sur la faisabilité des préparations de gélules, ainsi que l'étude de stabilité.

3. Etude de stabilité des gélules d'aspirine

1. Préparation des gélules : évaluation de l'uniformité de masse et de teneur

Dans le but de déterminer la faisabilité de la préparation hospitalière des gélules d'AAS à 0,1 et 1 mg, différents lots ont été fabriqués à partir des 4 excipients suivants : amidon de maïs, cellulose microcristalline, lactose monohydrate et mannitol.

L'ensemble de ces fabrications se sont déroulées selon la première méthode de production consistant à prélever un volume d'excipient, avec une quantité suffisante pour (QSP) 21 gélules.

Un essai d'uniformité de masse est réalisé sur un échantillon de 20 gélules, tandis que l'essai d'uniformité de teneur est déterminé sur un autre échantillon de 10 gélules. Concernant la teneur des gélules, quelques critères d'évaluation ont été calculés à savoir l'étendue (différence entre la teneur la plus élevée et la plus faible), la moyenne, et le CV.

a. Lots dosés à 1 mg d'AAS

Pour chacun des 4 excipients, un lot de 100 gélules à 1 mg d'AAS a été préparé.

Les résultats des uniformités de masse sont présentés en Annexe 12.

Pour chaque lot, la totalité des gélules ont une masse de poudre comprise dans l'intervalle à +/- 10% calculée à partir de la moyenne des 20 gélules échantillonnées.

Les résultats des teneurs des 10 gélules échantillonnées puis dosées par CLHP sont sur le tableau 8, avec les valeurs hors intervalle soulignées :

Tableau 8 : Teneur (%) des gélules dosées à 1 mg d'AAS

Excipient	Amidon de maïs	Cellulose microcristalline	Lactose monohydrate	Mannitol
Gélule 1	96,8	98,2	103,5	100,1
Gélule 2	95,8	105,5	111,6	95,9
Gélule 3	90,8	97,4	106,5	98,5
Gélule 4	98,3	102	108,9	103,7
Gélule 5	96,5	99,7	102,6	91,2
Gélule 6	97,6	101,9	110	98,3
Gélule 7	104,5	105,6	109,4	97,1
Gélule 8	97,68	102,9	106	101
Gélule 9	108,05	97,7	95,0	100,8
Gélule 10	94,12	102,9	108,4	95
Moyenne	98,0	101,4	106,2	98,2
Intervalle teneur +/- 15%	[83,3 – 112,7]	[86,2 – 116,6]	[90,3 - 122,1]	[83,4 – 112,9]
Etendue	17,2	8,1	16,6	12,5
CV%	5,0	3,0	4,6	3,6

Ces premiers résultats montrent des uniformités des teneurs permettant d'avoir l'ensemble des gélules à une teneur comprise entre 85 et 115% de la teneur moyenne. La teneur individuelle de chaque gélule est également conforme pour l'ensemble des lots produits, toutes comprises entre 90 et 110% de la valeur théorique.

b. Lots dosés à 0,1 mg d'AAS

Comme indiqué précédemment, la préparation des gélules à 0,1 mg, a nécessité de recourir à des poudres mères contenant 10% d'AAS. Les gélules préparées à partir de ces poudres mères ont ensuite été contrôlées. Les résultats des uniformités de masse des gélules présentés en Annexe 13 sont conformes pour l'ensemble des excipients.

Les teneurs déterminées par dosages en CLHP, sont résumées sur le tableau 9:

Tableau 9 : Teneur (%) des gélules dosées à 0,1 mg d'AAS

Excipient	Amidon de maïs	Cellulose microcristalline	Lactose monohydrate	Mannitol
Gélule 1	104,3	92,6	146,1	121,1
Gélule 2	106,7	107,1	141,6	118,9
Gélule 3	127,0	<u>148,1</u>	141,8	119,1
Gélule 4	104,3	114,6	141,9	116,3
Gélule 5	128,9	90,7	143,0	108,0
Gélule 6	109,0	91,8	142,7	114,0
Gélule 7	106,6	<u>59,3</u>	142,8	117,4
Gélule 8	<u>133,9</u>	117,9	145,0	118,4
Gélule 9	108,4	99,7	146,6	110,9
Gélule 10	128,7	110,3	145,6	112,6
Moyenne	115,8	103,2	143,7	115,7
Intervalle teneur +/- 15%	[98,4 – 133,1]	[87,7 - 118,7]	[122,2 – 165,3]	[98,3 – 133,0]
Etendue	29,6	88,8	5	13,1
CV%	10,5	22,3	1,3	3,6

En termes de teneur moyenne, il apparaît un surdosage des gélules d'AAS à base de mannitol, de lactose et d'amidon de maïs. Seule la teneur moyenne obtenue pour les gélules préparées avec la cellulose serait dans les normes. Toutefois, une très grande hétérogénéité est mise en évidence pour ces gélules (CV de 22,3%). Les résultats montrent des étendues variables particulièrement importantes dans le cas des gélules préparées avec l'amidon de maïs (29,6) et la cellulose microcristalline (88,7).

En ce qui concerne l'uniformité de teneur, pour le lactose et le mannitol l'ensemble des gélules dosées sont comprises dans l'intervalle à +/-15%, avec toutefois un meilleur CV pour le lactose. Bien que le lot avec la cellulose microcristalline soit le seul à avoir une

teneur moyenne fixé dans l'intervalle théorique (90-110%), ce lot dispose aussi de la plus forte hétérogénéité.

Le tableau 10 résume les résultats des teneurs des poudres mères utilisées pour la préparation de ces gélules dosées à 0,1 mg d'AAS.

Tableau 10 : Teneur des poudres mères d'AAS 10% pour chaque excipient

Echantillons (p.e = prise d'essai)	Teneur (%)	Teneur moyenne (%)	CV (%)
Poudre amidon de maïs A1: p.e = 19.8 mg	96,1	98,4	4,55%
Poudre amidon de maïs A2 : p.e = 22.6 mg	103,6		
Poudre amidon de maïs A3 : p.e = 20.7 mg	95,6		
Poudre cellulose microcristalline : p.e = 20.5 mg	88,9	89,7	3,00%
Poudre cellulose microcristalline : p.e = 20.7 mg	92,7		
Poudre cellulose microcristalline : p.e = 20.6 mg	87,5		
Poudre lactose L1 : p.e = 21,6 mg	95,6	92,6	4,73%
Poudre lactose L2 : p.e = 24,2 mg	87,6		
Poudre lactose L3 : p.e = 21,1 mg	94,7		
Poudre mannitol M1 : pe = 25,5 mg	93,6	92,2	1,87%
Poudre mannitol M2 : pe = 21,0 mg	90,3		
Poudre mannitol M3 : pe = 28,3 mg	92,8		

Ces mesures montrent que ces poudres sont globalement sous dosées et n'expliquent pas les surdosages des gélules observés.

La présence de gélules surdosées dans les lots peut s'expliquer par différents éléments. En ce qui concerne la fabrication, une variabilité inter opérateur peut expliquer ces résultats en termes de volume d'excipient prélevé ou encore une variabilité au niveau de la zone de prélèvement au niveau de la poudre mère, ou encore du tassement lors de la répartition de la poudre dans les gélules. Pour la partie analytique des biais peuvent apparaître en ce qui concerne l'échantillonnage.

A partir de ces résultats, pour le dosage à 0,1 mg compte tenu de la faible dispersion des valeurs en termes d'uniformité de masse pour les gélules préparées à partir de lactose (CV de 1,3%, il a été décidé de retenir cet excipient. Une modification du protocole de fabrication sera toutefois entreprise de manière à obtenir des teneurs moyennes conformes.

Pour les gélules d'AAS dosées à 1 mg, les 4 excipients montrent des dispersions acceptables. Du fait de son caractère d'excipient à effet notoire sans seuil (58) et de la présence d'autres alternatives, le lactose n'a pas été retenu pour la réalisation de ces préparations.

Le but de tester ces 3 excipients est d'identifier celui montrant les meilleurs résultats en termes d'homogénéité et de stabilité, et d'optimiser le procédé de fabrication.

2. Etude préliminaire de la stabilité des gélules

Compte tenu des précédents résultats des essais de faisabilité, il a été décidé de fabriquer 3 lots de gélules d'AAS à 1 mg pour chacun des 3 excipients retenus (amidon de maïs, cellulose microcristalline et mannitol) et 3 lots de gélules d'AAS à 0,1 mg avec le lactose (seul excipient retenu)

a. Fabrication de lots pour une étude de stabilité

En ce qui concerne la fabrication des gélules, celles-ci sont réalisées par prélèvement de l'excipient en volume (QSP 100 gélules) pour l'ensemble des lots.

Le tableau 11 présente les teneurs d'AAS pour chacun des excipients, ainsi que le pourcentage de dégradation de l'AAS pour chacun des lots entre le J1 (dosage réalisé le lendemain de la fabrication) et le 33^{ème} jour, avec une moyenne réalisée sur 10 gélules par lot.

Tableau 11 : Evolution des teneurs d'AAS après 1 mois de conservation pour les différents lots de gélules fabriqués.

Dosage	Gélules d'AAS 1 mg									Gélules d'AAS 0,1 mg		
Excipient	Amidon de maïs			Cellulose microcristalline			Mannitol			Lactose		
Lots	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 1	Lot 2	Lot 3
J1	99,4%	100,0%	104,1%	98,3%	99,2%	103,1%	97,6%	99,1%	99,4%	94,8%	101,8%	109,2%
J33	91,0%	95,5%	93,2%	85,9%	92,0%	88,1%	89,6%	98,1%	97,7%	68,5%	87,5%	79%
% Dégradation AAS	8,4%	4,5%	10,4%	12,6%	7,3%	14,5%	8,2%	1,1%	1,7%	27,7%	14,0%	27,7%
%moyen de dégradation	7,8%			11,5%			3,6%			23,1%		

Remarque : les différences entre les pourcentages de dégradation selon les lots (pour un même excipient) peuvent s'expliquer par un manque d'homogénéité des gélules intra-lot.

Le pourcentage de dégradation sur une période de 1 mois, conduit à une perte d'AAS de l'ordre de 7,8% en moyenne avec l'amidon de maïs, 11,5% avec la cellulose microcristalline et seulement 3,6% avec le mannitol. Pour les gélules à 0,1 mg d'AAS à partir de lactose la perte s'élève à 23,1% sur 33 jours.

Afin de visualiser l'ensemble des résultats, ceux-ci sont représentés sous forme de boxplot en annexe (14 à 17), en ce qui concerne la dispersion et la variation des teneurs entre J1 et J33.

Ces résultats mettent en évidence une forte variabilité de la dégradation de l'AAS au cours du temps en fonction des excipients (de 3,6 à 11,5% pour le dosage à 1 mg).

Etant donné la sensibilité de l'AAS à l'hydrolyse, cette dégradation peut potentiellement être liée à la teneur en eau de chaque excipient.

Afin de déterminer un potentiel lien entre dégradation et la quantité d'eau présente dans chaque excipient, nous avons procédé à une détermination de celle-ci.

b. Détermination de la teneur en eau des excipients

La détermination de la teneur en eau des excipients a été réalisée par une perte à la dessiccation et la méthode de Karl Fischer.

i. Perte à la dessiccation

Les résultats de perte à la dessiccation des excipients sont présentés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Perte à la dessiccation de l'amidon de maïs, cellulose microcristalline et mannitol.

Excipient	Amidon de maïs	Cellulose microcristalline	Mannitol
Perte à la dessiccation (%)	- 13,03%	- 5,65%	- 1,45%

Aucun essai n'étant proposé par la Pharmacopée Européenne pour le lactose monohydrate (50), la perte à la dessiccation n'a pas été réalisée.

Ces résultats sont conformes aux spécifications de la Pharmacopée Européenne pour chaque excipient comme indiqué sur le tableau 2.

Compte tenu de la confiance moyenne que l'on a accordé à ces résultats (incertitude sur capacité du four à « thermostat » exactement à la température voulue, et réhumidification de la poudre dès la sortie du four pendant la pesée) ainsi que l'absence de test décrit pour le lactose, nous avons choisi de déterminer les teneurs en eau par la méthode de Karl Fischer.

ii. Test de Karl Fischer

La réalisation du test de Karl Fischer a été décidée compte tenu des éléments cités précédemment et du fait de sa plus grande précision et spécificité vis-à-vis de l'eau contenue dans chaque échantillon.

Nous avons procédé à une série de 3 mesures par excipient. Les résultats sont présentés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Teneurs en eau (% m/m) des excipients par le procédé de Karl Fischer

Echantillon	Prise d'essai (mg)	V _{eq} (mL)	Teneur (% m/m)	Teneur moyenne
Amidon de maïs_E1	300,3	6,588	10,71%	
Amidon de maïs_E2	300,9	6,834	11,08%	11,07%
Amidon de maïs_E3	136,4	3,19	11,41%	
Cellulose 1_E1	207,4	2,018	4,75%	
Cellulose 2_E2	193,4	1,993	5,03%	5,02%
Cellulose 3_E3	202,8	2,188	5,27%	
Lactose 1_E1	298,4	3,375	5,52%	
Lactose 2_E2	301,4	3,25	5,26%	5,37%
Lactose 3_E3	194,6	2,13	5,34%	
Mannitol 1_E1	401,3	0,09	0,11%	
Mannitol 2_E2	520,7	0,059	0,06%	0,07%
Mannitol 3_E3	1585,1	0,112	0,03%	

La quantité d'eau contenue dans ce lot de mannitol est de l'ordre de 0,07% en moyenne, et d'environ 5 à 5,3% en moyenne pour le lactose et la cellulose microcristalline. En revanche l'amidon de maïs est l'excipient contenant le plus d'eau avoisinant les 11,07%. Les résultats des deux tests réalisés (perte à la dessiccation vs Karl Fischer) conduisent à obtenir des résultats du même ordre de grandeur.

Ces résultats, associés à ceux obtenus lors de l'étude de stabilité préliminaire, montrent que la teneur en eau pourrait un facteur influençant la dégradation de l'AAS, car le

pourcentage de dégradation le plus faible observé est obtenu avec le mannitol (3,6% au bout d'un mois).

Cependant la dégradation de l'AAS pour les lots contenant de l'amidon de maïs est de l'ordre de 7,8% contre 11,5% pour la cellulose microcristalline, avec pourtant des teneurs respectives en eau de 11% et 5%.

La teneur en eau de la MP de lactose est de 5,37% en moyenne, tandis que la dégradation de l'AAS au bout d'un mois était de 23,1% en moyenne. Dans ce cas on peut éventuellement se poser la question de l'influence de la quantité d'AAS contenue dans les gélules sur la dégradation (ces gélules étant à 0,1 mg contre 1 mg)

3. Etude de stabilité des gélules

A la suite des essais préliminaires montrant une dégradation relativement importante au bout d'un mois, nous avons convenu de la nécessité de réaliser l'étude de stabilité avec des dosages hebdomadaires. A la différence de l'étude préliminaire, étant donné les variations observées entre les lots d'une même formulation, nous avons réalisé cette étude de stabilité avec 4 lots par excipient (au lieu de 3). En contrepartie compte tenu du nombre d'analyses à réaliser, le nombre de gélules dosées par lot a été diminué à 6 (au lieu de 10).

Les résultats préliminaires n'étant pas concluants lors de l'utilisation de la cellulose microcristalline, il a été décidé de poursuivre les essais uniquement avec l'amidon de maïs et le mannitol pour les gélules d'AAS à 1 mg, tandis que pour les gélules à 0,1 mg les essais ont été poursuivis avec le lactose (en évaluant deux procédés de fabrication).

Les résultats d'uniformité de masse sont conformes pour l'ensemble des lots fabriqués (cf Annexe 19).

Le tableau 14 présente le nombre de gélules hors intervalle (teneur moyenne < 90% ou > 110%) pour chaque lot en fonction du temps.

Tableau 14 : Etude de stabilité : nombre de gélules hors intervalles par lot en fonction du temps.

