

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira de Béjaïa
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-chimique



Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologique

Option : Pharmacologie Moléculaire

Thème

Etude de Stabilité et Contrôle Qualité sur « Augmentin PPSB 60 ml »

Présenté par : ABBOU Soumia

Soutenu le: 11 juin 2016

Composition du jury

M ^r N. BELKACEM	Maitre Assistant A, A-Mira, Bejaia	Président
M ^{me} K.SADAoui	Maitre de conférences B, A-Mira, Bejaia	Promotrice
M ^{me} S.TALAHARI	Responsable CQ, GSK	Co-promotrice
M ^{me} S.ABDERAHIME	Maitre Assistante A, A-Mira, Bejaia	Examinatrice

Année Universitaire: 2015 / 2016

Remerciements

Tout d'abord, louange à « Allah » qui m'a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et m'a inspiré les bons pas et les justes réflexes. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti.

Je veux exprimer par ces quelques lignes de remerciements, ma gratitude envers tous ceux qui par leur présence, leur soutien, leur disponibilité et leurs conseils, m'ont permis de réaliser ce travail.

*Je commence par remercier Mme **Bougoffa-Sadaoui K**, qui m'a fait l'honneur d'être mon encadrante. Je la remercie profondément pour son encouragement continu, et pour avoir été toujours là pour m'écouter, m'aider et me guider à retrouver le bon chemin par sa sagesse et ses précieux conseils. Je la remercie également pour son soutien moral et sa grande compréhension, ce qui m'a procuré la force et le courage d'aller au bout de ce projet.*

*Aussi, je tiens vivement à remercier ma co-promotrice, Mme **Talahari S.**, ainsi que tout le personnel du Laboratoire Qualité AB de GSK: **Nachida, Rym, Fatma, Mohamed Rjad, Raouf, Hichem, Othmane, Abdelhak, Aissam, Moussa, L Malek** qui m'ont formée et qui grâce à eux, j'ai pu mener à bien ce travail.*

Qu'ils veuillent bien trouver ici le témoignage de ma gratitude et de ma très profonde reconnaissance.

Mes sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres du jury :

- M. Belkacem, pour m'avoir fait l'honneur et le plaisir de présider ce jury.*
- Mme Abderahim, d'avoir accepté de faire partie du jury et de donner de son temps pour examiner ce travail.*

Je suis très honorée de leur présence dans ce jury.

Enfin, je ne peux achever ce mémoire sans exprimer ma gratitude à tous les professeurs des Sciences de la Nature et de la Vie pour leur dévouement et leur assistance tout au long de mes études universitaires.

Un grand merci à tous.

Dédicaces

C'est avec une profonde gratitude et de sincères mots, que je dédie ce modeste travail de fin d'études à ma maman chérie, et mon cher papa. Nulle dédicace ne peut exprimer mes sincères sentiments envers mes chères parents que j'aime de tout mon cœur, qui font tous les jours preuve d'une patience illimitée, une aide précieuse et un encouragement continu.

Je les remercie également pour avoir sacrifié leur vie pour voir leurs enfants réussir, j'espère qu'un jour je pourrais leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour nous. Que Dieu leur prête santé et longue vie.

*A mes chères sœurs que j'adore: **Djalila**, & **Meriem** pour leur grand soutien et leur aide précieuse, qu'elles trouvent ici l'expression de ma haute gratitude.*

*A mes chers frères que j'aime profondément : **Abdelmadjid**, & **Mohamed-Amine**, pour leur soutien moral.*

*Sans oublier mon petit ange **Anis**, ainsi qu'à mes petites princesses **Ghyna**, & **Maïssa**, pour leur présence à mes cotés. Ma source de bonheur.*

Merci à tous d'être là pour moi. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite, et de sérénité.

*Une dédicace spéciale pour mes chères copines **Selma**, **Amina**, et **Farah** en témoignage de l'amitié qui nous uni, des souvenirs, et de tous les moments que nous avons passés ensemble.*

Sans oublié toutes les personnes que je porte dans mon cœur.

Je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Chapitre I : Revue bibliographique

I.1. Notions sur les médicaments.....3

I.2. Etapes du développement et de production de médicaments.....4

I.3. Contrôle qualité des médicaments.....6

I.4. Les antibiotiques.....8

I.5. Méthodes de dosage des médicaments.....12

Chapitre II. Matériels et méthodes

II.1. Présentation du site GlaxoSmithKline « GSK ».....15

II.2. Protocol analytique.....18

II.3. Tests réalisés sur un lot de commercialisation.....18

II.4. Test sur lot de stabilité.....25

II.5. Contrôle de la stabilité.....27

Chapitre III. Résultats et discussions

III.1. Lot de commercialisation.....33

III.2. Résultats des testes d'étude de stabilité lot de commercialisation N° 403055.....37

Conclusion et perspectives.....46

Références bibliographiques

Annexes

- ✚ **AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché ;
- ✚ **Amox** : Amoxicilline ;
- ✚ **BPF** : Bonnes Pratiques de Fabrication ;
- ✚ **Clav** : Acide clavulanique ;
- ✚ **DGAT**: Dénombrement de germe aérobies totaux;
- ✚ **DMLT**: Dénombrement de moisissures et levures totaux;
- ✚ **FLC** : Flacon ;
- ✚ **GSK**: GlaxoSmithKline;
- ✚ **HPLC**: Chromatographie Phase Liquide à Haute Performance;
- ✚ **HR**: Humidité relative;
- ✚ **ICH**: Conference International d' Harmonisation;
- ✚ **KF**: Karl Fischer;
- ✚ **MTI**: Mercury Titration Impurity;
- ✚ **PA**: Principe actif ;
- ✚ **PF**: Produit fini;
- ✚ **PM** : Poids moyen,
- ✚ **PPM** : Partie par million ;
- ✚ **PPSB**: Poudre pour suspension buvable;
- ✚ **PSM** : Poste de sécurité microbiologique ;
- ✚ **RT**: Temps de rétention;
- ✚ **SDG**: Sabouraud dextrose-gélosé;
- ✚ **STD** : Standard;
- ✚ **USP** : United States of Pharmacopea;
- ✚ **XLD**: Xylose-lysine-désoxycholate

Chapitre I : Revue bibliographique

Figure 1 : Principales étapes du développement d'un médicament.....	4
Figure 2 : Schéma résumant les étapes de production d'Augmentin PPSB.....	5
Figure 3 : Structure de l'Amoxicilline tri-hydratée.....	10
Figure 4 : Structure chimique de clavulanate de potassium.....	10
Figure 5 : Structure chimique de Benzoate de sodium.....	11
Figure 6 : Mécanisme d'action d'Augmentin PPSB 60 ml.....	12
Figure 7 : Principe de fonctionnement de l'HPLC.....	13
Figure 8 : Titreur Karl Fisher.....	14

Chapitre II : Matériels et méthodes

Figure 9 : Organisation du laboratoire contrôle qualité des antibiotiques.....	16
Figure 10 : Schéma de préparation des standards des principes actifs.....	20
Figure 11 : Schéma de préparation du standard de benzoate de sodium.....	21
Figure 12 : Schéma préparation du tampon phosphate à pH=4.....	21
Figure 13 : Schéma préparation du tampon à 3,5.....	22
Figure 14 : Schéma de dosage des principes actifs.....	23
Figure 15 : Schéma récapitulatif des analyses microbiologiques Augmentin PPSB 60 ml.....	26
Figure 16 : Schéma du dosage des principes actifs pour la solution reconstituée.....	28
Figure 17 : Schéma de préparation du tampon acide acétate.....	29
Figure 18 : Schéma de préparation du tampon imidazol.....	29
Figure 19 : Schéma de préparation du tampon borate.....	29
Figure 20 : Schéma de dosage MTI.....	30

Figure 21 : Schéma préparation de solution fille.....31

Figure 22 : Schéma de dosage des claves polymères.....31

Chapitre III : Résultats et discussions

Figure 23 : Chromatogramme des principes actifs du standard.....35

Figure 24 : Chromatogramme des principes actifs de l'échantillon du lot N° 603005.....35

Figure 25 : Chromatogramme du conservateur du standard 1 N° de lot 603005.....36

Figure 26 : Chromatogramme de l'échantillon 1 du conservateur N° de lot 603005.....37

Figure 27 : Tendence de l'étude de stabilité d'Augmentin PPSB 60 ml lot commercial N°
403055.....40

Figure 28 : Tendence de l'étude de stabilité de la solution reconstituée d'Augmentin PPSB 60
ml du lot N° 503.....42

Figure 29 : Tendence de l'étude de validation dans les conditions réelles d'Augmentin PPSB
60 ml du lot de validation N° 503047.....43

Figure 30 : Tendence de l'étude de stabilité dans des conditions accélérées d'Augmentin
PPSB 60 ml du lot de validation N° 503074.....45

Liste des tableaux

Chapitre I : Revue bibliographique

Tableau I : Les principales formes galéniques.....	4
Tableau II : Principaux modes d'action des grandes familles d'antibactériens.....	9

Chapitre II : Matériels et méthodes

Tableau III : Différents appareillages utilisés.....	17
Tableau IV : Plan d'échantillonnage des prélèvements Augmentin PPSB 60 ml.....	18
Tableau V : Proportion du système gradient.....	22
Tableau VI : Conditions chromatographique.....	24
Tableau VII : Conditions chromatographique pour claves polymères.....	32

Chapitre III : Résultats et discussions

Tableau VIII : Résultats contrôles pH et teneur en eau.....	33
Tableau IX : Résultats uniformité de poids moyen d'un flacon.....	33
Tableau X : Résultats uniformité de poids moyen du lot commercial N° 60300534.....	34
Tableau XI : surface du chromatogramme du standard.....	35
Tableau XII : les surfaces du chromatogramme des principes actifs de l'échantillon 1 du lot 603000	35
Tableau XIII : Surface du pic standard 1 du conservateur de l'échantillon 1 N° de lot 603005.....	36
Tableau XIV : Surface du pic du conservateur de l'échantillon 1 N° de lot 603005.....	37
Tableau XV : Dosage des principes actifs et du conservateur d'Augmentin PPSB 60 ml.....	37
Tableau XVI : Les résultats des testes microbiologiques.....	38

Liste des tableaux

Tableau XVII : Résultat d'analyse physico-chimique de la solution reconstituée.....	39
Tableau XVIII : Résultats des analyses physico-chimiques durant l'étude de stabilité.....	39
Tableau XIX : Résultats d'analyses physico-chimiques de la solution reconstituée de lot de validation N° 503047.....	41
Tableau XX : Résultats d'analyses physico-chimiques dans des conditions réelles du lot de validation N° 503047.....	42
Tableau XXI : Résultats d'analyses physico-chimiques dans les conditions accélérées du lot de validation N° 503047.....	43

Introduction

Introduction

Le secteur de la santé publique est un secteur particulièrement compliqué et délicat. Il se présente comme un système composé de plusieurs volets interactifs. Le médicament constitue à ce titre le volet le plus appréciable. Chaque produit fabriqué dans l'industrie doit subir différentes analyses durant les étapes de fabrication.