Nombre de gélules hors intervalle	J1	J7	J14	J21	J28	J35
Mannitol 1 mg (volume¹)	5	2	4	3	6	7
Mannitol 1 mg – lot 1	1	2	2	2	0	2
Mannitol 1 mg – lot 2	2	0	1	0	0	0
Mannitol 1 mg – lot 3	1	0	0	1	2	2
Mannitol 1 mg- lot 4	1	0	1	0	4	3
Amidon – 1 mg (volume¹)	1	0	2	11	6	16
Amidon maïs – lot 1	0	0	2	6	5	6
Amidon maïs – lot 2	1	0	0	2	0	1
Amidon maïs – lot 3	0	0	0	2	1	4
Amidon maïs – lot 4	0	0	0	1	0	5
Lactose 0,1 mg (volume¹)	8	7	13	20	-	-
Lactose – lot 1	5	6	5	4	-	-
Lactose – lot 2	3	0	0	4	-	-
Lactose – lot 3	0	1	3	6	-	-
Lactose – lot 4	0	0	5	6	-	-
Lactose 0,1 mg (masse²)	2	2	16	0	-	-
Lactose – lot 1	0	1	6	-	-	-
Lactose – lot 2	1	0	3	-	-	-
Lactose – lot 3	0	0	4	-	-	-
Lactose – lot 4	1	1	3	-	-	-

volume¹ : la quantité d'excipient nécessaire pour 100 gélules taille 4 est de 21 mL, prélevé à l'aide d'une éprouvette graduée sans tassement.

Masse² : la quantité d'excipient nécessaire pour 100 gélules taille 4 est de 16,21 g, à l'aide d'une balance de précision

Les variations liées à une augmentation ou une baisse du nombre de gélules non conformes d'une semaine à l'autre peut s'expliquer par le caractère aléatoire de l'échantillonnage. En revanche on observe une dispersion initiale plus forte pour certains lots pouvant s'expliquer par les conditions opératoires de fabrication. Enfin une augmentation du nombre de gélules hors intervalle au cours du temps, est observée laissant présager une instabilité plus ou moins importante selon les excipients.

a. Gélules d'AAS 1 mg dans le mannitol

Les analyses réalisées sur 6 gélules de chacun des 4 lots produits indiquent une teneur moyenne conforme de 94,3%. Par ailleurs, l'uniformité de teneur semblerait correcte (mais ne porte que sur un échantillon de 6 gélules par lot). L'ensemble des gélules au J1 pour les 4 lots sont comprises dans l'intervalle à +/- 15% de la teneur moyenne (cf Annexe 20).

La figure 13 présente les teneurs moyennes de 4 lots de gélules d'AAS 0,1 mg dans le mannitol entre J1 et J21.

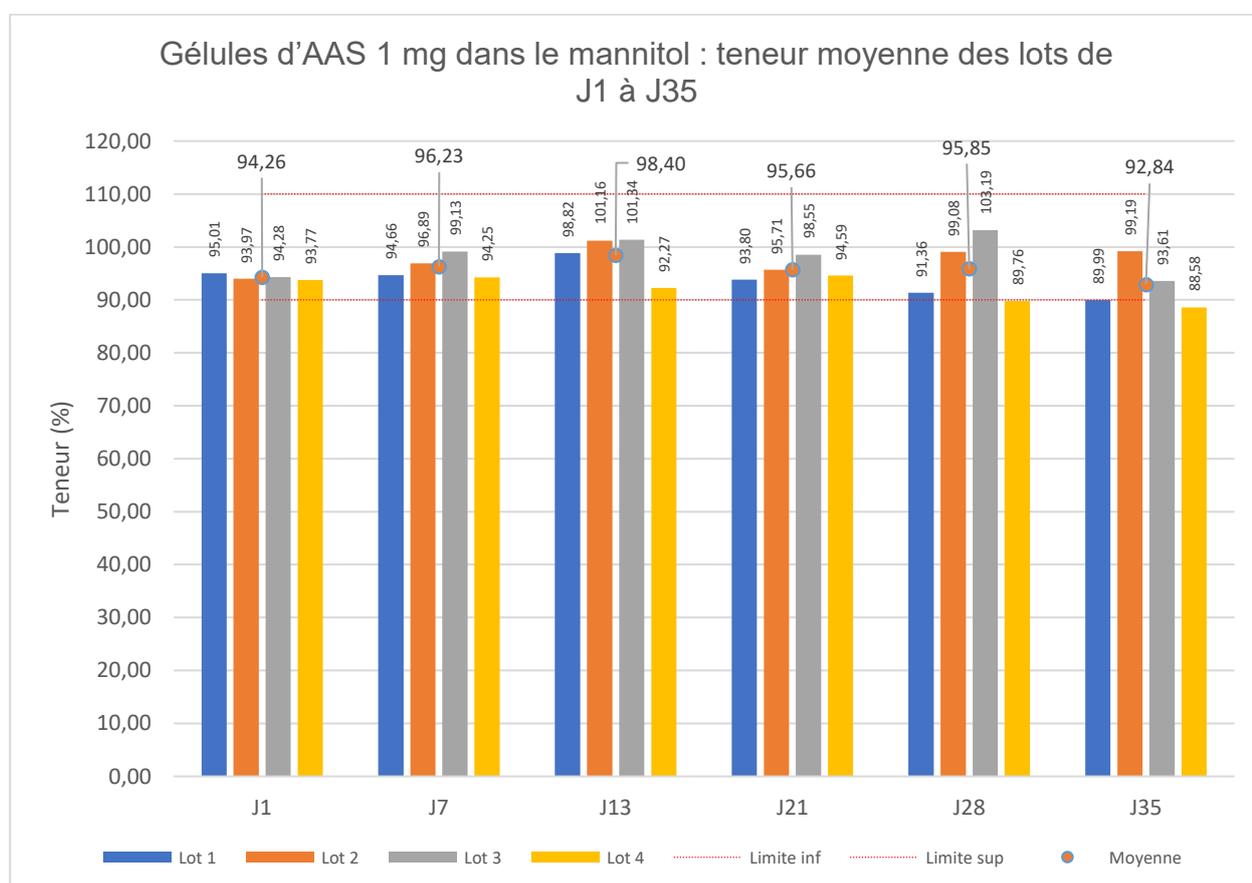


Figure 13 : Teneur moyenne des lots de gélules d'AAS 1 mg à partir de mannitol, de J1 à J35.

Cette représentation nous permet de voir que la teneur moyenne des lots reste stable entre J1 et J28. La teneur de certains lots semble augmenter au fil du temps, ce qui peut s'expliquer par des variations dues aux différents échantillonnages.

Afin d'avoir plus d'informations sur la répartition des teneurs individuelles dans chaque lot, le boxplot ci-dessous (Figure 14) présente la répartition des teneurs des gélules par lot et journée de dosage.

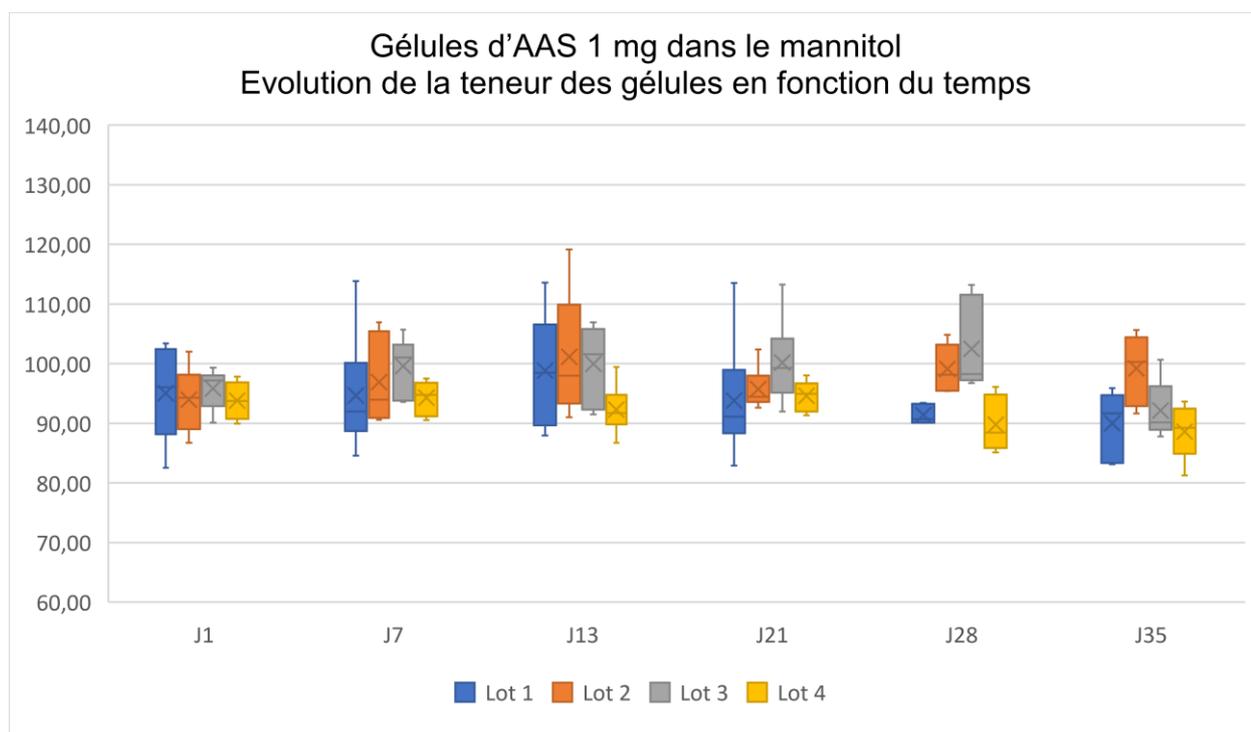


Figure 14 : Répartition de la teneur des gélules d'AAS 1 mg à partir de mannitol entre J1 et J35.

Le tableau 15 présente les évolutions des teneurs pour chaque lot par rapport au J1.

Tableau 15 : Evolution de la teneur des lots d'AAS 1 mg à base de mannitol, par rapport au J1.

	J7	J13	J21	J28	J35
Lot 1	-0,4%	4,0%	-1,3%	-3,9%	-5,3%
Lot 2	3,1%	7,7%	1,8%	5,4%	5,6%
Lot 3	5,2%	7,5%	4,5%	9,5%	-0,7%
Lot 4	0,5%	-1,6%	0,9%	-4,3%	-5,6%

Les résultats montrent une variabilité relativement importante des teneurs, à la fois entre les lots et au cours du temps. Le caractère aléatoire des échantillonnages permet de révéler une forte disparité au niveau des teneurs des gélules au sein de chaque lot, qui s'exprime sur chaque journée de dosage avec une variation de la teneur moyenne (à la hausse ou à la baisse). Aussi il est difficile de définir une tendance à la baisse ou non des teneurs après un mois.

Au bout d'un mois, cette formulation ne semblerait en tout cas pas subir une dégradation de plus de 10%.

b. Gélules d'AAS 1 mg dans l'amidon de maïs

Les analyses réalisées sur 6 gélules de chacun des 4 lots produits indiquent une teneur moyenne conforme de 97,8%. Par ailleurs, l'uniformité de teneur semblerait correcte (mais ne porte que sur un échantillon de 6 gélules par lot). L'ensemble des gélules dosées au J1 pour les 4 lots sont comprises dans l'intervalle à +/- 15% de la teneur moyenne (cf Annexe 20) à l'exception d'une gélule du lot 2 restant dans l'intervalle +/- 25%.

La figure 15 présente les teneurs moyennes de 4 lots de gélules d'AAS 1 mg dans l'amidon de maïs entre J1 et J21.

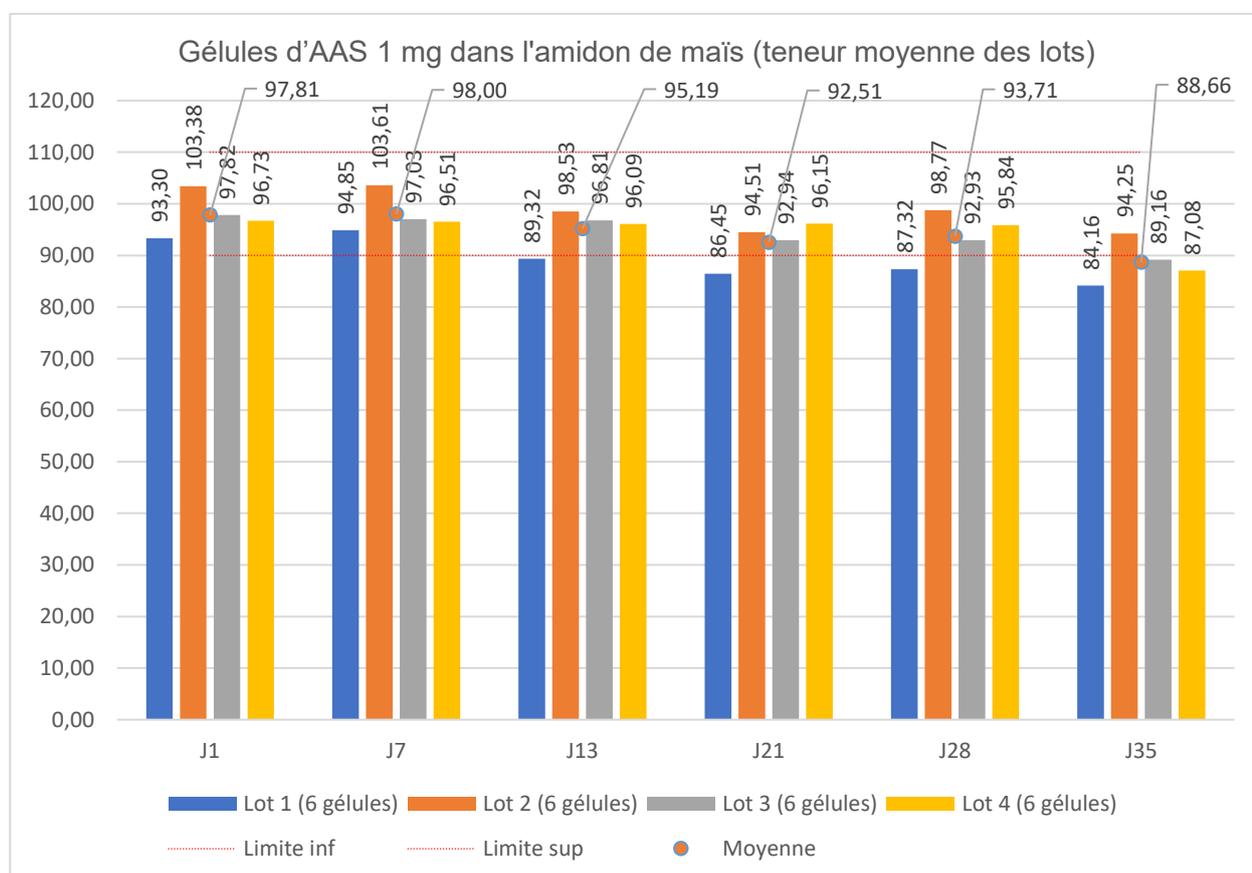


Figure 15 : Teneur moyenne des 4 lots de gélules d'AAS 1 mg à partir d'amidon de maïs, de J1 à J35.

Cette figure met en évidence qu'avec l'amidon de maïs la teneur moyenne de chaque lot est dans l'intervalle recherché jusque J7 pour les 4 lots. Le premier lot qui est semble-t-il sous dosé en comparaison des autres poursuit une baisse le faisant sortir de l'intervalle

(à compter du J13, permettant à seulement 3 lots d'être en moyenne dans l'intervalle jusque J28.

A J35 plus qu'un seul lot, celui initialement le plus dosé (103,88%) permet d'obtenir une teneur dans les limites à 94,25%.

La figure 16 présente pour chaque lot d'AAS 1 mg à partir d'amidon de maïs la répartition des teneurs des gélules.