La qualité des médicaments est un des majeurs soucis des professionnels des services de santé et des patients, elle se définit par la maîtrise d'ensemble de paramètres et propriétés qui permettent d'assurer la sécurité des patients, et amener le médicament à un niveau d'exigences satisfaisant. Afin d'atteindre cette qualité, il faut évaluer tous les risques susceptibles à la détérioration du médicament et qui affectent la santé du patient.

Les médicaments risquent des altérations à différents niveaux de la chaîne de fabrication. Elles peuvent être d'ordre physico-chimique, ou microbiologique, d'où le producteur doit suivre tout le processus de fabrication et les étapes de contrôle qualité au sein des laboratoires.

En outre, le médicament est un produit dont la qualité dans le développement, la fabrication, et le contrôle est régie de façon réglementaire et minutieusement examinée. Pour cela l'industrie pharmaceutique a pour objectif la mise en œuvre de méthodes performantes de fabrication et de contrôle en vue de promouvoir un meilleur accès à un traitement sûr et efficace.

Le spécialiste en contrôle qualité effectue des contrôles et des analyses sur des échantillons prélevés à partir de l'approvisionnement et tout au long de la chaîne de fabrication, afin de vérifier que les produits pharmaceutiques soient conformes aux normes et aux règlements imposés. Il a pour rôle de s'assurer que la documentation, les méthodes et les équipements utilisés sont conformes à la réglementation, sans oublier la mesure des caractéristiques physico-chimiques ou microbiologiques des matières premières, des composants d'emballage, des produits en vrac, des produits finis et des produits mis en stabilité. Il peut aussi prélever et mesurer des échantillons provenant de l'environnement où les activités de fabrication et d'emballage sont réalisées. Il examine les données et effectue des rapports de suivi sur l'état de la qualité (**Documentation GSK**).

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail au sein du laboratoire de contrôle qualité GlaxoSmithKline « **GSK** », consiste :

- d'une part à effectuer les contrôles physico-chimiques, et microbiologiques d'un produit fini « Augmentin Poudre Pour Suspension Buvable 60 ml »

-d'autre part à suivre les tendances de stabilité d'un lot de routine, et lot de validation jusqu'à leur date de péremption.

Chapitre I
Revue Bibliographique

I.1. NOTIONS SUR LES MEDICAMENTS

I.1.1. Définition

On entend par médicament, toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique (**Loi N°08-13. 2008**).

Le médicament n'est pas un produit de consommation comme les autres. Il obéit à un statut réglementaire et législatif particulier. Il doit répondre à des critères d'efficacité et de sécurité précis, aux contrôles des pouvoirs publics et à des expertises très sévères avant d'obtenir l'Autorisation de Mise sur le Marché délivrée par l'Agence de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (**GlaxoSmithKline et al., 2011**).

Il est constitué de substances actives combinées à des excipients, qui sont formulés et mis en forme pharmaceutique de façon à être adaptés à l'usage qui en est prévu et qui sont présentés dans un récipient approprié, convenablement étiqueté (**Pharmacopée européenne, 2013**).

I.1.2. Composition

Le médicament est composé de deux sortes de substances : une ou plusieurs substances actives appelées aussi principes actifs, et d'un ou de plusieurs excipients.

➤ Principe actif

Une substance active ou principe actif est une molécule minérale ou organique, naturelle ou synthétique, de structure chimique le plus souvent connue, qui grâce aux propriétés pharmacologique qu'elle possède, confère au médicament son activité thérapeutique (**Katzung, 2006**).

➤ Excipient

L'excipient est une substance qui généralement est inactive sur le traitement de la pathologie mais qui facilite l'administration, la diffusion et la conservation du principe médicamenteux ; il est appelé véhicule ou adjuvant, sa principale qualité est l'inertie vis-à-vis des principes actifs, des matériaux de conditionnement et de l'organisme (**Aiache et al., 2001**).

I.1.3. Les formes galéniques / formes pharmaceutiques

Les formes galéniques sont généralement regroupées sous quatre principales présentations physiques selon le tableau ci-dessous :

Tableau I : Les principales formes galéniques (Calop et al., 2012).

Les solides <i>Ex. Comprimés</i> <i>Gélules</i>	Les liquides <i>ex. Sirop</i>	Les semi-solides <i>ex. Pommade</i>	Les volatils <i>ex. Aérosols</i>
			

I.2. ETAPES DU DEVELOPPEMENT ET DE PRODUCTION D'UN MEDICAMENT

I.2.1. Développement d'un médicament

Le processus qui permet de parvenir à la mise sur le marché d'un nouveau médicament est à la fois long et complexe (Figure1). Plusieurs années de recherches et d'étude sont établies afin de pouvoir dépasser toutes les embûches réglementaires rencontrées tout au long de ce parcours (**Pharmacopée européenne, 2013**).

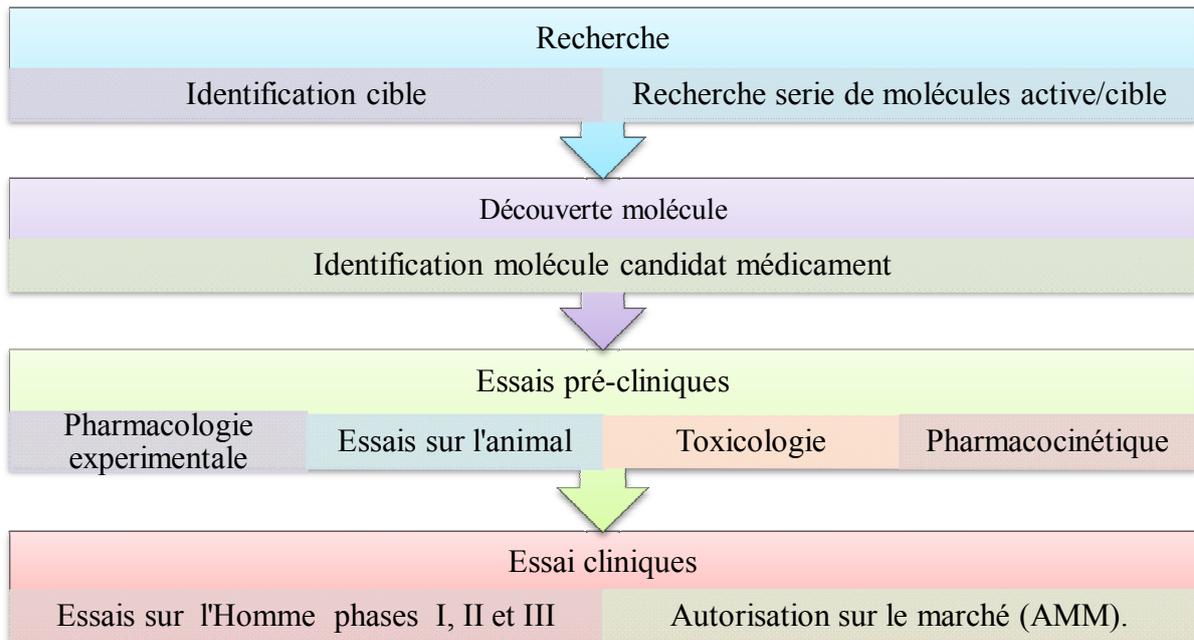


Figure 1 : Principales étapes du développement d'un médicament (Fernando, 2010).

I.2.2. La production des médicaments

La production médicamenteuse regroupe l'ensemble des opérations de transformation des matières premières en produits finis. Elle répond à des normes de qualité nationales et internationales très strictes, et garantit le respect de l'hygiène, de l'environnement et de la sécurité (Rebiere *et al.*, 2007).

Tous les établissements fabriquant des produits pharmaceutiques doivent respecter et appliquer les bonnes pratiques de fabrications (BPF). Ces dernières sont destinées à assurer la qualité des médicaments selon les normes exigées par l'AMM. Elles concernent les locaux, le matériel de fabrication, le personnel et les conditions de fabrication à tous les stades (Rebiere *et al.*, 2007).

Ci-dessous un model de différentes étapes de production d'Augmentin Poudre Pour Suspension Buvable (PPSB) (Figure 2).

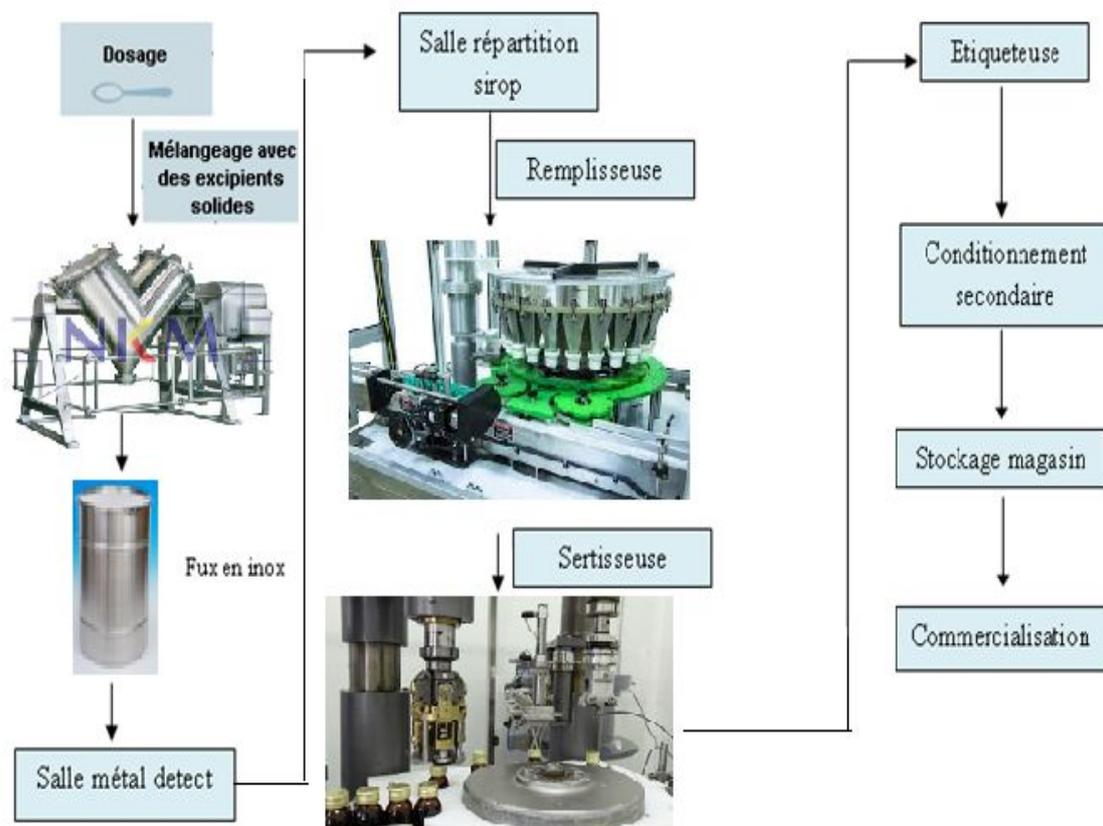


Figure 2 : Schéma résumant les étapes de production Augmentin PPSB
(GlaxoSmithKline, 2013)