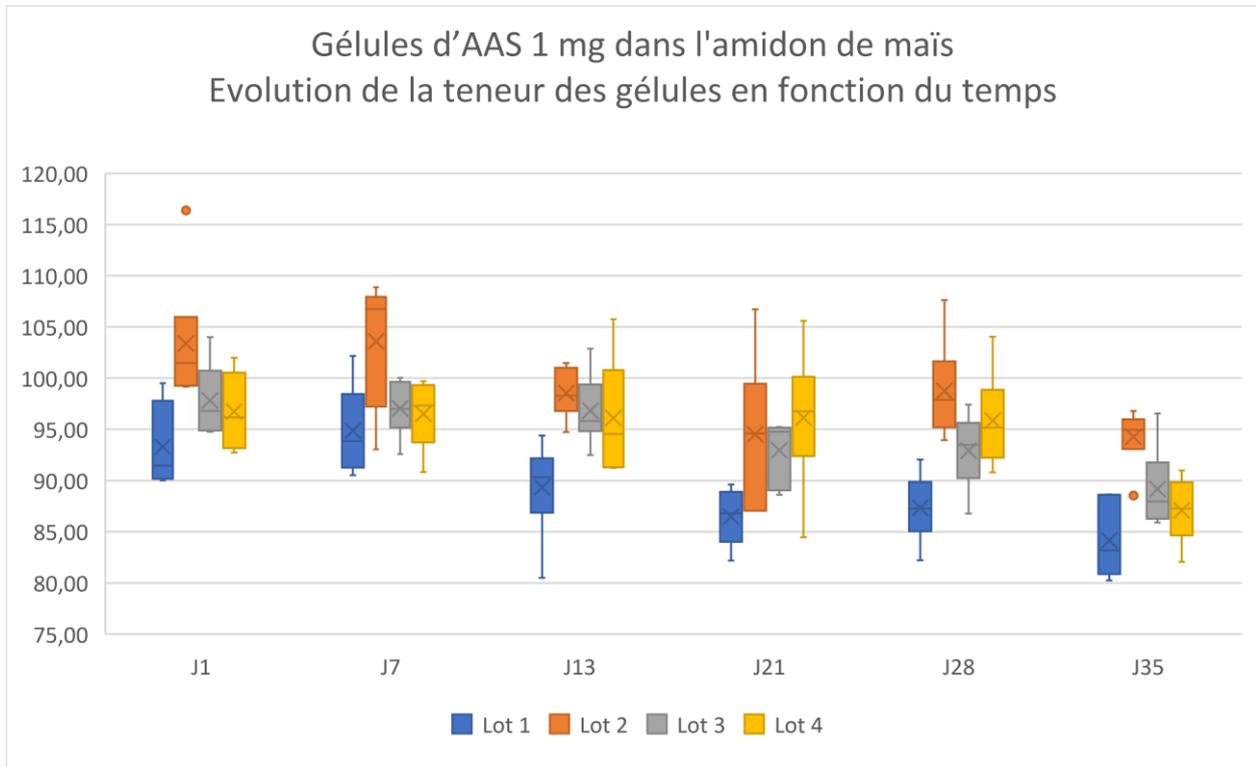


Figure 16 : Répartition de la teneur des gélules d'AAS 1 mg à partir d'amidon de maïs, entre J1 et J35.

Le tableau 16 présente les variations des teneurs pour chaque lot par rapport au J1, afin de déterminer le pourcentage de dégradation en fonction du temps.

Tableau 16 : Evolution des teneurs des lots d'AAS 1 mg à base d'amidon de maïs, par rapport au J1.

	J7	J13	J21	J28	J35
Lot 1	1,66%	-4,26%	-7,34%	-6,41%	-9,80%
Lot 2	0,22%	-4,70%	-8,58%	-4,46%	-8,83%
Lot 3	-0,81%	-1,04%	-4,99%	-5,01%	-8,86%
Lot 4	-0,23%	-0,66%	-0,60%	-0,92%	-9,98%

Ces résultats indiquent une moindre variabilité inter-lot que celle observée avec le mannitol et facilitent l'interprétation des résultats. Ils semblent montrer une dégradation progressive de l'AAS au cours du temps jusqu'à atteindre une dégradation de 9,4% en moyenne à J35.

Ces résultats indiqueraient donc que cette formulation reste stable sur une période de 35 jours en tenant compte du critère principal, à savoir une dégradation de l'AAS inférieure à 10% par rapport au J1.

c. Gélules d'AAS 0,1 mg dans le lactose

i) Préparation des gélules par mesure de la quantité de lactose en volume.

Les analyses réalisées sur 6 gélules de chacun des 4 lots produits indiquent une teneur moyenne de 111,3%. Par ailleurs, l'uniformité de teneur ne semblerait correcte (mais ne porte que sur un échantillon de 6 gélules par lot) que pour les lots 1, 3 et 4. Le lot 1 présente une gélule en dehors de l'intervalle, sans toutefois dépasser une différence de 25% par rapport à la teneur moyenne. Le lot 2 présente en revanche 2 gélules situées en dehors de l'intervalle.

Bien que la teneur moyenne se situe en dehors de la cible pour les lots 1 et 2 (+/- 10% de la teneur théorique) ces lots ont été gardés afin d'évaluer l'évolution des teneurs de l'AAS au fil du temps.

La figure 17 présente les teneurs moyennes de 4 lots de gélules d'AAS à 0,1 mg dans le lactose (21 mL de lactose) entre J1 et J21.

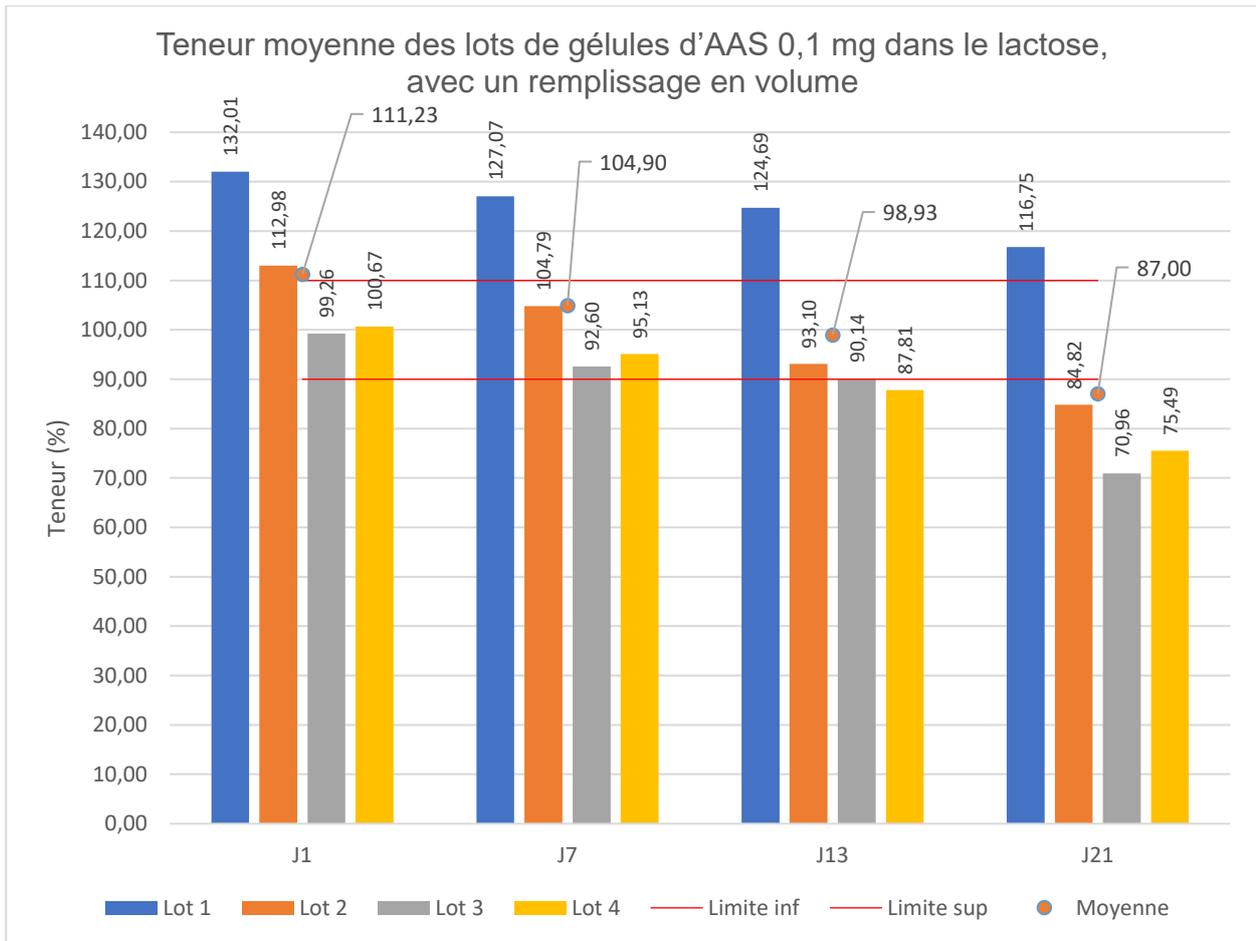


Figure 17 : Teneur moyenne des 4 lots de gélules d'AAS 0,1 mg à partir de lactose, de J1 à J21, fabriqués selon un remplissage en volume.

Dès J1 on peut voir une disparité importante des teneurs entre les différents lots. Le premier lot étant le plus dosé, avec une teneur moyenne de J1 à J21 dépassant les limites recherchées (passant de 132 à 117%). Seuls 2 lots semblent montrer en moyenne une teneur dans les normes sur la première semaine (lots 3 et 4).

La figure 18 présente la répartition des teneurs des gélules (6 échantillons par lot) par une représentation en box-plot.

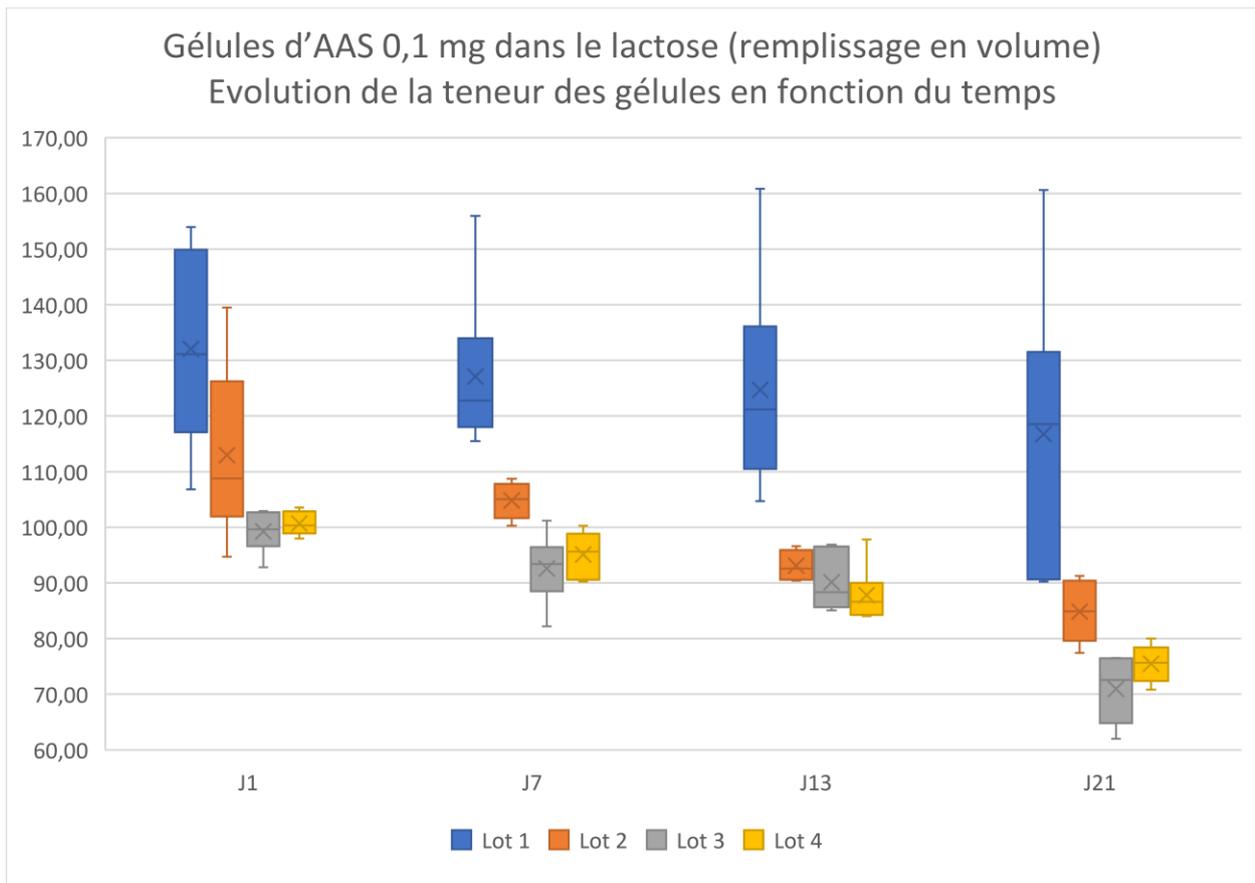


Figure 18 : Evolution de la teneur des gélules d'AAS 0,1 mg à partir de lactose, par lot de J1 à J21, fabriqués selon un remplissage en volume.

Cette représentation met en évidence les fortes disparités entre les lots. Le premier est celui qui présente la plus forte dispersion, contrairement aux lots 3 et 4 qui semblent plus homogènes. Le second paraît aussi étendu que le premier, au J1 avec une amélioration des valeurs à J7 pouvant s'expliquer par l'échantillonnage aléatoire des gélules. On observe une forte décroissance des teneurs dès le J7, avec une accentuation de celle-ci à J21 tous lots confondus, avec la totalité des gélules hors intervalle pour les lots 3 et 4.

ii) Préparation des gélules par mesure de la quantité de lactose en masse

Compte tenu des résultats obtenus en mesurant la quantité nécessaire de lactose en volume lors de la préparation de la poudre, il a été décidé de reproduire les essais en mesurant la quantité de lactose en masse. La quantité de lactose suffisante pour 100 gélules est de 16,21g.

Les analyses réalisées sur 6 gélules de chacun des 4 lots produits indiquent cette fois une teneur moyenne conforme de 105,3%. Par ailleurs, l'uniformité de teneur semblerait correcte (mais ne porte que sur un échantillon de 6 gélules par lot). L'ensemble des gélules au J1 pour les 1 et 3 lots sont comprises dans l'intervalle à +/- 15% de la teneur moyenne (cf Annexe 20).

Pour les lots 2 et 4, 1 gélule par lot est situé hors de cet intervalle sans toutefois dépasser l'intervalle +/- 25%.

Les résultats en termes de teneur moyenne et d'homogénéité des teneurs sont améliorés par la mesure de la quantité d'excipient en masse plutôt qu'en volume.

La figure 19 présente la teneur moyenne de 4 lots de gélules d'AAS 0,1 mg dans le lactose selon un procédé de fabrication consistant à peser la quantité nécessaire de lactose pour le remplissage des gélules.