I.3. COTROLE QUALITE DES MEDICAMENTS

Les contrôles sont des procédures (protocoles techniques standardisés et enregistrés) définies pour l'acceptation ou le refus des produits. Ils permettent de vérifier que des caractéristiques sont conformes à des spécifications préétablis. Les contrôles se font :

En amont de la production	—————>	Les matières premières
En cours de fabrication	—————>	Etapas intermédiaires
En fin de fabrication	—————>	Sur produit fini, ainsi que les articles de conditionnement.

Ils doivent être établis par une personne qualifiée pour rédiger le certificat de conformité du produit (**Bonnet, 2007**).

I.3.1. Contrôles physico-chimiques

Les contrôles physico-chimiques réalisés sur un médicament permettent de vérifier la qualité pharmaceutique des médicaments mis sur le marché. Les contrôles de qualité sont essentiellement basés sur des analyses physico-chimiques (**Pharmacopée européenne, 2013**).

- Physico-chimie consiste à
- déterminer les caractères organoleptiques des différentes formes pharmaceutiques (présentation, couleur...);
 - identifier et doser le ou les principes actifs ;
 - déterminer la présence d'éventuelles impuretés et faire leur quantification ;
 - déterminer les caractères pharmaco-techniques en relation avec la forme pharmaceutique (désintégration, dissolution, sécabilité, pH, osmolalité, taille des particules....) (**Bouchard, 2009**).

I.3.2. Contrôles microbiologiques

Les tests microbiologiques se font sur les matières premières, les lots destinés à la stabilité (produit fini) ainsi que le contrôle de l'eau purifiée/potable utilisée dans le nettoyage du matériel de production. Ils portent sur le dénombrement des bactéries mésophiles, les moisissures, les levures et de certaines bactéries spécifiques aérobies (**GlaxoSmithKline, 2014**).

I.3.3. Contrôle de stabilité

Selon la Conférence Internationale de l'Harmonisation (ICH) la stabilité est définie comme suit :

«C'est l'aptitude d'un médicament à conserver ses propriétés chimiques, physiques, microbiologiques et biopharmaceutiques dans des limites spécifiées pendant toute sa durée de validité. Cette stabilité dépend, d'une part, de facteurs environnementaux (température, humidité relative et la lumière), d'autre part, de facteurs liés au produit comme les propriétés physiques du principe actif et des excipients, du procédé de fabrication, de la nature du système récipient-fermeture et des propriétés des matériaux de conditionnement» (**Chavass et al., 2001**).

Un médicament est considéré comme stable lorsque ses propriétés essentielles ne changent pas, ou changent dans des proportions tolérables jusqu'à sa date de péremption. Pour cela la stabilité des médicaments doit être surveillée selon un programme approprié et continu permettant la détection de tout problème (par exemple tout changement du taux des impuretés du profil de dissolution) relative à la formulation du produit dans son conditionnement final (**Organisation Mondiale de la Santé, 1998**).

I.3.3.1. Objectifs des études de stabilité

Les essais de stabilité ont pour but de fournir des données probantes sur la façon dont la qualité d'un principe actif ou d'un produit médicamenteux varie en fonction du temps sous l'effet de divers facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité et la lumière, permettant ainsi de définir les conditions de conservation et de déterminer la durée de validité des produits (**Scodellaro, 2013**).

I.3.3.2. Conditions pour les quelles des études de stabilité sont exigées

- Cas du principe actif
 - ✓ principes actifs nouveaux ;
 - ✓ principe actif connu, obtenu par un procédé de synthèse nouveau ;
 - ✓ modifications des spécifications du conditionnement primaire ;
 - ✓ commercialisation sur une nouvelle zone climatique (**Scodellaro, 2013**).

- Cas du produit fini
 - ✓ médicament nouveau,
 - ✓ modifications qualitatives ou quantitatives de la composition ;
 - ✓ modification du conditionnement primaire ;
 - ✓ changement du site de fabrication ;
 - ✓ confirmation de la durée de validité et des conditions de stockage annoncées ;
 - ✓ prolongation de la durée de validité du produit (**Scodellaro, 2013**).

I.4. LES ANTIBIOTIQUES

Le terme antibiotique, du grec *anti*, signifiant «contre» et *bios*, «vie» a été créé à la fin du 19^{ème} siècle. Il désignait initialement toute substance faisant preuve «d'antagonisme», en faible concentration, envers les organismes vivants en général (**Gaudy, 2005**).

Ce sont des substances d'origine synthétique, semi-synthétique ou naturelle produite par des bactéries (ex : Ampicilline synthétisée par la bactérie du genre *listeria*) ou par des champignons (ex : la Pénicilline qui est synthétisée par *Penicillium notatum*) (**Guindo, 2008**).

Ils sont utilisés contre les infections causées par des bactéries. L'antibiotique a la propriété de tuer les bactéries (bactéricide) ou d'empêcher leur prolifération (bactériostatique) (**Guindo, 2008**).

I.4.1. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont classés en grandes classes ou familles (tableau II), cette classification est basée sur la similitude de leur structure chimique qui reflète habituellement un mode d'action apparenté, bien que des différences existent à l'intérieur d'une même classe (**Duval, 1990**).

Tableau II : Principaux modes d'action des grandes familles d'antibactériens (Duval, 1990).

Mode d'action	Familles d'antibiotiques impliquées
Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne.	β -lactamines, glycopeptides (vancomycine) et polypeptides (bacitracine)
Inhibition de la synthèse ou du fonctionnement de la membrane plasmique.	Polymyxines
Inhibition de la synthèse des protéines.	Aminosides, tétracyclines, macrolides et lincosamides
Inhibition de la synthèse de l'acide nucléique (ADN).	Quinolones et certains ansamycines
Inhibition du métabolisme intermédiaire (acide folique, impliqué dans la synthèse des nucléotides).	Sulfamides, triméthoprim

I.4.2. Augmentin Poudre Pour Suspension Buvable 60 ml (PPSB)

I.4.2.1. Présentation du médicament

Augmentin est un antibiotique de la famille des β -lactamine, indiqué pour le traitement de différentes infections bactériennes chez l'adulte et l'enfant. Composé de deux principes actifs : Amoxicilline trihydratée et l'acide clavulanique, et d'un conservateur qui est le benzoate de sodium (**GlaxoSmithKline, 2012**).

Augmentin PPSB enfant à 100 mg/12,5 mg par ml : flacon correspondant à 60 ml de suspension buvable reconstituée, soit 224 doses-graduation (avec seringue pour administration orale de 8 ml graduée en kg) (**GlaxoSmithKline, 2012**).

I.4.2.2. Les formes disponibles d'Augmentin

- comprimés de 875 mg/125mg contenant l'équivalent de 875 mg d'Amoxicilline et de 125mg d'acide clavulanique. Comprimé blanc enrobé, de forme ovale gravés A et C sur les 2 faces.
- sachet de 500 mg /125mg, chaque sachet contient une poudre destinée à être délayée dans de l'eau
- poudre pour suspension buvable, 250mg/62,5mg. Donne une suspension blanche de 80ml (**GlaxoSmithKline, 2012**).

I.4.2.3. Principaux composants d'Augmentin

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

C'est une molécule semi-synthétique de formule chimique « $C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$ » et de masse molaire 365,4 Da, appartenant à la classe des pénicillines (figure 3). C'est une molécule à large spectre d'action sur des infections causées par des bactéries à Gram négatif et positif, d'origine humaine et animale (**Pharmacopée européenne, 2013**).

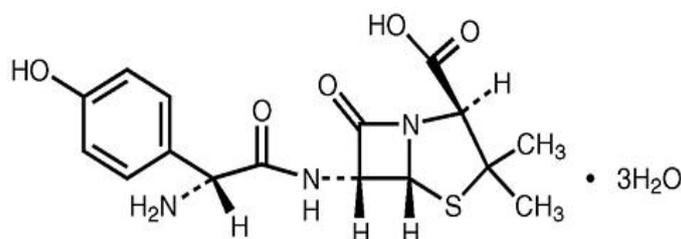


Figure 3 : Structure de l'Amoxicilline tri-hydraté (**Pharmacopée européenne, 2013**).

- **Acide clavulanique** « 4-Oxa-1-azabicyclo [3.2.0] heptane-2-carboxylic acid, 3-(2-hydroxyethylidene)-7-oxo-, monopotassium salt, 2R-(2a,3Z,5a)-Potassium (Z)-(2R,5R)-3-(2-hydroxyethylidene)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo [3.2.0] heptane-2-carboxylate »

L'acide clavulanique de formule chimique « $C_8H_8KNO_5$ », avec une masse molaire de 199,16 Da (figure 4). C'est une substance naturelle produite par *Streptomyces clavuligerus*, il est utilisé sous forme de clavulanate de potassium qualifié en tant qu'inhibiteur inversible de la β -lactamase, il est administré conjointement avec certaines pénicillines comme l'amoxicilline et la ticarcilline, afin d'en élargir leur spectre d'action (**USP, 2013**).

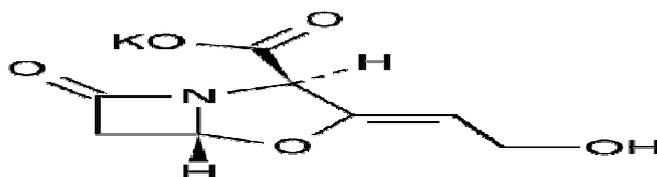


Figure 4 : Structure chimique de clavulanate de potassium (**USP, 2013**).

- **Benzoate de sodium**, $(\text{Na}^+ + \text{C}_6\text{H}_5\text{COO}^-)(\text{NaC}_6\text{H}_5\text{COO})$ est le sel de sodium de l'acide benzoïque, de masse molaire 144,11 Da, connu sous le nom E211 qualifié en tant que conservateur dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire (figure 5) (Saltmarsh, 2014).

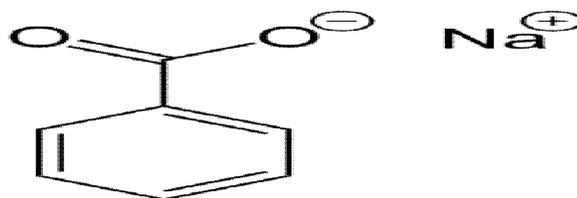


Figure 5 : Structure chimique du benzoate de sodium (Pharmacopée européenne, 2013).

I.4.2.4. Mécanisme d'action d'Augmentin PPSB 60ml

Augmentin est un antibiotique bactéricide, avec son premier principe actif l'Amoxicilline qui est une aminopénicilline semi-synthétique appartenant au groupe des antibiotiques β -lactamines et exerce une activité bactéricide contre des germes Gram (+) et Gram (-). L'effet bactéricide de l'Amoxicilline repose sur l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne, par blocage des transpeptidases (figure 6) (GlaxoSmithKline, 2013).

Le deuxième principe actif qui est l'acide clavulanique est une β -lactamine qui n'exerce aucune activité antibactérienne quand il est utilisé seul. Le principal effet de l'acide clavulanique réside en une inhibition de l'activité enzymatique de nombreux types de β -lactamases.

L'acide clavulanique possède une haute activité contre des β -lactamases cliniquement importantes dues à des plasmides, qui sont fréquemment responsables de la transmission de résistances aux antibiotiques (figure 6).

Cet effet inhibiteur protège l'Amoxicilline contre l'effet destructeur des β -lactamases et permet ainsi à l'Amoxicilline de déployer pleinement son effet antibiotique. (GlaxoSmithKline, 2013).

Grâce à l'association d'Amoxicilline et d'acide clavulanique, de nombreux germes qui seraient résistants à l'Amoxicilline par synthèse des β -lactamases deviennent sensibles. Cet effet synergique est observé à des concentrations d'acide clavulanique qui sont atteintes dans le corps après administration parentérale ou orale (GlaxoSmithKline, 2013).

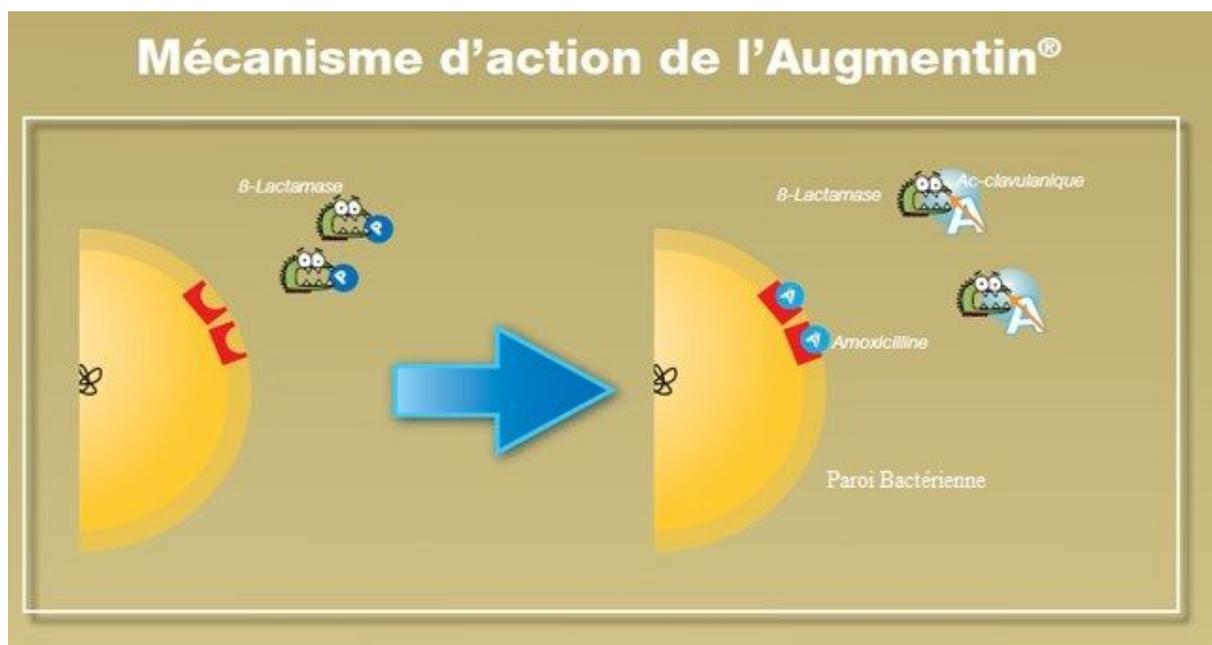


Figure 6 : Mécanisme d'action d' Augmentin PPSB 60 ml (GSK, 2014).

I.5. METHODES DE DOSAGES DES MEDICAMENTS

Plusieurs techniques sont utilisées en industrie pharmaceutique afin de doser les différents composants d'un médicament.

I.5.1. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie en phase liquide à haute performance est l'une des techniques de séparation analytiques récentes les plus employées dans les laboratoires d'analyse chimiques. Elle permet l'identification, la séparation et le dosage de composés chimiques dans un mélange. Elle est dotée d'une grande précision permettant la recherche de traces, il est possible de la coupler à un spectromètre de masse (Lamoudi, 2009).

Son principe repose sur la séparation de plusieurs composés dans un échantillon grâce à une colonne contenant du gel de silice, appelée phase stationnaire, par pompage d'un solvant, appelée phase mobile, à travers la colonne selon l'affinité unique de chaque composant existant entre la phase mobile et stationnaire. Les composés migrent le long de la colonne à différentes vitesses et ressortent à différents temps, établissant ainsi une séparation du mélange. Les composés qui ont une grande affinité envers la phase mobile migrent plus

rapidement vers le bas de la colonne, tandis que ceux qui ont une grande affinité envers la phase stationnaire migrent lentement (Shen, 2008).

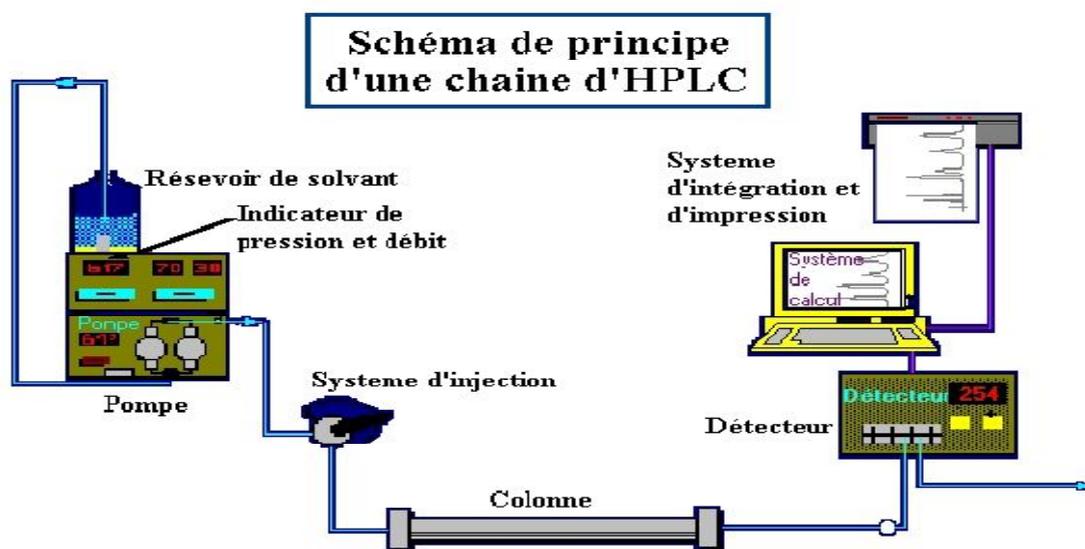


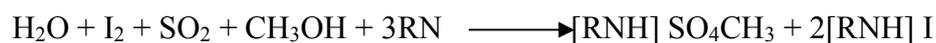
Figure 7: Principe de fonctionnement de l'HPLC (Shen, 2008).

I.5.2. Titreur Karl Fischer

Un titreur Karl Fisher est utilisé pour la détermination de la teneur en eau de multiples produits, il convient pour les échantillons ayant un taux élevé d'humidité et aussi pour ceux contenant une quantité d'eau dans la gamme des ppm (Paoletti *et al.*, 2011).

Cet appareil a été développé à l'origine pour les liquides non aqueux mais on peut l'utiliser pour les solides solubles ou si l'eau contenue peut être éliminée par chauffage dans un gaz ou par extraction (Paoletti *et al.*, 2011).

La méthode Karl Fischer est basée sur l'oxydation du dioxyde de soufre par l'iode dans une solution d'hydroxyde de méthane (méthanol et une base de type RN). La réaction produite en présence de méthanol est :



Le titrage peut être réalisé par deux méthodes :

- ✓ La méthode volumétrique, une solution Karl Fisher contenant de l'iode est ajoutée jusqu'à saturation. La quantité d'iode convertie est déterminée à partir du volume de la burette contenant la solution iodée Karl Fisher. Des électrodes en platine, permettent la détection du point d'équivalence (brusque variation de tension aux bornes des électrodes) (**Beljean-Leymarie *et al.*, 2006**).
- ✓ La méthode coulométrique, l'iode participant à la réaction est générée directement dans la cellule de titrage par une oxydation électrochimique de l'iodure jusqu'à ce que de l'iode non réactive soit détectée. La loi Faraday peut être utilisée pour calculer la quantité d'iode générée à partir de la quantité d'électricité requise (**Beljean-Leymarie *et al.*, 2006**).