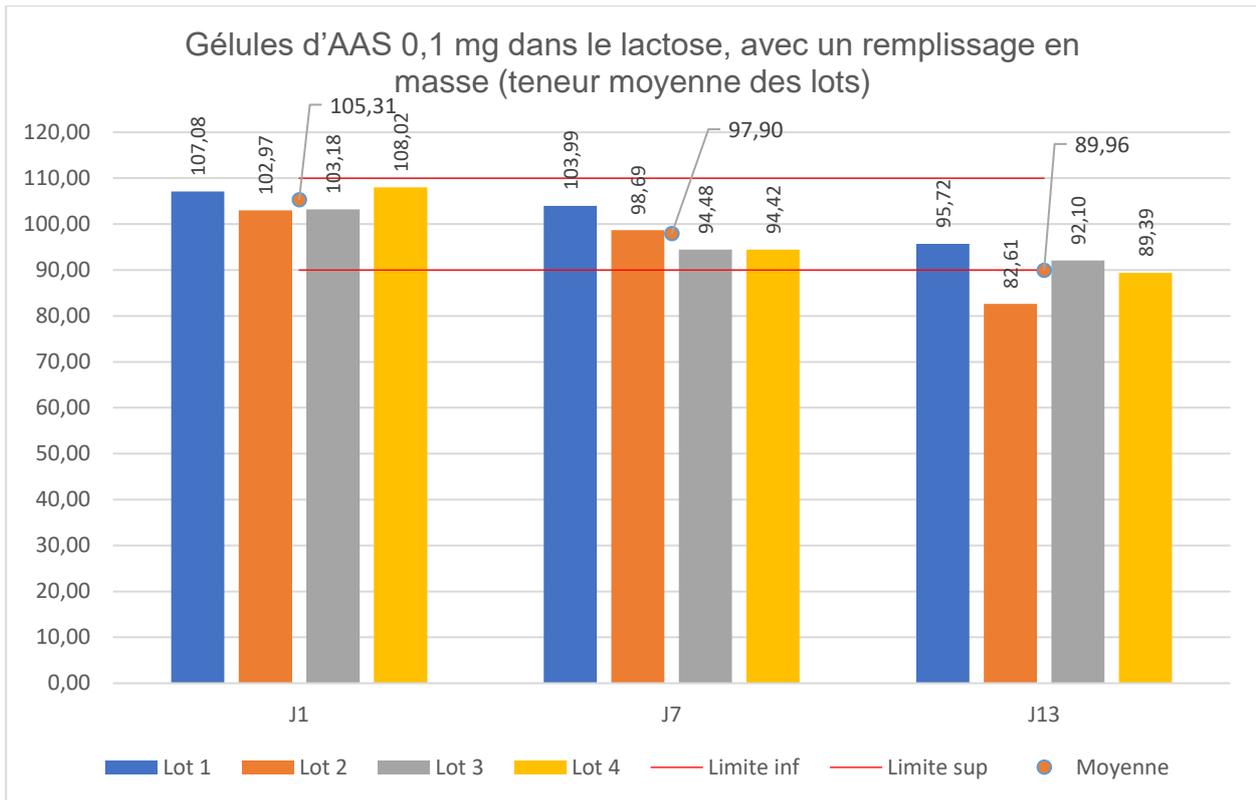


Figure 19 : Teneur moyenne des 4 lots de gélules d'AAS à 0,1 mg à partir de lactose, de J1 à J13, fabriqués selon un remplissage en masse.

Le box plot suivant (figure 20) présente la répartition des teneurs des gélules au sein de chaque lot.

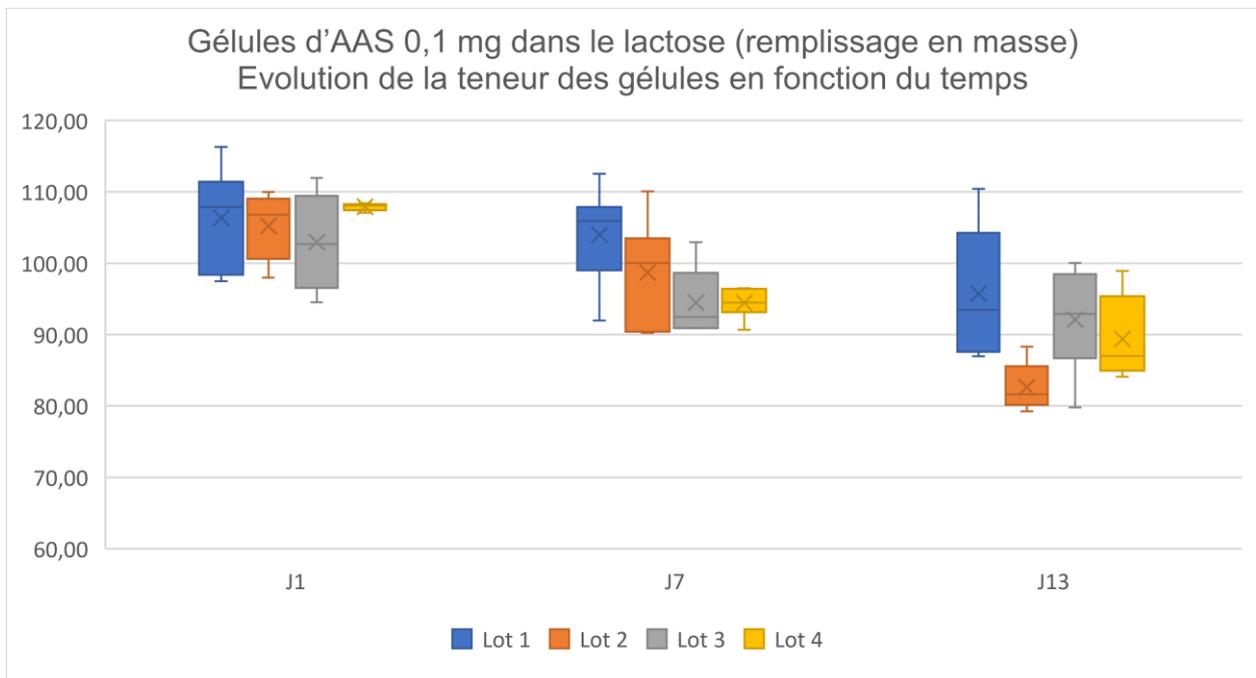


Figure 20 : Répartition de la teneur des gélules d'AAS à 0,1 mg à partir de lactose, par lot de J1 à J21, fabriqués selon un remplissage en volume

Les résultats montrent une stabilité à 7 jours, avec une baisse de la moyenne pour l'ensemble des lots à J13 mettant le lot 2 totalement hors intervalle.

Le tableau 17 présente l'évolution des teneurs des gélules d'AAS à 0,1 mg réalisés à partir du lactose avec les 2 procédés (remplissage en volume et en masse).

Tableau 17 : Evolution des teneurs des lots d'AAS 0,1 mg à base de lactose par rapport au J1.

Lactose (volume)	J7	J13	J21
Lot 1	-3,74%	-5,55%	-11,56%
Lot 2	-7,26%	-17,60%	-24,93%
Lot 3	-6,70%	-9,19%	-28,51%
Lot 4	-5,50%	-12,78%	-25,01%
Moyenne	-5,80%	-11,28%	-22,50%
Lactose (masse)	J7	J13	J21
Lot 1	-2,89%	-10,61%	-
Lot 2	-4,15%	-19,77%	-
Lot 3	-8,43%	-10,74%	-
Lot 4	-12,59%	-17,24%	-
Moyenne	-7,02%	-14,59%	

Les résultats ci-dessus montrent une hausse de la dégradation au fil du temps.

Pour les lots répartis en volume, on observe un pourcentage de dégradation de l'AAS de l'ordre de 5,8% au bout de 7 jours, puis 11,28% à J13 et enfin 22,50% à J21. Pour les lots répartis en masse, on observe une dégradation de l'ordre de 7,02% à J7 contre 14,59% à J13.

L'ensemble de ces résultats ne permet pas d'envisager une durée de stabilité supérieure à 7 jours (dégradation > 10% au-delà).

d. Gélules d'AAS 0,1 mg dans l'amidon de maïs

Compte tenu de la grande instabilité des gélules d'AAS 0,1 mg préparés dans le lactose et du fait que l'amidon de maïs permet, pour les gélules d'AAS 1 mg, d'obtenir les meilleurs résultats en termes de stabilité et d'homogénéité, nous avons finalement choisi d'évaluer l'intérêt de cet excipient pour la préparation des gélules d'AAS 0,1 mg.

De plus, contrairement au lactose, il ne présente pas d'effet notoire et il y aurait un intérêt à employer le même excipient pour les 2 dosages. Contrairement aux premiers essais réalisés pour les gélules d'AAS 0,1 mg avec l'amidon, la poudre a ici été préparée en prélevant une masse d'excipient en vue d'améliorer l'homogénéité des gélules (12,19 g pour 100 gélules).

La figure 21 présente la répartition des teneurs des 6 gélules de 4 lots d'AAS 0,1 mg à partir d'amidon de maïs.

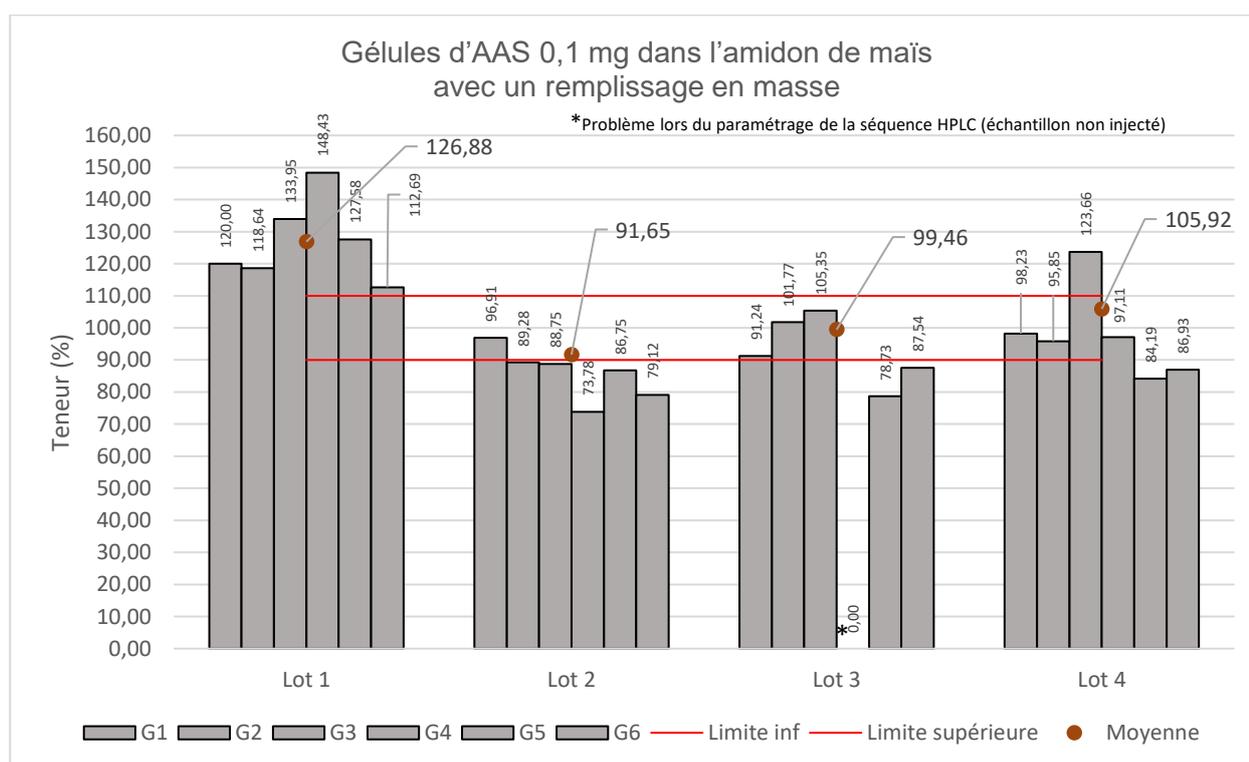


Figure 21 : Répartition des teneurs des 4 lots de gélules d'AAS 0,1 mg à partir d'amidon de maïs, selon un remplissage en masse.

Entre les 4 lots on observe une disparité concernant les teneurs moyennes, passant de 92% pour le lot 2 à 127% pour le lot 1. On peut observer des disparités intra lot avec des teneurs individuelles passant de 73 à 96% pour le lot 2, ou encore de 84 à 123% pour le lot 4

Sur un total de 6 gélules dosées par lot, aucune ne se situe dans l'intervalle fixé entre 90 et 110% pour le premier lot, contre seulement une gélule pour le second. Les lots suivants présentent respectivement 3 gélules et 4 gélules dans l'intervalle fixé avec néanmoins une étendue de 39,47 pour celui-ci. Il est à noter qu'une erreur au moment de l'analyse a conduit à n'avoir que 5 gélules dosées au lieu des 6 prévues pour le lot 3.

La répartition des gélules sur la base d'une pesée et non sur un volume mesuré ne permet pas d'améliorer l'homogénéité des teneurs pour l'amidon de maïs à ce dosage, sur la base de ces résultats. L'étude de stabilité sur cette formulation n'a ainsi pas été conduite.

Discussion et Conclusion

La première partie de ce travail a consisté à réévaluer une méthode de dosage de l'acide acétylsalicylique (AAS) préalablement mise au point au laboratoire de contrôle, afin de s'assurer que cette méthode est indicatrice de stabilité. Pour cela une étude de dégradation forcée a permis de tester diverses conditions physiques (exposition à la chaleur et aux UV) et chimiques (conditions en milieu acide, basique, et oxydant). L'ensemble de ces tests ont plus ou moins permis une dégradation de l'AAS en acide salicylique (AS) sans qu'aucune condition n'engendre l'apparition d'autres produits de dégradation.

Le caractère indicateur de stabilité de cette méthode a été démontré compte tenu de sa capacité à séparer le principe actif de son produit de dégradation (avec une résolution supérieure à 4), nous permettant de pouvoir quantifier sélectivement l'AAS.

Par la suite nous avons pu réaliser une étude de faisabilité pour la fabrication de gélules d'AAS à 0,1 et 1 mg, en sélectionnant un total de 4 excipients couramment utilisés pour la production des gélules au préparatoire du CHRU : l'amidon de maïs, la cellulose microcristalline, le lactose monohydrate et le mannitol.

Bien que la granulométrie des matières premières soit considérée comme un facteur influençant les phénomènes de mélange et de démixtion, celle-ci n'a pas pu être prise en compte, les seules données fournies par les fabricants ne permettant pas une comparaison entre les différents excipients. Par manque de matériel adéquat, il n'a pas été possible d'évaluer la taille des particules par diffraction laser tel que recommandé par la Pharmacopée Européenne (59).

Pour la fabrication des gélules, la préparation des poudres nécessaire s'est faite par la réalisation des différents mélanges entre l'AAS et les excipients à l'aide d'un mortier et d'un pilon sans utilisation d'un mélangeur automatique. Ce type de mélangeur aurait pu apporter une meilleure répétabilité dans le processus de fabrication des poudres, mais n'a pas été retenu compte tenu du volume d'une jarre (plusieurs litres) par rapport au volume nécessaire pour la fabrication d'un lot (seulement 21 mL de poudre). En ce qui

concerne la mesure de la quantité nécessaire d'excipient, nous avons procédé soit par mesure du volume soit par mesure de la masse.

Pour les gélules dosées à 1 mg, chacun des 4 excipients a permis d'obtenir des résultats conformes en termes d'uniformité de masse (+/- 10% de la masse moyenne de poudre contenue dans les gélules), et d'uniformité de teneur sur un échantillon de 10 gélules dosées.

Pour les gélules faiblement dosées à 0,1 mg d'AAS, la faible quantité de principe actif par gélule nous a conduit à fabriquer de manière extemporanée pour chaque formulation 1 gramme de poudre mère à 10% (dans l'excipient choisi) permettant de s'affranchir des limites imposées par la balance de précision.

Alors que l'ensemble des excipients permettent l'obtention d'une uniformité de masse conforme, les uniformités de teneur se trouvent en revanche fortement impactées par la faible quantité de principe actif par gélule avec une homogénéité variant selon les excipients. L'excipient présentant les meilleures propriétés en termes d'homogénéité est le lactose. Il a donc été retenu pour ces gélules dosées à 0,1 mg.

A partir de ces éléments nous avons procédé à la réalisation d'une étude de stabilité en retenant, pour les gélules à 1 mg, l'amidon de maïs, la cellulose et le mannitol (le lactose a été écarté compte tenu de son caractère d'excipient à effet notoire (58) et du fait de la présence d'autres alternatives). En revanche les résultats obtenus pour les gélules dosées à 0,1 mg nous ont conduit à retenir uniquement le lactose en guise d'excipient.

Une première étude de stabilité a été réalisée avec un contrôle des teneurs à J1 et J33, le critère principal définissant la stabilité étant la durée qui permet de maintenir une teneur en AAS supérieure à 90% de la teneur initiale.