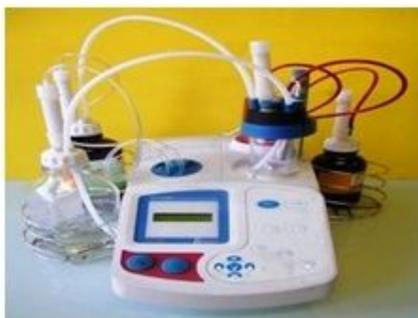


Figure 8 : Titreur Karl Fisher (**Beljean-Leymarie *et al.*, 2006**).

Chapitre II
Matériels et Méthodes

II.1. PRESENTATION DU SITE GLAXOSMITHKLINE « GSK »

GlaxoSmithKline (GSK), est un groupe pharmaceutique anglais issu de la fusion de 4 grands acteurs de la pharmacie fin 2000, qui figure en bonne place dans le secteur de la recherche et du développement. Il se classe 2ème au sein de la sphère pharmaceutique mondiale (Moille, 2006).

Le laboratoire GlaxoSmithKline est présent dans un grand nombre de domaines thérapeutiques, pour répondre aux attentes des professionnels de santé et des patients de toutes origines, de tous âges et de tous niveaux sociaux. Pour les maladies les plus fréquentes comme pour les maladies rares, il propose des solutions adaptées aux besoins médico-économiques de chacun : l'accès aux traitements pour tous et partout dans le monde est une priorité (GlaxoSmithKline, 2011).

Parmi ces domaines, trois intéressent essentiellement le groupe : les infections, les pathologies du système nerveux central et les troubles gastriques et du métabolisme, contre lesquels il propose divers médicaments et vaccins. De plus, il propose des traitements contre le cancer, le rhume, l'asthme, l'allergie, la migraine et l'herpès, et il poursuit d'importantes recherches concernant la mise au point de traitements de lutte contre le VIH et propose une large gamme de formulations sans ordonnances vendus en pharmacie tel que les produits de santé dentaire (dentifrice Aquafresh, Sensodyne...) (GlaxoSmithKline, 2011).

GSK Algérie, situé dans la zone industrielle de Boudouaou (Boumerdès), a été conçu pour assurer la production des principaux antibiotiques de ce groupe, en l'occurrence Augmentin, Clamoxyl, et Floxapen, ainsi qu'une gamme non antibiotique qui comprend : Deroxat(anxiolytique),Bactroban,Sargenor (vitamine C), Salbutamol (bronchodilatateur)...etc (Makedhi, 2005).

II.1.1. Structure

La société « GSK » dispose d'équipements technologiques de haute performance pour sa production. GSK Algérie est constituée :

- d'une unité de fabrication des produits pénicilliniques ;
- d'une unité de fabrication des produits non pénicilliniques ;
- d'une aire de stockage des matières premières et produits finis ;

- deux laboratoires de contrôle de qualité (antibiotiques et non antibiotiques) ;
- d'une station d'épuration d'eau ;
- et d'une station d'épuration des déchets.

L'organisation du laboratoire contrôle qualité des antibiotiques « GSK » est schématisée dans la figure ci-dessous

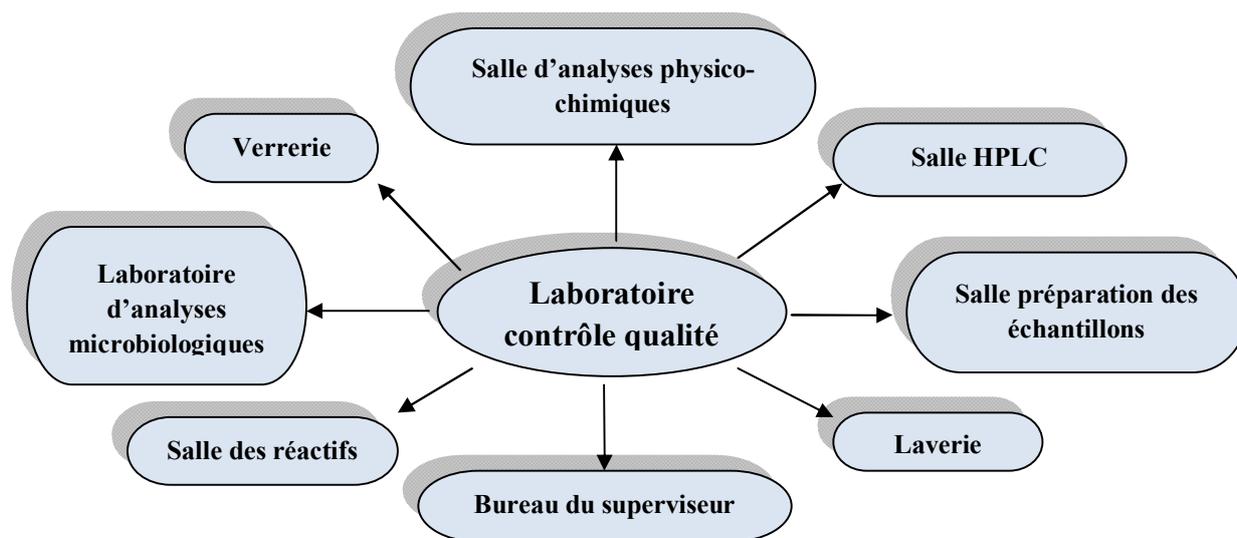


Figure 9 : Organisation du laboratoire contrôle qualité des antibiotiques.

II.1.2. Les équipements

GSK possède des équipements de contrôle très performants afin de répondre aux exigences des pharmacopées les plus récentes, entre autres :

- chromatographie Liquide à Haute Performance (**HPLC**) ;
- spectromètre Perkin Elmer à fluorescence ;
- chromatographie Phase Gazeuse (**CPG**) ;
- spectrophotomètre infrarouge(**IR**), Spectrophotomètre ultraviolet(**UV**) ;
- un Poste de Sécurité Microbiologique à flux laminaire (**PSM**) ;
- appareils pour tous les tests de la pharmaco-technique.

Tableau III : Différents appareillages utilisés (Photos personnelles).

Nom	Matériels
pH mètre	
Karl Fischer	
Sonicateur	
Perkin Elmer (série 200 Autosampler). Détecteur à fluorescence	
HPLC Type de la colonne C18	
Potentiomètre	

II.2. PROTOCOLE ANALUTIQUE

Mettre un lot de médicament sur le marché, nécessite sa conformité aux normes de qualité et de sécurité revendiquées par le laboratoire. Le protocole d'analyses ci-dessous contrôle cette conformité sur le plan physico-chimique et sur le plan microbiologique (GSK, 2014).

II.2.1. Echantillonnage

Le prélèvement du produit fini (PF) est effectué par les opérateurs de production de manière à avoir un prélèvement représentatif du lot et en quantité nécessaire aux différents contrôles effectués sur le médicament (tableau IV). Il se fait au niveau du magasin mais aussi au niveau de plusieurs caisses de la chaîne de production (GSK, 2014).

Tableau IV : Plan d'échantillonnage des prélèvements « Augmentin PPSB 60ml »

	Analyses physico-chimiques	Analyses microbiologiques	Etude de stabilité	Echantilloteque
Produit	Nombre d'échantillon			
Augmentin PPSB 60ml	20 boites (20 flacons)	6 boites	84 boites	30 boites

La qualité du médicament fait l'objet de nombreux contrôles tout au long de sa production puis de son cycle de vie. De l'arrivée des matières premières dans l'usine avant la formulation au contrôle post-commercial de stabilité, de nombreux protocoles et méthodes analytiques sont mis en œuvre pour garantir la conformité réglementaire et sanitaire du produit (Aurélien, 2012).

II.3. TESTS REALISES SUR UN LOT DE COMMERCIALISATION

II.3.1. Mise en suspension

Objectif : s'assurer que le médicament reste homogène, en suspension (pas de formation de dépôt).

Principe : laisser le médicament reconstitué 24H à température ambiante.

- observation à l'œil nu (GSK, 2014).

II.3.2. Contrôle du pH :

Principe : mettre en suspension le médicament dans de l'eau purifiée, agiter et mettre la sonde à l'intérieure.

- lecture du résultat après 5min sur l'écran du pHmètre (GSK, 2014).

II.3.3. Teneur en eau

Objectif : permet de déterminer le taux d'humidité selon la méthode Karl Fisher.

Principe : peser 120mg d'Augmentin PPSB et les verser dans la burette intérieure de l'appareil (Karl Fischer).Après titration, le résultat est noté sur l'écran (GSK, 2014).

II.3.4. Uniformité de masse

Objectif : s'assurer que la quantité adéquate en poudre est conforme (GSK, 2014).

Principe : analyse pondérale (le poids) du produit commercialisable

Protocole : différents échantillons à différents temps de production sont prélevés :

- 7 flacons début de la production ;
- 6 flacons milieux ;
- 7 flacons fins à partir du lot à contrôler.

Le calcul du poids moyen de chaque flacon se fait selon la formule suivante :

$$x = P_1 - P_2$$

Avec

- P1 : poids de flacon plein ;
- P2 : poids du flacon vide.
- Le calcul du poids moyen du lot se fait selon la formule suivante :

$$x = \text{moyenne 1} - \text{moyenne 2}$$

Avec - moyenne (1) : moyenne du poids des flacons pleins ;

- moyenne (2) : moyenne du poids des flacons vides.

II.3.5. Dosage des principes actifs et du conservateur :

Objectif : déterminer, par HPLC (Alliance Waters e 2695), la teneur en principes actifs et en conservateur par comparaison à la substance de référence de titre connu (GSK, 2014).

II.3.5.1. Dosage des principes actifs

Afin de pouvoir déterminer la dose des principes actifs, l'utilisation des standards est nécessaire.

➤ Préparation des standards (principes actifs et conservateur)

La préparation des standard des principes actifs (Amoxicilline trihydraté et acide clavulanique) se fait comme suit (GSK, 2015).

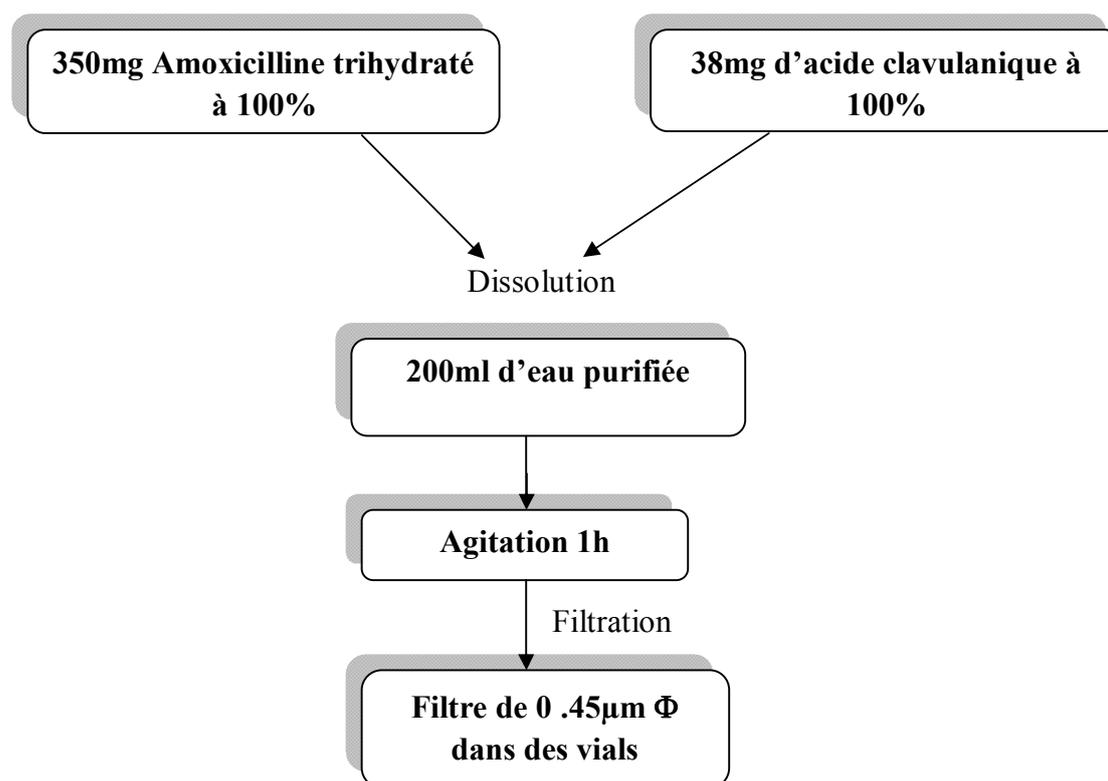


Figure 10 : Schéma de préparation des standards des principes actifs.

La préparation des standards du conservateur (benzoate de sodium) est schématisée sur la figure 11.

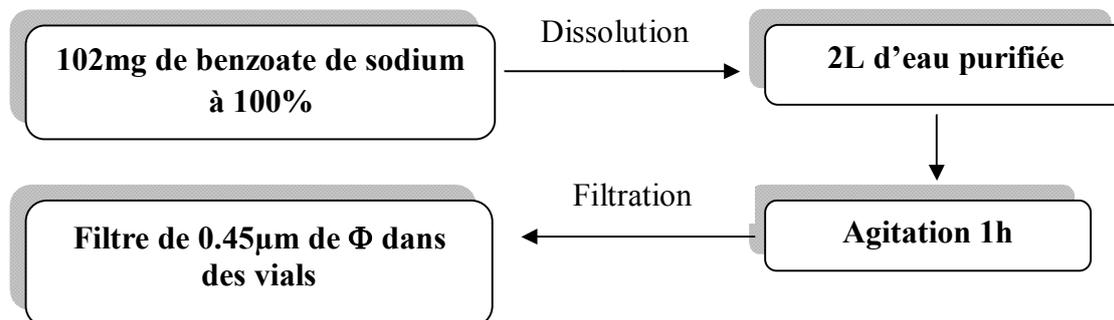


Figure 11 : Schéma de préparation du standard de benzoate de sodium.

➤ Préparation des phases mobiles

Dans le cas de l'Amoxicilline trihydraté et acide clavulanique la phase mobile est un mélange de : tampon phosphate pH 4 (figure 12), et de méthanol. L'éluion est en mode gradient pour les échantillons (tableau V), et en mode isocratique pour les standards (95% tampon phosphate et 5% méthanol).

Le tampon phosphate à pH 4 est préparé selon la figure ci-dessous

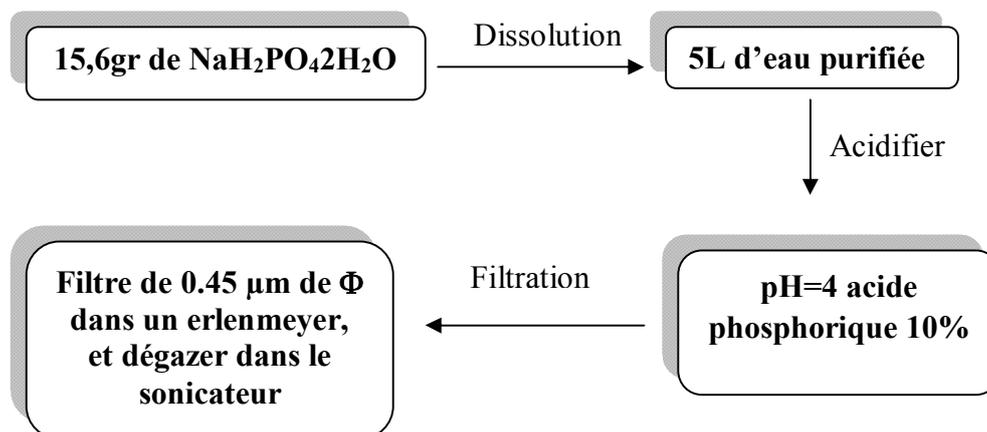


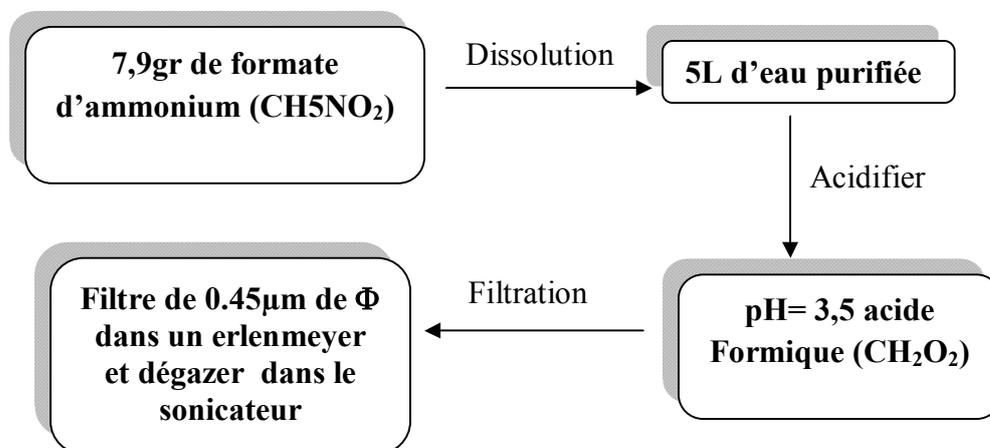
Figure 12 : Schéma de préparation de tampon phosphate à pH=4.

Tableau V : Proportion du système gradient.

Temps	Débit	A	B	C	D
	1,5	95%			5%
3,5	1,5	95%			5%
7	1,5	50%			50%
10	1,5	50%			50%
11	1,5	95%			5%
15	1,5	95%			5%

Dans le cas du conservateur benzoate de sodium la phase mobile est constituée de : 85% tampon formate d'ammonium pH 3,5 et 15% acétonitrile. L'élution est en mode isocratique pour les échantillons ainsi que pour les standards.

Le tampon formate d'ammonium pH 3,5 est préparé selon la figure 13.

**Figure 13** : Schéma préparation tampon 3,5.

Les étapes des dosages des principes actifs sont schématisées dans la figure 14.

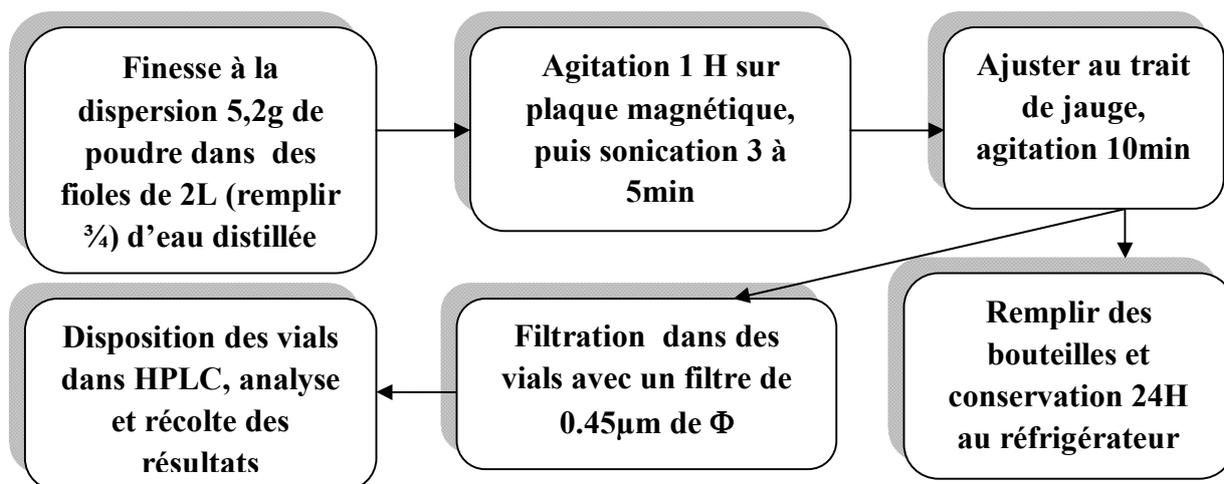


Figure 14 : Schéma du dosage des principes actifs.

II.3.5.2. Dosage du conservateur (benzoate de sodium)

Le dosage se fait de la même façon que les étapes ci-dessus (dosage des principes actifs). Dans ce cas le poids utilisé est de 10,27g (tout le contenu du flacon).