Les gélules d'AAS 1 mg à partir de cellulose microcristalline ont un pourcentage de dégradation de l'AAS de l'ordre de 11,5%, contre 7,8% pour l'amidon de maïs et 3,6% pour le mannitol.

Bien que les gélules à base d'amidon de maïs disposent d'un taux de dégradation de l'AAS deux fois supérieur à celui du mannitol, on observe une meilleure homogénéité en ce qui concerne la dispersion des teneurs des gélules.

Concernant les essais réalisés pour les gélules d'AAS 0,1 mg à partir de lactose, on observe une dégradation au bout d'un mois de l'ordre de 23,1%.

Afin d'expliquer l'influence de la nature de l'excipient sur la stabilité des gélules, nous nous sommes intéressés à la teneur en eau de ceux-ci puisque la sensibilité de l'AAS à l'hydrolyse est connue (27).

La teneur en eau (% masse/masse) est évaluée à 11,07% d'eau (% m/m) pour l'amidon de maïs, 5,65% pour la cellulose microcristalline, 0,07% pour le mannitol et enfin 5,37% pour le lactose. L'excipient qui présente la plus faible teneur en eau (mannitol) est celui qui présenterait la meilleure stabilité. Pour les autres excipients, un autre facteur pourrait intervenir puisqu'il n'y pas de lien entre teneur en eau et pourcentage de dégradation.

Suite à l'étude de stabilité préliminaire à un mois, il a été décidé de réaliser une nouvelle étude avec des dosages hebdomadaires afin de permettre un meilleur suivi de l'évolution des teneurs d'AAS en fonction du temps sur un plus grand nombre de lots. Les résultats préliminaires ont permis de sélectionner pour les gélules d'AAS à 1 mg deux excipients : l'amidon de maïs et le mannitol. Pour les gélules d'AAS à 0,1 mg seul le lactose a été retenu, en apportant toutefois des évolutions au niveau du procédé de fabrication : mesure du volume d'excipient nécessaire en volume et en masse.

En ce qui concerne les lots de gélules d'AAS à 1 mg à base de mannitol, une dégradation de l'AAS de l'ordre de 5% sur 35 jours est observée mais de fortes variations des teneurs d'une semaine à l'autre liées à une distribution présentant une certaine hétérogénéité de la teneur des gélules est observée et compliquent l'interprétation des résultats.

En ce qui concerne l'amidon de maïs l'évolution des teneurs, semaine après semaine, semble plus cohérente, avec une hausse de la dégradation au fil du temps jusqu'à atteindre un pourcentage moyen de dégradation sur 4 lots de l'ordre de 9,4% à J35.

Enfin en ce qui concerne les gélules d'AAS 0,1 mg préparés avec le lactose, la mesure de la quantité d'excipient par pesée plutôt que par volume lors de la préparation des poudres conduit à une meilleure homogénéité entre les lots. Une dégradation rapide est mise en évidence, dépassant 10% entre 1 et 2 semaines après fabrication.

D'un point de vue général, en ce qui concerne la détermination de la date de péremption selon les BPP, il est indiqué que dans le cas où la réflexion sur la stabilité ne permet pas d'établir une date de péremption, il convient de fixer pour les gélules une date de péremption la plus proche de la date de fin de traitement ou 30 jours maximum (55). Les données préliminaires avaient montré au bout de 30 jours des pourcentages de dégradation ne permettant pas une stabilité. Ceci montre l'importance de réaliser une étude de stabilité afin de déterminer les conditions optimales de conservation et d'y apposer une date de péremption adaptée.

Compte tenu des résultats obtenus nous pouvons établir que la stabilité des gélules d'AAS à partir d'amidon de maïs pour le dosage à 1 mg serait de 30 jours, contre une stabilité de 7 jours pour les gélules à base de lactose à 0,1 mg d'AAS.

Malgré l'hétérogénéité des teneurs en AAS avec le mannitol, cet excipient semble être celui qui permet l'obtention de gélules d'ASS présentant une meilleure stabilité par rapport aux autres excipients testés.

Il serait peut-être intéressant d'améliorer le procédé de fabrication des gélules en utilisant cet excipient, afin d'améliorer les résultats obtenus en termes de teneur moyenne (objectif à 0,1 mg d'AAS), ainsi que d'uniformité de teneur cela pour développer une formulation qui pourrait obtenir une péremption supérieure à 1 mois.

Références bibliographiques

1. Inserm - Quand le coeur est privé d'oxygène - Disponible sur : <https://www.inserm.fr/dossier/infarctus-myocarde/> [Internet]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/infarctus-myocarde/>
2. Santé publique France - Maladies cardiovasculaires et accident vasculaire cérébral - Disponible sur : <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-cardiovasculaires-et-accident-vasculaire-cerebral/infarctus-du-myocarde/le-scan/#tabs>.
3. Vidal recommandations - Prise en charge Post-infarctus : évaluation initiale - Disponible sur : https://campus.vidal.fr/recommandations/4028/post_infarctus/prise_en_charge/.
4. Vidal - Substance active - Acide acétylsalicylique - Disponible sur : <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/acide-acetylsalicylique-20.html>.
5. HAS - Commission de la Transparence - Avis du 11 janvier 2017 - Acide acétylsalicylique. Disponible sur : https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-15514_KARDEGIC_PIS_RI_Avis2_CT15514.pdf [Internet]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-15514_KARDEGIC_PIS_RI_Avis2_CT15514.pdf
6. Pirmohamed M, et al. Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: Prospective analysis of 18 820 patients. *BMJ* 2004;329:15-9.
7. Pfaar O., Klimek L. (2006) Aspirin desensitization in aspirin intolerance: update on current standards and recent improvements. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 6: 161–166 [PubMed] [Google Scholar] [Internet]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4110834/#bibr16-2042098611422558>

8. Szmidt M, Grzelewska-Rzymowska I, Kowalski ML, Rozniecki J. Tolerance to acetylsalicylic acid (ASA) induced in ASA-sensitive asthmatics does not depend on initial adverse reaction. *Allergy*. avr 1987;42(3):182-5.
9. Widal F, Abrami P, Lermoyez J: First complete description of the aspirin idiosyncrasy-asthma-nasal polyposis syndrome (plus urticaria) - 1922 (with a note on aspirin desensitization). *J Asthma* 1987;24:297-300. [Internet]. Disponible sur: <https://karger.com/iaa/article/163/1/1/167375/Mechanisms-of-Aspirin-Intolerant-Asthma>
10. Samter M, Beers RF Jr: Intolerance to aspirin. Clinical studies and consideration of its pathogenesis. *Ann Intern Med* 1968;68:975-983. [Internet]. Disponible sur: <https://karger.com/iaa/article/163/1/1/167375/Mechanisms-of-Aspirin-Intolerant-Asthma>
11. Samter M, Beers RF Jr. Concerning the nature of intolerance to aspirin. *J Allergy*. 1967 Nov;40(5):281-93. doi: 10.1016/0021-8707(67)90076-7. PMID: 5235203.
12. Neighbour H. Mechanisms of Aspirin-Intolerant Asthma: Identifying Inflammatory Pathways in the Pathogenesis of Asthma. *Int Arch Allergy Immunol*. 16 nov 2013;163(1):1-2.
13. Stevenson DD. Diagnosis, prevention, and treatment of adverse reactions to aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Allergy Clin Immunol*. oct 1984;74(4 Pt 2):617-22.
14. Dictionnaire médical avec atlas anatomique. 6e éd. Masson: J. Quevauilliers; 2009. Désensibilisation; p. 269 [Internet]. Disponible sur: https://sofia.medicalistes.fr/spip/IMG/pdf/Dictionnaire_medical_Avec_Atlas_anatomique_6e_edition_-_Masson_.pdf
15. Hacard F, Bérard F. Induction de tolérance aux médicaments : D'excellents résultats quand le médicament est indispensable. *Larevuedupraticien*. sept 2015;Vol.65:p986.
16. Kang SY, Seo J, Kang HR. Desensitization for the prevention of drug hypersensitivity reactions. *Korean J Intern Med*. mars 2022;37(2):261-70.

17. Wong JT, Nagy CS, Krinzman SJ, MacLean JA, Bloch KJ. Rapid oral challenge-desensitization for patients with aspirin-related urticaria-angioedema. *J Allergy Clin Immunol*. 1 mai 2000;105(5):997-1001.
18. Silberman S, Neukirch-Stoop C, Steg PG. Rapid desensitization procedure for patients with aspirin hypersensitivity undergoing coronary stenting. *Am J Cardiol*. 15 févr 2005;95(4):509-10.
19. Christou A, Kafkas N, Marinakos A, Katsanos S, Papanikitas K, Patsilinos S. Rapid desensitisation of patients with aspirin allergy who undergo coronary angioplasty. *Hell J Cardiol HJC Hell Kardiologike Epitheorese*. 2011;52(4):307-10.
20. Cortellini G, Romano A, Santucci A, Barbaud A, Bavbek S, Bignardi D, et al. Clinical approach on challenge and desensitization procedures with aspirin in patients with ischemic heart disease and nonsteroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity. *Allergy*. mars 2017;72(3):498-506.
21. Rossini R, Iorio A, Pozzi R, Bianco M, Musumeci G, Leonardi S, Lettieri C, Bossi I, Colombo P, Rigattieri S, Dossena C, Anzuini A, Capodanno D, Senni M, Angiolillo DJ. Aspirin Desensitization in Patients With Coronary Artery Disease: Results of the Multicenter ADAPTED Registry (Aspirin Desensitization in Patients With Coronary Artery Disease). *Circ Cardiovasc Interv*. 2017 Feb;10(2):e004368. doi: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.116.004368. PMID: 28193678. [Internet]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28193678/>
22. Jackson M, Callaghan S, Stapleton J, et al. Rapid Aspirin Desensitization is Safe and Feasible in Patients With Stable and Unstable Coronary Artery Disease: A Single-Center Experience. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. 2019;24(4):359-364. doi:10.1177/1074248418823016 [Internet]. Disponible sur: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1074248418823016>
23. Foulon, A. (2018). Etude de la faisabilité et de la stabilité de doses faibles d'acide acétylsalicylique destinées à la désensibilisation de patients allergiques [Mémoire non publié].

24. Article 8, Arrêté du 6 avril 2011 relatif au management de la qualité de la prise en charge médicamenteuse et aux médicaments dans les établissements de santé. JORF n°0090 du 16 avril 2011, (Mise à jour le 15 octobre 2022) [Internet]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000023865866>
25. Uniformité de masse des préparations unidoses, monographie 20905. Ph.Eur 11.2 Strasbourg, France : Conseil de l'Europe; 2023.
26. Uniformité de teneur des préparations unidoses, monographie 20906. Ph.Eur 11.2 Strasbourg, France : Conseil de l'Europe; 2023.
27. Acide acétylsalicylique, monographie 0309. Ph.Eur 11.2 Strasbourg, France : Conseil de l'Europe; 2023.
28. GERPAC. Guide méthodologique des études de stabilité des préparations. 1ère édition - Avril 2013 - Page 27 [Internet]. Disponible sur: https://www.gerpac.eu/IMG/pdf/guide_de_stabilite_vf_avril2013.pdf
29. Chast F. Histoire de l'aspirine. La revue de biologie médicale. 2017 Juillet;337(1):49-57.
30. One hundred years of aspirin - The Lancet [Internet]. [cité 28 août 2023]. Disponible sur: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(97\)07087-6/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(97)07087-6/fulltext)
31. Lévesque H, Lafont O. L'aspirine à travers les siècles: Rappel historique. Rev Médecine Interne. 1 mars 2000;21:S8-17.
32. Marko V. From Aspirin to Viagra: Stories of the Drugs That Changed the World. Springer Nature; Berlin, Germany: 2020. [Google Scholar].
33. ANSM - RCP - ASPIRINE DU RHONE 500 mg, comprimé - Disponible sur: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/frames.php?specid=68799614&typedoc=N&ref=N0186185.htm>.
34. Recommandations ANSM, HAS. Bon usage des antiagrégants plaquettaires. Juin 2012.

35. Anekar AA, Hendrix JM, Cascella M. WHO Analgesic Ladder. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cité 26 sept 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554435/>
36. ANSM - RCP - Kardegic 75 mg - Disponible sur: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/frames.php?specid=64755969&typedoc=R&ref=R0394784.htm>.
37. Li JP, Guo JM, Shang EX, Zhu ZH, Liu Y, Zhao BC, et al. Quantitative determination of five metabolites of aspirin by UHPLC-MS/MS coupled with enzymatic reaction and its application to evaluate the effects of aspirin dosage on the metabolic profile. *J Pharm Biomed Anal.* 10 mai 2017;138:109-17.
38. ANSM - RCP - Aspirine Arrow 75 mg - Disponible sur: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/frames.php?specid=66598317&typedoc=R&ref=R0408321.htm>.
39. Residual cyclooxygenase activity of aspirin-acetylated COX-2 forms 15R-prostaglandins that inhibit platelet aggregation - PMC [Internet]. [cité 27 août 2023]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6355089/>
40. Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: A full in vitro analysis | PNAS [Internet]. [cité 26 août 2023]. Disponible sur: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.96.13.7563>
41. Vane JR, Botting RM. The mechanism of action of aspirin. *Thromb Res.* 15 juin 2003;110(5-6):255-8.
42. Tanasescu S, Lévesque H, Thuillez C. Pharmacologie de l'aspirine. *Rev Médecine Interne.* 1 mars 2000;21:S18-26.
43. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs - PubMed [Internet]. [cité 27 août 2023]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5284360/>

44. Izzedine H, Launay-Vacher V, Deray G. Complications rénales des anti-inflammatoires non stéroïdiens. Rev Rhum. 1 déc 2004;71:S167-72.
45. Szczeklik A. The cyclooxygenase theory of aspirin-induced asthma. Eur Respir J. mai 1990;3(5):588-93.
46. Cowburn AS, Sladek K, Soja J, Adamek L, Nizankowska E, Szczeklik A, et al. Overexpression of leukotriene C4 synthase in bronchial biopsies from patients with aspirin-intolerant asthma. J Clin Invest. 15 févr 1998;101(4):834-46.
47. Amidon de maïs, monographie 0344. Ph.Eur 11.2 Strasbourg, France : Conseil de l'Europe; 2023.
48. Cellulose microcristalline, monographie 0316. Ph.Eur 11.2 Strasbourg, France : Conseil de l'Europe; 2023.
49. Mannitol, monographie 0559. Ph.Eur 11.2 Strasbourg, France : Conseil de l'Europe; 2023.
50. Lactose monohydrate, monographie 0187. Ph.Eur 11.2 Strasbourg, France : Conseil de l'Europe; 2023.
51. Perte à la dessiccation, monographie 20232. Ph.Eur 11.2 Strasbourg, France : Conseil de l'Europe; 2023.
52. ISO 760:1978 Dosage de l'eau — Méthode de Karl Fischer [Internet]. Disponible sur: <https://www.iso.org/fr/standard/5037.html>
53. EMA. European Medicines Agency. ICH Q3B (R2) Impurities in new drug products - Scientific guideline. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q3b-r2-impurities-new-drug-products-scientific-guideline>
54. EMA. European Medicines Agency. ICH Q1A (R2) Stability testing of new drug substances and products - Scientific guideline. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q1a-r2-stability-testing-new-drug-substances-drug-products-scientific-guideline>

55. EMA. European Medicines Agency. ICH Q1B Photostability testing of new active substances and medicinal products - Scientific guideline. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q1b-photostability-testing-new-active-substances-medicinal-products-scientific-guideline>
56. Acide salicylique, monographie 0366. Ph.Eur 11.2 Strasbourg, France : Conseil de l'Europe; 2023.
57. Bonnes pratiques de préparation Edition 2023. ANSM - Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [En ligne]. Disponible sur <https://ansm.sante.fr/uploads/2023/08/02/20230802-bonnes-pratiques-de-preparation-08-2023.pdf>.
58. ANSM - Répertoire des médicaments génériques - Annexe III, Lactose, p749/759 - Disponible sur : <https://ansm.sante.fr/uploads/2021/03/09/47b2dc40ecb31ecacb9fcd93ed07d7ac.pdf> .
59. Analyse de la taille des particules par diffraction de la lumière laser, monographie 20931. Ph.Eur 11.2 Strasbourg, France : Conseil de l'Europe; 2023.