La teneur en principes actifs et en conservateur dans un flacon d'Augmentin PPSB 60ml est déterminée grâce à la formule ci-dessous.

$$Tmg/f = \frac{S_{ech}}{S_{std}} \times \frac{P_{std}}{P_{ech}} \times \frac{V_{de}}{V_{ds}} \times T_{wrs} \times PM/100$$

Avec : S_{ech} : surface de l'échantillon ;

S_{std} : surface du standard ;

P_{std} : pesée du standard ;

P_{ech} : pesée de l'échantillon ;

V_{de} : facteur de dilution de l'échantillon ;

V_{ds} : facteur de dilution du standard ;

T_{wrs} : titre du standard ;

PM : poids moyen de l'échantillon.

Les conditions chromatographiques pour le dosage des principaux composants d'Augmentin PPSB sont résumées dans le tableau ci-dessous

Tableau VI : Conditions chromatographiques.

Conditions	Les principes actifs	Conservateur
Température de la colonne	25°C ± 5°C	25°C ± 5°C
Température des échantillons	5°C ± 3°C	5°C ± 3°C
Longueur d'onde	220nm	225 nm
Type de la colonne	C18	C18
Longueur de la colonne	150mm	150 mm
Diamètre de la colonne	3,9mm	3,9 mm
Porosité de la colonne	10µm	5µm
Volume d'injection	10 µl	50 µl

II.4. Tests sur lot de stabilité

II.4.1. Tests microbiologiques sur Augmentin PPSB

Les tests sont réalisés dans des conditions permettant d'éviter toute contamination microbienne extrinsèque du produit à examiner, sous hotte à flux laminaire ou poste de sécurité microbiologique (PSM), et matériel et milieux de culture stériles (GSK, 2014).

II.4.1.1. Préparation des échantillons

Les analyses seront réalisées sur :

- une solution d'Augmentin à 1 /10 dans un tampon Peptone Caséine Soja (PCS), par la suite 10ml de pénicillinase (3500 UI), et de sulfite de sodium 20% sont ajoutés (GSK, 2014).

II.4.1.2. Dénombrement

➤ Dénombrement des levures et moisissures (DMLT)

- ensemencement en masse de 1ml d'échantillon préparé dans deux boîtes de pétri en milieu gélose Sabouraud dextrosé (SDG);
- incubation à 20-25°C pour une durée de 5 à 7 jours ;
- le dénombrement se fait à l'œil nu (GSK, 2014).

- **Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT)**
 - ensemencement en masse de 1 ml d'échantillon préparé dans deux boîtes de pétri en milieu caséine-soja;
 - incubation à 30-35°C pour une durée de 3 à 5 jours ;
 - le dénombrement se fait à l'œil nu (**GSK, 2014**).
- **Dénombrement des Entérobactéries et bactéries à gram négatif résistantes aux sels biliaires**
 - Incubation du milieu tamponné caséine soja pendant 2h à 20-25°C ;
 - ensemencement en surface sur un milieu Mossel ;
 - incubation 24h-48h et repiquage sur un milieu gélosé bile-violet rouge 18h-24h.
 - le dénombrement se fait à l'œil nu (**GSK, 2014**).
- **Dénombrement d'*Escherichia coli***
 - incuber 1 ml de l'échantillon dans 100 ml de bouillon MacConkey, à 42-44° c pendant 24h-48h ;
 - repiquage sur une gélose MacConkey et ré-incubation pendant 18h-72H à 30 35°C ;
 - le dénombrement se fait à l'œil nu (**GSK, 2014**).
- **Dénombrement de *Salmonelles***
 - Ensemencement de 0.1ml de l'échantillon a testé (PCS) dans 10ml de bouillon, *Rappaport-Vassiliadis* (RVS);
 - incubation à 30-35°C pendant 18h-24h, puis repiquage en surface sur la gélose xylose-lysine-désoxycholate (XLD) dans les mêmes conditions ;
 - le dénombrement se fait à l'œil nu (**GSK, 2014**).

II.4.1.3. Recherche de *Staphylococcus aureus*

- ensemencement en surface 1ml de l'échantillon sur un milieu gélosé mannitol-sel ;
- incubation 30-35°C pendant 18h-24h ;
- dénombrement à l'œil nu (**GSK, 2014**).

Les différentes étapes préalablement citées pour l'analyse microbiologique sur poudre d'Augmentin sont résumées dans la figure 15.

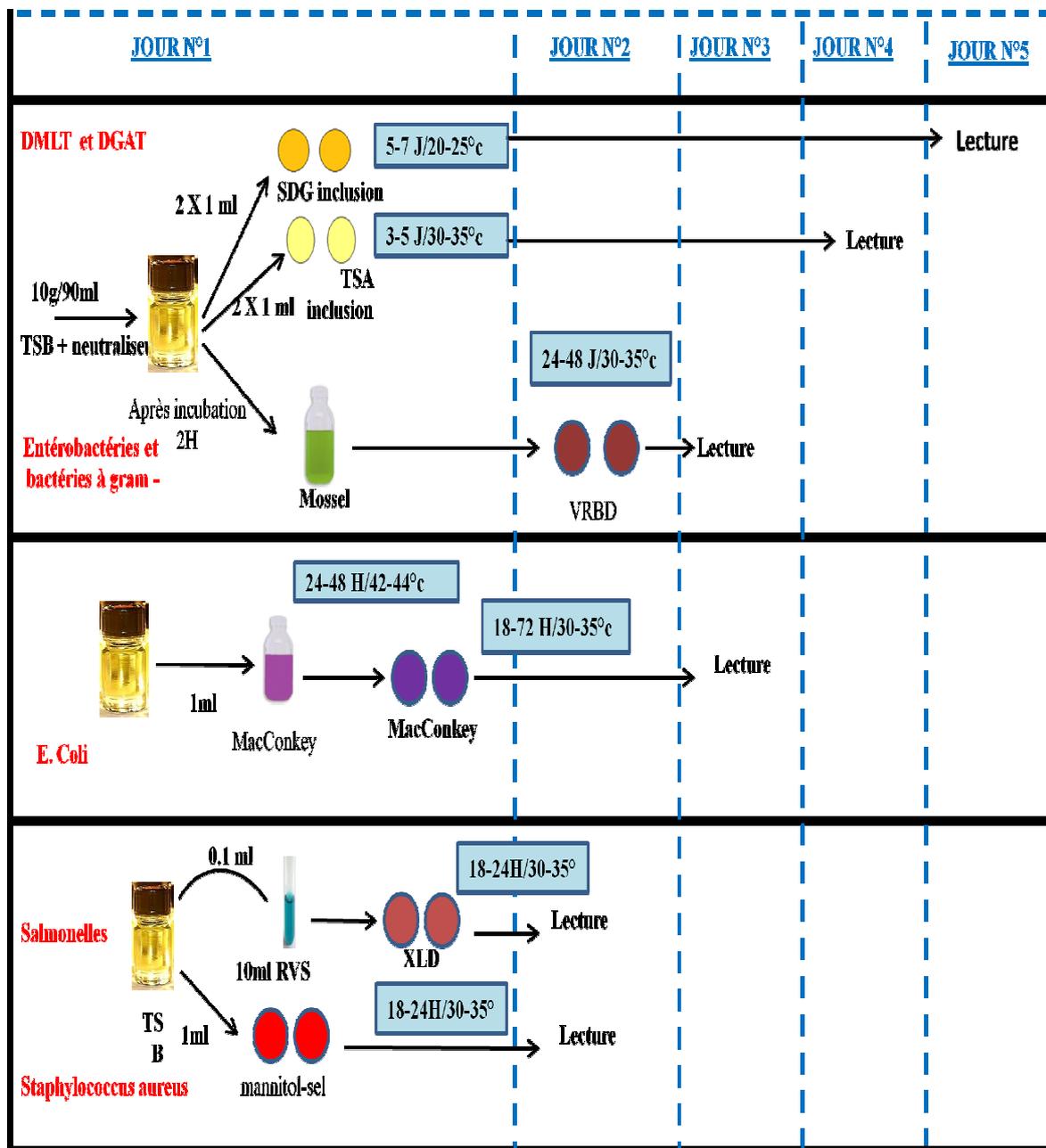


Figure 15 : Schéma récapitulatif des analyses microbiologiques « Augmentin PPSB 60ml ».

II.5. Contrôle de la stabilité

Pour suivre la stabilité d'Augmentin PPSB, trois types de contrôles sont effectués :

➤ Type 1 : étude de stabilité de la suspension reconstituée

Cette étude concerne le médicament reconstitué (suspension buvable). L'analyse se fait à des intervalles de temps fixes :

- T0 et T0 + 7jours après reconstitution ;
- T Péréemption et T Péréemption + 7jours après reconstitution

➤ Type 2 : suivi de stabilité en temps réel

L'étude se fait dans les conditions de stockage usuelles ou recommandées, en fonction de la législation du pays concerné. Dans ce cas les études s'effectuent dans une enceinte climatique à température et d'humidité relative contrôlée ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) et HR ($60\% \pm 5\%$) (GlaxoSmithKline, 2015).

Les temps d'analyse sont les suivants :

T0, T 03 mois, T 06 mois, T 09 mois, T12 mois, T18 mois, T24 mois puis chaque année jusqu'à péremption.

➤ Type 3 : étude de stabilité accélérée

L'étude est menée dans des conditions de dégradation accélérée afin d'augmenter la vitesse de dégradation chimique ou l'altération physique du principe actif.

Ces études de stabilité doivent s'effectuer dans une enceinte climatique à température et humidité relative contrôlée, ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) et HR ($75\% \pm 5\%$) (GSK, 2015).

Les temps d'analyse sont les suivants : T0, T 01, T03 mois et T06 mois.

Les conditions de stockage sont recommandées par l'ICH selon la zone 2.

II.5.1. Etude de stabilité sur Augmentin PPSB

II.5.1.1. Contrôle du pH

Après reconstitution du médicament, la mesure du pH se fait de la même façon que celle d'un produit fini (voir page 1).

II.5.1.2. Teneur en eau

La mesure de la teneur en eau ne s'effectue que dans les cas des études de stabilité réelle et accélérée, avec méthode Karl Fischer de la même façon que pour le produit fini. (Voir page 1) (GSK, 2014).

II.5.1.3. Dosage des principes actifs et du conservateur

La détermination de la quantité des principes actifs et du conservateur de la solution reconstituée se fait comme suit :

➤ **Dosage d'Amoxicilline tri-hydratée et d'Acide clavulanique**

Le dosage se fait selon la figure 16 (GSK, 2015).