Annexes

*Annexe 1 : Spécialités contenant de l'acide acétylsalicylique, Base de données publique
du médicament, le 12/07/2023*

ACIDE ACÉTYLSALICYLIQUE EG LABO CONSEIL 500 mg, comprimé
ACIDE ACÉTYLSALICYLIQUE VIATRIS 100 mg, comprimé gastro-résistant
ASPIRINE 500 mg VITAMINE C OBERLIN, comprimé effervescent
ASPIRINE ARROW 100 mg, comprimé gastro-résistant
ASPIRINE DU RHÔNE 500 mg, comprimé
ASPIRINE DU RHONE 500 mg, comprimé à croquer
ASPIRINE pH 8 500 mg, comprimé gastro-résistant
ASPIRINE PROTECT 100 mg, comprimé gastro-résistant
ASPIRINE PROTECT 300 mg, comprimé gastro-résistant
ASPIRINE UPSA 500 mg, comprimé effervescent
ASPIRINE UPSA TAMPONNEE EFFERVESCENTE 1000 mg, comprimé
effervescent
ASPRO 320 mg, comprimé
ASPRO 500 EFFERVESCENT, comprimé effervescent
ASPROFLASH 500 mg, comprimé enrobé
RESITUNE 100 mg, comprimé gastro-résistant
RESITUNE 75 mg, comprimé gastro-résistant

Annexe 2 : Etude de dégradation forcée en milieu acide

Bain marie à 60°C	N°1	N°2	N°3
S₂ : 400 µg.mL ⁻¹	1 mL	1 mL	1 mL
HCl 0,5 N	-	1 mL	-
HCl 1 N	-	-	1 mL
Dégradation		60 °C pendant 1 heure	
Neutralisation par			
NaOH 0,5 N	-	1 mL	-
NaOH 1 N	-	-	1 mL
PM : Tp/ACN (80/20)	1 mL	1 mL	1 mL

La solution est diluée au 1/10^{ème} pour obtenir les conditions égales à la phase mobile.

Annexe 3 : Préparation des échantillons en milieu basique : 0.1N, 0.5N, 1N

Bain marie à 60°C	N°5	N°6	N°7	N°8
S₂ : 400 µg.mL ⁻¹	1 mL	1 mL	1 mL	0 mL
NaOH 0,1 N	1 mL	-	-	-
NaOH 0,5 N	-	1 mL	-	-
NaOH 1 N	-	-	1 mL	1 mL
Dégradation		60 °C pendant 1 heure		
Neutralisation par				
HCl 0,1 N	1 mL	-	-	-
HCl 0,5 N	-	1 mL	-	-
HCl 1 N	-	-	1 mL	1 mL
PM : Tp/ACN (80/20)	1 mL	1 mL	1 mL	2 mL

La solution est diluée au 1/10^{ème} pour obtenir les conditions égales à la phase mobile.

Annexe 4 : Préparation des échantillons, en milieu basique : 0.1N et 1N, 8 prélèvements en 1 heure

Temps	T0	T5	T10	T15	T20	T30	T45	T60
S₂ : 400 µg.mL ⁻¹	Ajout 2 mL	-	-	-	-	-	-	-
<u>NaOH 0,1 ou 1 N</u>	Ajout 2 mL	-	-	-	-	-	-	-
Bain marie 60°C	T0	T5	T10	T15	T20	T30	T45	T60
Tube à hémolyse	A	B	C	D	E	F	G	H
Prélèvement S ₂	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL
<u>Neutralisation par</u>	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL
<u>HCl 0,1 ou 1 N</u>	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL
Tp/ACN (80/20)	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL	50µL

La solution est diluée au 1/10^{ème} pour obtenir les conditions égales à la phase mobile.

Annexe 5 : Préparation des échantillons, en milieu oxydant (H₂O₂ 3%)

Temps	T0	T5	T10	T15	T20	T30	T60	T120	T180
S₂ : 400 µg.mL ⁻¹	Ajout 2 mL	-	-	-	-	-	-	-	-
H ₂ O ₂		-	-	-	-	-	-	-	-
30% ou 10% ou 3%	Ajout 2 mL								
Bain marie 60°C	T0	T5	T10	T15	T20	T30	T60	T120	T180
Tube à hémolyse	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
Prélèvement S ₂	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL
Tp/ACN (80/20)	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL	100µL

La solution est diluée au 1/10^{ème} pour obtenir les conditions égales à la phase mobile.

Annexe 6 : Préparation des échantillons pour les essais d'exposition à la chaleur ou UV

Temps	T0	T60	T120	T180	T240	T300	T360
S ₅ : 100 µg.mL ⁻¹	2 mL	-	-	-	-	-	-

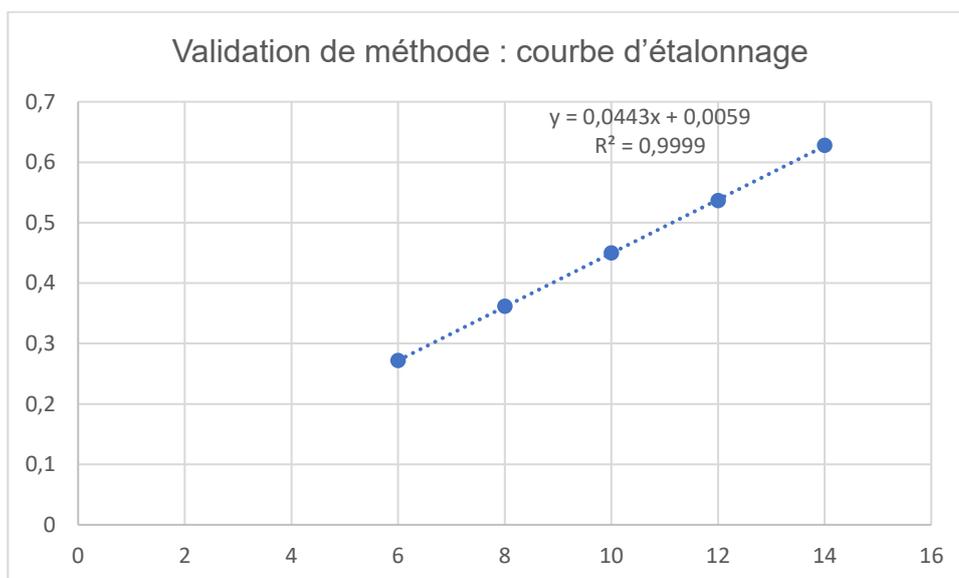
Dégradation par la chaleur (Bain marie à 80°C)

ou

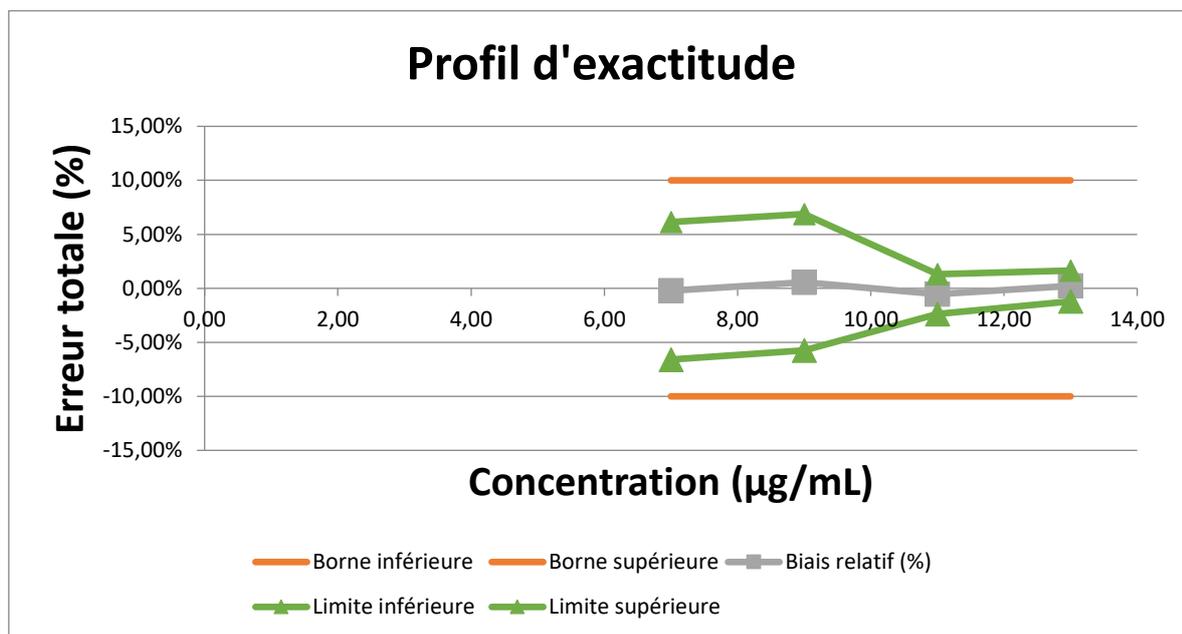
Dégradation par les UV (Utilisation lampe UV Xnm ou Ynm)

Vials	R	S	T	U	V	W	X
1 – Tp phosphate	800µL						
2 – ACN	100µL						
3 – Solution dégradée	100µL						

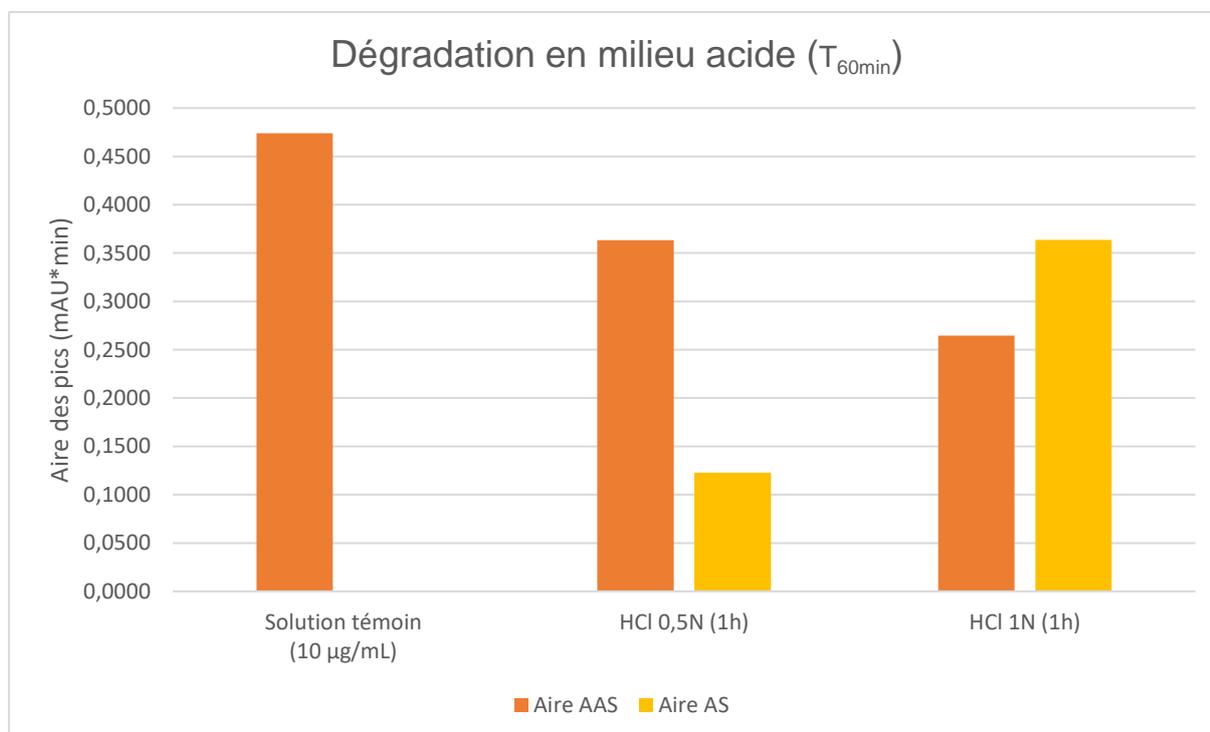
Annexe 7 : Courbe d'étalonnage obtenue lors de la validation de méthode.



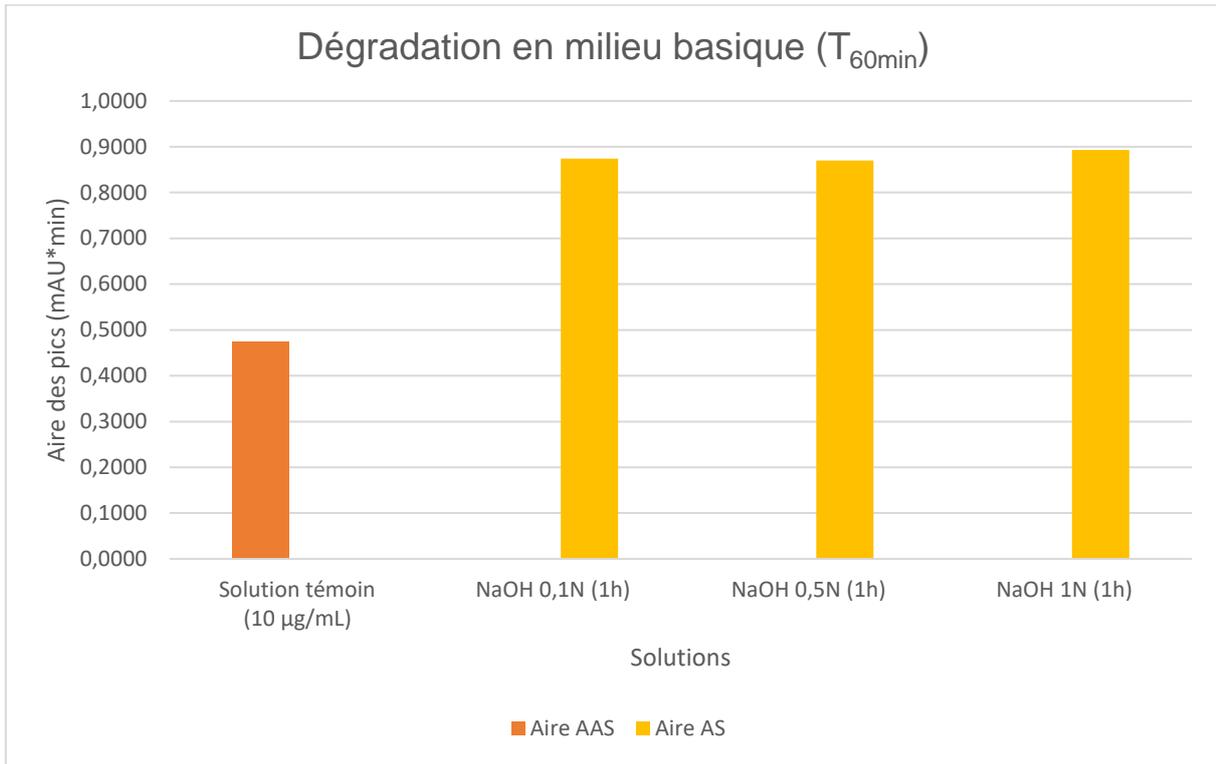
Annexe 8 : Profil d'exactitude de la méthode CLHP pour le dosage de l'aspirine.



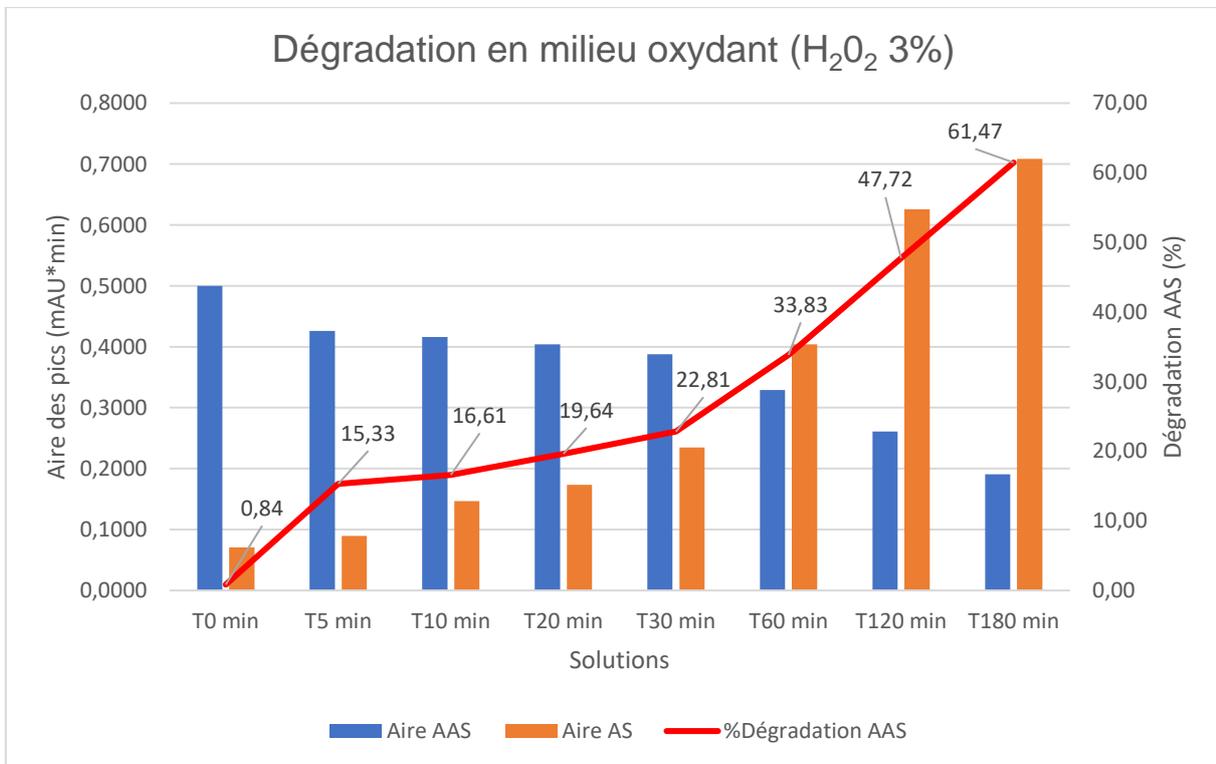
Annexe 9 : Dégradation en milieu acide (0,5N et 1N) pendant 1 heure.



Annexe 10 : Dégradation en milieu basique (1N, 0,5N, 0,1N) pendant 1 heure.



Annexe 11 : Dégradation en milieu oxydant (H₂O₂ 3%) pendant 3 heures.



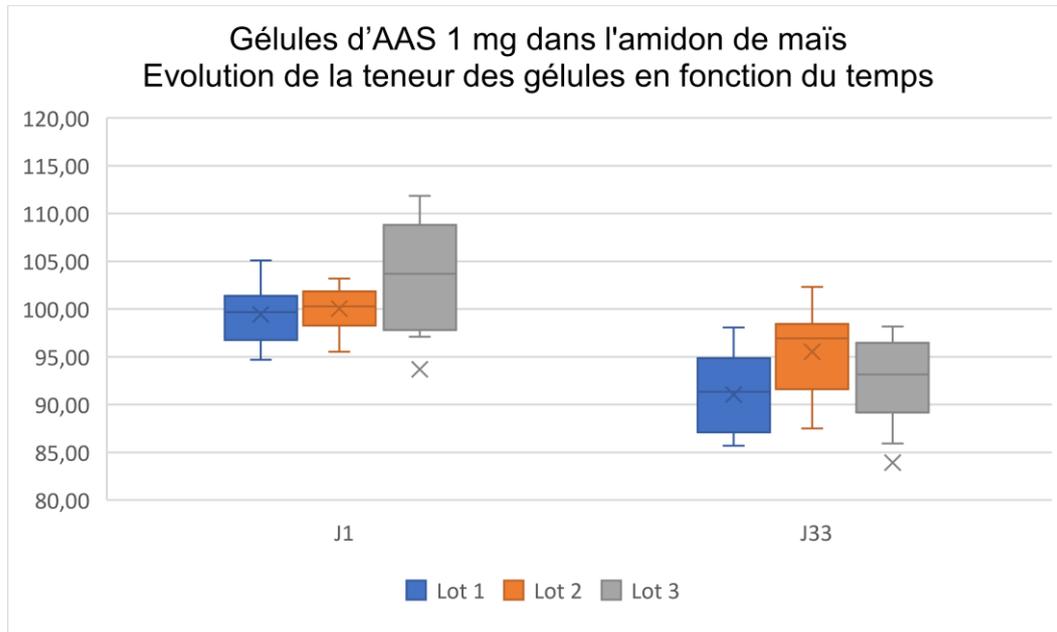
Annexe 12 : Uniformité de masse (g) des lots de faisabilité à 1 mg d'AAS

Lot	Amidon de maïs	Cellulose microcristalline	Lactose monohydrate	Mannitol
G1	0,1008	0,0694	0,1631	0,1182
G2	0,0978	0,0719	0,1635	0,1151
G3	0,0954	0,0759	0,1594	0,1155
G4	0,1016	0,0694	0,1605	0,1135
G5	0,0981	0,0709	0,1606	0,1215
G6	0,0950	0,0727	0,1588	0,1146
G7	0,1019	0,0718	0,1630	0,1107
G8	0,0986	0,0703	0,1605	0,1145
G9	0,0942	0,0693	0,1601	0,1224
G10	0,0975	0,0734	0,1584	0,1151
G11	0,0929	0,0655	0,1526	0,1214
G12	0,0959	0,0695	0,1549	0,1142
G13	0,0936	0,0753	0,1614	0,1134
G14	0,0995	0,0744	0,1666	0,1150
G15	0,1009	0,0703	0,1513	0,1145
G16	0,0979	0,0723	0,1616	0,1211
G17	0,0989	0,0704	0,1645	0,1201
G18	0,0974	0,0703	0,1612	0,1216
G19	0,1010	0,0722	0,1627	0,1177
G20	0,0983	0,0739	0,1608	0,1103
Min	0,0929	0,0655	0,1513	0,1103
Moyenne	0,09786	0,07146	0,16028	0,11652
Max	0,1019	0,0759	0,1666	0,1224
Ecart type	0,0027	0,0024	0,0038	0,0037
CV	2,7458	3,4267	2,3465	3,1932
[Borne inf ; ; Borne sup]	0,0881 0,1076	0,0643 0,0786	0,1442 0,1763	0,1049 0,1282

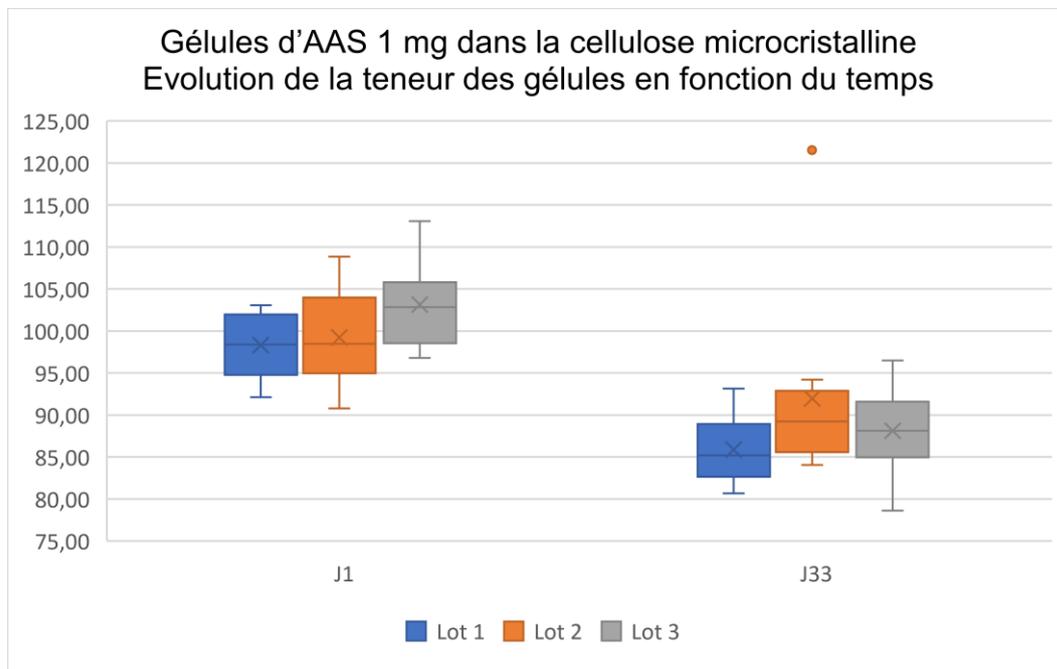
Annexe 13 : Uniformité de masse (g) des lots de faisabilité à 0,1 mg d'AAS

Lot	Amidon de maïs	Cellulose microcristalline	Lactose monohydrate	Mannitol
G1	0,1038	0,0739	0,1613	0,1289
G2	0,1046	0,0755	0,1597	0,1261
G3	0,1043	0,0751	0,1616	0,1373
G4	0,1013	0,0751	0,1583	0,1336
G5	0,1048	0,0744	0,1613	0,1396
G6	0,1015	0,0743	0,1594	0,1325
G7	0,1024	0,0712	0,1606	0,1363
G8	0,1032	0,0762	0,1603	0,1302
G9	0,1059	0,0745	0,1623	0,1343
G10	0,1054	0,0726	0,1600	0,1392
G11	0,1082	0,0743	0,1617	0,1319
G12	0,1031	0,0759	0,1583	0,1384
G13	0,1028	0,0748	0,1644	0,1368
G14	0,1063	0,0758	0,1623	0,1360
G15	0,1013	0,0766	0,1602	0,1368
G16	0,1085	0,0731	0,1598	0,1293
G17	0,1035	0,0761	0,1547	0,1353
G18	0,1044	0,0730	0,1600	0,0,1361
G19	0,1057	0,0743	0,1586	0,1328
G20	0,1016	0,0741	0,1615	0,1277
Min	0,1013	0,0712	0,1547	0,1261
Moyenne	0,10413	0,07454	0,16032	0,13384
Max	0,1085	0,0766	0,1644	0,1396
Ecart type	0,0021	0,0014	0,0020	0,0040
CV	2,0298	1,8116	1,2463	2,9877
[Borne inf ;	0,0937	0,0671	0,1443	0,1205
; Borne sup]	0,1145	0,0820	0,1763	0,1472

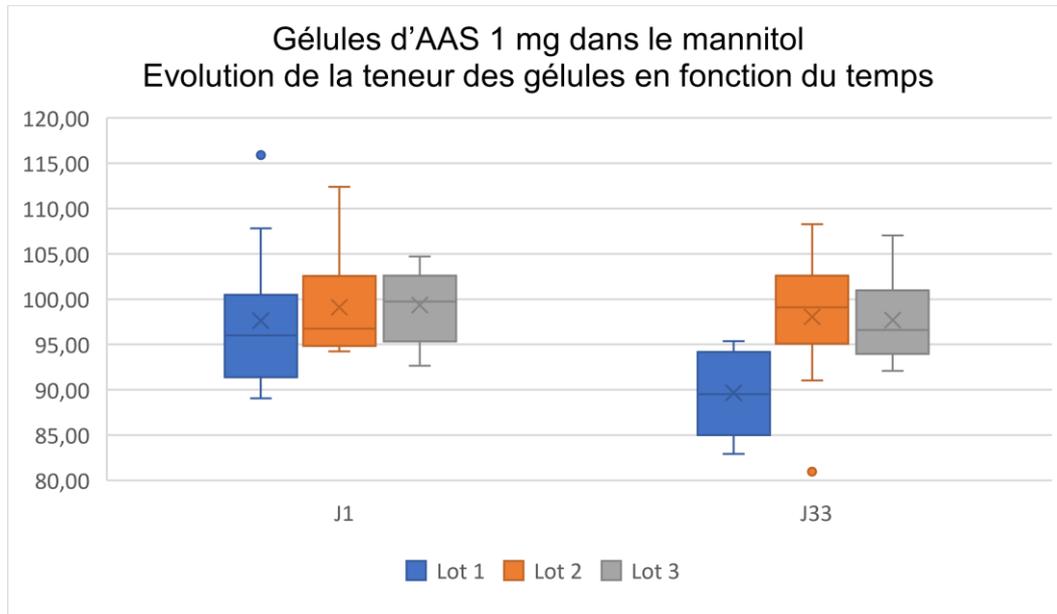
Annexe 14 : Répartition des teneurs de 3 lots d'AAS à partir d'amidon de maïs à 1 mg entre J1 et J33 (échantillons = 10 gélules).



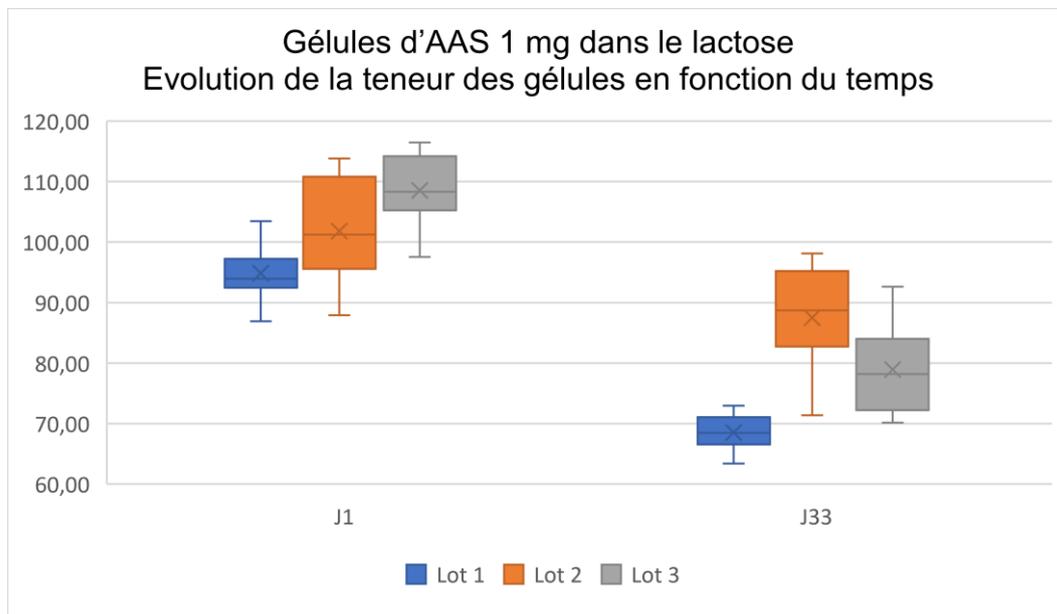
Annexe 15 : Répartition des teneurs de 3 lots d'AAS à partir de cellulose microcristalline à 1 mg entre J1 et J33 (échantillons = 10 gélules).



Annexe 16 : Répartition des teneurs de 3 lots d'AAS à partir de mannitol à 1 mg entre J1 et J33 (échantillons = 10 gélules).



Annexe 17 : Répartition des teneurs de 3 lots d'AAS à partir de lactose à 0,1 mg entre J1 et J33 (échantillons = 10 gélules).



Annexe 18 : Uniformités de masse (g) des lots de « l'étude préliminaire »

Excipient	AAS 1 mg (amidon maïs)			AAS 1 mg (cellulose microcristalline)			AAS 1 mg (mannitol)			AAS 0,1 mg (lactose)		
	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 1	Lot 2	Lot 3
G1	0,1036	0,1063	0,1041	0,0772	0,0735	0,0694	0,1269	0,1383	0,1261	0,2339	0,2310	0,2421
G2	0,1053	0,1014	0,0963	0,0738	0,0740	0,0684	0,1199	0,1313	0,1264	0,2315	0,2373	0,2450
G3	0,1059	0,1014	0,1041	0,0750	0,0750	0,0665	0,1227	0,1294	0,1238	0,2400	0,2365	0,2414
G4	0,1065	0,1009	0,1086	0,0788	0,0776	0,0649	0,1194	0,1339	0,1217	0,2416	0,2343	0,2425
G5	0,1054	0,1121	0,1035	0,0747	0,0776	0,0663	0,1197	0,1300	0,1252	0,2409	0,2275	0,2406
G6	0,1020	0,1020	0,1063	0,0756	0,0766	0,0679	0,1293	0,1313	0,1259	0,2333	0,2378	0,2410
G7	0,1027	0,1014	0,1153	0,0748	0,0758	0,0675	0,1196	0,1318	0,1292	0,2413	0,2359	0,2411
G8	0,1036	0,1022	0,1070	0,0731	0,0707	0,0705	0,1220	0,1300	0,1227	0,2356	0,2351	0,2404
G9	0,1003	0,1062	0,1042	0,0737	0,0773	0,0661	0,1177	0,1271	0,1241	0,2364	0,2245	0,2416
G10	0,1025	0,1057	0,1086	0,0759	0,0735	0,0707	0,1191	0,1334	0,1218	0,2408	0,2343	0,2454
G11	0,1071	0,1052	0,1010	0,0743	0,0728	0,0651	0,1244	0,1293	0,1226	0,2439	0,2348	0,2443
G12	0,1041	0,1091	0,1044	0,0692	0,0742	0,0670	0,1226	0,1329	0,1273	0,2334	0,2373	0,2393
G13	0,1047	0,1102	0,1033	0,0735	0,0779	0,0660	0,1239	0,1333	0,1263	0,2393	0,2353	0,2430
G14	0,1043	0,1112	0,1074	0,0756	0,0755	0,0752	0,1246	0,1290	0,1208	0,2373	0,2345	0,2404
G15	0,1019	0,1034	0,1086	0,0764	0,0743	0,0742	0,1230	0,1267	0,1182	0,2382	0,2343	0,2399
G16	0,0974	0,1096	0,1089	0,0767	0,0745	0,0690	0,1210	0,1268	0,1211	0,2360	0,2324	0,2415
G17	0,1020	0,1034	0,1084	0,0756	0,0752	0,0752	0,1189	0,1337	0,1206	0,2325	0,2352	0,2457
G18	0,1038	0,1093	0,1044	0,0740	0,0752	0,0707	0,1259	0,1325	0,1229	0,2412	0,2299	0,2413
G19	0,0949	0,1081	0,1096	0,0716	0,0749	0,0679	0,1232	0,1333	0,1192	0,2303	0,2354	0,2397
G20	0,1018	0,1059	0,1031	0,0732	0,0728	0,0718	0,1145	0,1347	0,1223	0,2315	0,2360	0,2421
Min	0,0949	0,1009	0,0963	0,0692	0,0707	0,0649	0,1145	0,1267	0,1182	0,2303	0,2245	0,2393
Moyenne	0,10299	0,10575	0,10586	0,07464	0,07495	0,06902	0,12192	0,13144	0,12341	0,23695	0,23397	0,24192
Max	0,1071	0,1121	0,1153	0,0788	0,0779	0,0752	0,1293	0,1383	0,1292	0,2439	0,2378	0,2457
CV	2,8606	3,4495	3,7107	2,7904	2,4821	4,6054	2,8399	2,2401	2,3241	1,7199	1,4491	0,7809
[Borne inférieure (-10%);	0,0927	0,0952	0,0953	0,0672	0,0675	0,0621	0,1097	0,1183	0,1111	0,2133	0,2106	0,2177
; Borne supérieure (+10%)]	0,1133	0,1163	0,1164	0,0821	0,0824	0,0759	0,1341	0,1446	0,1358	0,2606	0,2574	0,2661

Annexe 19 : Uniformités de masse (g) des lots de « l'étude de stabilité J0 à J35 »

Excipient	AAS 1 mg (amidon maïs)				AAS 1 mg (mannitol)				AAS 0,1 mg (lactose)				AAS 0,1 mg (lactose)				AAS 1 mg (amidon maïs)			
	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4
G1	0,1058	0,1042	0,1017	0,1039	0,1330	0,1106	0,1103	0,1270	0,1584	0,1690	0,1610	0,1627	0,1598	0,1607	0,1656	0,1594	0,1001	0,1048	0,0950	0,1101
G2	0,1024	0,1087	0,1120	0,1069	0,1356	0,1164	0,1158	0,1190	0,1582	0,1697	0,1679	0,1592	0,1631	0,1627	0,1614	0,1617	0,0982	<u>0,0906</u>	0,1033	0,0978
G3	0,1119	0,1056	0,1014	0,0981	0,1322	0,1098	0,1179	0,1271	0,1549	0,1661	0,1603	0,1627	0,1595	0,1604	0,1604	0,1615	0,1026	0,1024	0,1009	0,1012
G4	0,1123	0,0996	0,1012	0,1006	0,1357	0,1139	0,1205	0,1313	0,1466	0,1690	0,1634	0,1556	0,1597	0,1603	0,1596	0,1625	0,1056	0,0957	0,1005	0,1015
G5	0,1120	0,0972	0,1001	0,1020	0,1359	0,1138	0,1125	0,1252	0,1588	0,1672	0,1614	0,1641	0,1625	0,1612	0,1625	0,1609	0,1012	0,0998	0,0936	0,1041
G6	0,1114	0,0980	0,1033	0,1046	0,1265	0,1215	0,1179	0,1195	0,1609	0,1651	0,1577	0,1582	0,1595	0,1615	0,1627	0,1623	0,1008	0,0924	0,1020	0,1031
G7	0,1061	0,0989	0,1080	0,1047	0,1315	0,1134	0,1166	0,1250	0,1553	0,1703	0,1574	0,1611	0,1625	0,1613	0,1624	0,1624	0,0993	0,1016	0,1074	0,1030
G8	0,1084	0,1097	0,0986	0,1039	0,1336	0,1160	0,1094	0,1252	0,1584	0,1671	0,1595	0,1608	0,1633	0,1595	0,1594	0,1625	0,1046	0,1039	0,1015	0,1068
G9	0,1046	0,1038	0,1036	0,1074	0,1401	0,1113	0,1174	0,1288	0,1615	0,1648	0,1571	0,1587	0,1593	0,1613	0,1617	0,1581	0,1034	0,1003	0,1138	0,1097
G10	0,1151	0,1000	0,1048	0,1105	0,1258	0,1179	0,1142	0,1310	0,1604	0,1733	0,1624	0,1631	0,1606	0,1635	0,1503	0,1592	0,1028	0,1019	0,1079	0,1012
G11	0,1114	0,0930	0,1068	0,1024	0,1315	0,1128	0,1197	0,1250	0,1587	0,1671	0,1626	0,1619	0,1616	0,1607	0,1549	0,1637	0,1082	0,1010	0,1034	0,1072
G12	0,1046	0,1014	0,1090	0,1045	0,1262	0,1191	0,1109	0,1246	0,1576	0,1657	0,1591	0,1619	0,1549	0,1609	0,1593	0,1637	0,0977	0,1040	0,1055	0,1022
G13	0,1070	0,0971	0,0960	0,0990	0,1291	0,1105	0,1183	0,1273	0,1576	0,1692	0,1624	0,1581	0,1602	0,1612	0,1579	0,1561	0,0998	0,0918	0,1104	0,0982
G14	0,1140	0,0952	0,1031	0,1079	0,1376	0,1094	0,1115	0,1208	0,1610	0,1695	0,1653	0,1601	0,1617	0,1615	0,1665	0,1624	0,0989	0,1068	0,1052	0,1140
G15	0,1152	0,0964	0,1048	0,1052	0,1390	0,1126	0,1185	0,1238	0,1525	0,1677	0,1592	0,1603	0,1545	0,1620	0,1554	0,1569	0,1054	0,1018	0,1074	0,1012
G16	0,1086	0,0979	0,0983	0,1048	0,1292	0,1150	0,1143	0,1290	0,1584	0,1684	0,1626	0,1597	0,1633	0,1622	0,1625	0,1652	0,1058	0,1015	0,0970	0,1110
G17	0,1067	0,0956	0,1027	0,1044	0,1298	0,1169	0,1123	0,1318	0,1589	0,1706	0,1614	0,1610	0,1554	0,1597	0,1629	0,1642	0,1059	0,1109	0,1036	0,0983
G18	0,1084	0,1068	0,1088	0,1066	0,1261	0,1149	0,1133	0,1345	0,1618	0,1714	0,1621	0,1618	0,1623	0,1576	0,1637	0,1607	0,1022	0,1029	0,1066	0,0953
G19	0,1074	0,1048	0,1061	0,1022	0,1332	0,1090	0,1151	0,1203	0,1561	0,1704	0,1667	0,1613	0,1652	0,1577	0,1554	0,1620	0,0964	0,1010	0,1012	0,1061
G20	0,1067	0,1059	0,1045	0,1027	0,1359	0,1145	0,1130	0,1284	0,1588	0,1703	0,1652	0,1571	0,1557	0,1586	0,1593	0,1594	0,1022	0,1040	0,1060	0,1129
Min	0,1024	0,0930	0,0960	0,0981	0,1258	0,1090	0,1094	0,1190	0,1466	0,1648	0,1571	0,1556	0,1545	0,1576	0,1503	0,1561	0,0964	0,0906	0,0936	0,0953
Moyenne	0,1090	0,1010	0,1037	0,1041	0,1324	0,1140	0,1150	0,1262	0,1577	0,1686	0,1617	0,1605	0,1602	0,1607	0,1602	0,1612	0,1021	0,1010	0,1036	0,1042
Max	0,1152	0,1097	0,1120	0,1105	0,1401	0,1215	0,1205	0,1345	0,1618	0,1733	0,1679	0,1641	0,1652	0,1635	0,1665	0,1652	0,1082	0,1109	0,1138	0,1140
CV	3,3900	4,8192	3,8581	2,8742	3,3065	2,9612	2,8593	3,3771	2,2184	1,3215	1,8517	1,3466	1,9105	0,9470	2,4551	1,4980	3,1316	4,9624	4,7791	5,0869
[Borne inférieure (-10%); ; Borne supérieure (+10%)]	0,0981	0,0909	0,0934	0,0937	0,1191	0,1026	0,1035	0,1136	0,1420	0,1517	0,1456	0,1444	0,1442	0,1447	0,1442	0,1451	0,0918	0,0909	0,0932	0,0938
	0,1199	0,1111	0,1141	0,1145	0,1456	0,1254	0,1265	0,1389	0,1735	0,1855	0,1779	0,1765	0,1763	0,1768	0,1762	0,1774	0,1123	0,1111	0,1140	0,1147

Annexe 20 : Uniformités de teneur des lots de « l'étude de stabilité J0 à J35» au J1.

Lot	AAS 1 mg								AAS 0,1 mg							
	Amidon de maïs				Mannitol				Lactose : répartition en volume				Lactose : répartition en masse			
Lot	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4
G1	90,20	99,30	94,92	93,31	98,45	96,84	90,10	90,97	148,54	104,36	92,83	98,00	103,22	98,69	109,96	108,62
G2	91,40	116,37	96,89	98,34	90,06	96,20	99,30	93,37	136,54	<u>94,72</u>	97,89	100,08	106,11	97,97	99,99	107,06
G3	99,50	99,17	104,01	93,98	103,39	86,70	87,78	94,11	125,71	104,99	98,14	103,56	109,62	108,14	111,95	108,10
G4	90,03	102,51	94,77	92,74	93,58	89,78	97,10	89,90	120,51	<u>139,50</u>	101,14	102,62	116,30	103,27	97,24	108,12
G5	91,49	101,51	96,71	100,07	102,07	102,00	97,57	97,79	<u>106,83</u>	121,84	102,63	99,18	97,48	106,79	94,51	107,80
G6	97,20	101,42	99,63	101,96	82,51	92,32	93,82	96,51	153,96	112,51	102,90	100,57	109,77	103,94	105,41	108,40
Moyenne	93,3	103,4	97,8	96,7	95,0	94,0	94,3	93,8	132,0	113,0	99,3	100,7	96,4	103,1	92,9	97,2
Intervalle +/- 15%	79,3 -	87,9 -	83,1 -	82,2 -	80,8 -	79,9 -	80,2 -	79,7 -	112,2 -	96,1 -	84,4 -	85,6 -	81,9 -	87,6 -	79 -	82,6 -
	107,3	118,9	112,5	111,2	109,3	108,1	108,4	107,9	151,8	130,0	114,2	115,8	110,9	118,6	106,8	111,8
Nombre de gélule hors intervalle	0	1	0	0	1	2	1	1	5	3	0	0	0	1	0	1

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2022/2023.

Nom : BIDI

Prénom : Amin

Titre de la thèse : Mise au point de la préparation hospitalière de gélules d'aspirine faiblement dosées dans le cadre d'un protocole de désensibilisation.

Mots-clés : Aspirine – Stabilité – Préparation hospitalière – Gélule – Désensibilisation.

Résumé :

La nécessité d'administrer de l'aspirine ou acide acétylsalicylique (AAS) suite à un événement cardiovasculaire (type infarctus du myocarde) conduit à avoir recours à un protocole de désensibilisation chez les patients présentant une hypersensibilité à l'aspirine.

Les recommandations de l'EEACI (European Academy Of Allergy and Clinical Immunology) proposent une initiation à une posologie initiale de 0,1 mg, suivie d'une augmentation progressive jusqu'à la dose cible de 100 mg en quelques heures.

Actuellement, pour les dosages à 0,1 et 1 mg, la pratique consiste à préparer des suspensions buvables extemporanées à partir de la forme commerciale en sachet entraînant des imprécisions importantes. Ceci nous amène donc à étudier la faisabilité de préparations hospitalières de gélules d'aspirine dosées à 0,1 mg et 1 mg afin de garantir la sécurité et l'efficacité lors de l'administration.

Dans un premier temps, ce travail a consisté, via une étude de dégradation forcée, à mettre au point une méthode de dosage de l'AAS indicatrice de stabilité par chromatographie liquide haute performance assurant que la méthode d'analyse permet de distinguer le principe actif de ses produits de dégradation.

Dans un second temps des essais de faisabilité des préparations hospitalières ont été mis en place avec différents excipients afin de les évaluer en termes de teneurs moyennes et d'homogénéité des teneurs ce qui nous a permis de retenir 3 excipients afin de réaliser une étude de stabilité pour le dosage à 1 mg (amidon de maïs, cellulose microcristalline, mannitol) et seulement un excipient pour le dosage à 0,1 mg (lactose monohydrate).

Les premiers résultats de l'étude de stabilité prévue initialement pour 3 mois, montrent une dégradation au bout d'un mois dépassant les limites de stabilité. Une seconde étude a été mise en place afin de suivre l'évolution des teneurs semaine après semaine.

Les résultats de ces essais montrent une stabilité pour les gélules d'aspirine dosées à 0,1 mg sur une durée de 7 jours. Concernant les gélules dosées à 1 mg, le mannitol conduit à des disparités ne permettant pas d'avoir une homogénéité suffisante. En revanche les meilleurs résultats en termes de teneur et d'homogénéité sont obtenus avec l'amidon de maïs avec une stabilité sur 30 jours (permettant une dégradation moyenne de l'AAS inférieure à 10%).

Membres du jury :

Président :

M. le Professeur Pascal ODOU, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier,
Faculté de Pharmacie de Lille- Pharmacie centrale, Centre Hospitalier Universitaire de Lille.

Directeur, conseiller de thèse :

Mme le Docteur Cécile DANIEL, Maître de Conférence des Universités – Praticien Hospitalier,
Faculté de Pharmacie de Lille- Pharmacie centrale, Centre Hospitalier Universitaire de Lille.

Assesseurs :

M. le Docteur Christophe BERNERON – Praticien Hospitalier,
Centre Hospitalier Universitaire de Lille.

Mme le Docteur Flore DURIEUX – Pharmacienne Assistante,
Centre Hospitalier Universitaire de Lille.