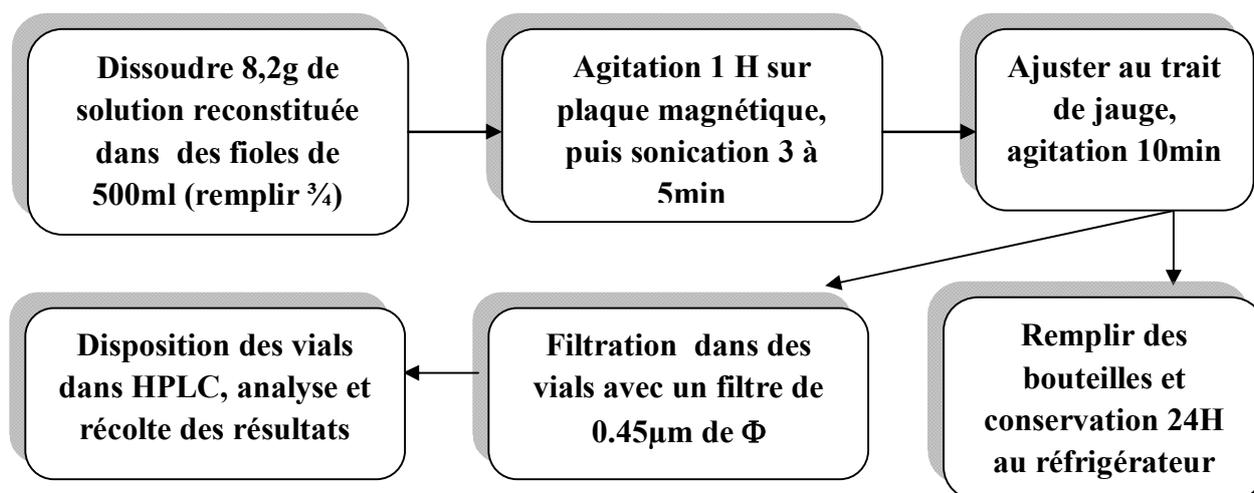


Figure 16 : Schéma du dosage des principes actifs pour la solution reconstituée.

➤ **Dosage du benzoate de sodium**

Le dosage du conservateur (benzoate de sodium) se fait de la même façon que le dosage des principes actifs (figure 16), avec 16,4 g de solution reconstituée (GSK, 2015).

II.5.1.4. Dosage des produits de dégradation

➤ Produits de dégradation de l'Amoxicilline

Pour le dosage des produits de dégradation de l'Amoxicilline trihydraté « Mercury Titration Impurty » « MTI », trois tampons sont indispensables (GSK, 2015).

La préparation du tampon acétate est schématisée sur la figure 17.

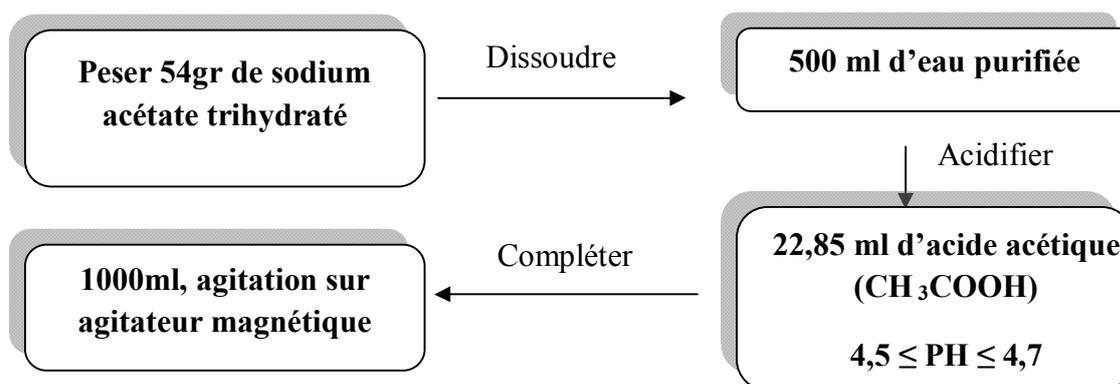


Figure 17 : Schéma préparation tampon acide acétate.

La préparation du tampon amidazole se fait selon les étapes la figure 18.

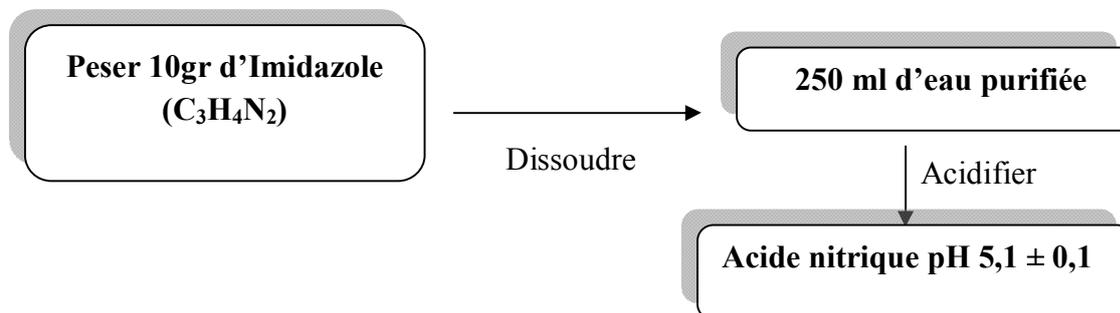


Figure 18 : Schéma préparation tampon imidazole.

La préparation du tampon borate se fait selon les étapes la figure 19.

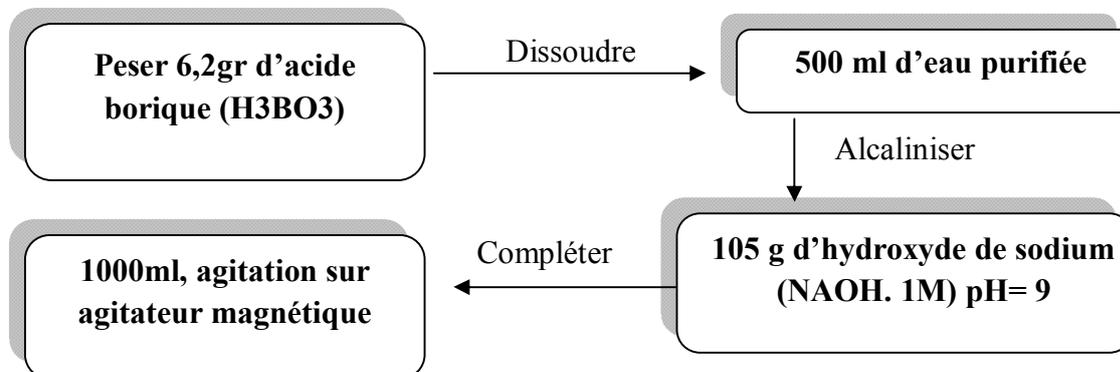


Figure 19 : Schéma préparation tampon borate.

Le dosage des produits de dégradation de l'Amoxicilline « MTI » se fait selon le schéma ci-dessous (figure 20).

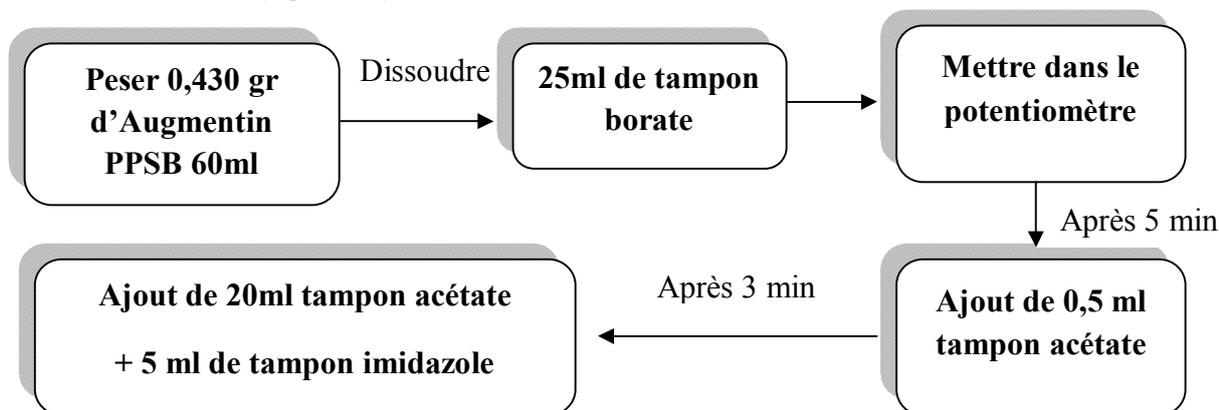


Figure 20 : Schéma dosage MTI.

Afin de déterminer la dose des produits de dégradations de l'Amoxicilline, des résultats sont déduits à partir des formules suivantes

$$\text{Produit fini : MTI \%} = \frac{\text{moyenne donnée par le DL70} \times \text{Pth}}{\text{Valeur théorique en amoxicilline}}$$

Pour la solution reconstituée

$$\text{MTI\%} = \frac{\text{EP} \times \text{CO1} \times 383,4 \times 100 \times \text{Pth}}{\text{T} \times \text{CO0}}$$

Avec : EP : volume de nitrate mercurique versé à l'équivalence (ml) ;

CO1 : molarité de la solution de nitrate mercurique (mol /l) ;

Pth : poids théorique de poudre dans le flacon (mg) ;

T : teneur nominale en Amoxicilline (mg/flc)

CO0 : prise d'essai de poudre introduite dans le bécher en mg .

$$\text{CO0} = \text{PE} \times \frac{\text{X}}{\text{Y}}$$

Avec : PE : prise d'essai de la solution reconstituée (mg) ;

X : poids réel de la poudre dans le flacon étudié (g) ;

Y : poids réel de la suspension reconstituée, dans le flacon étudié (g).

➤ **Dosage des produits de dégradation de l'acide clavulanique**

La détermination de la teneur en claves polymères (produits de dégradation de l'acide clavulanique) est réalisée avec un spectromètre fluorométrique Perkin Elmer (GSK, 2016).

Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant une solution d'Acide clavulanique à 60% à des concentrations différentes (figure 21).

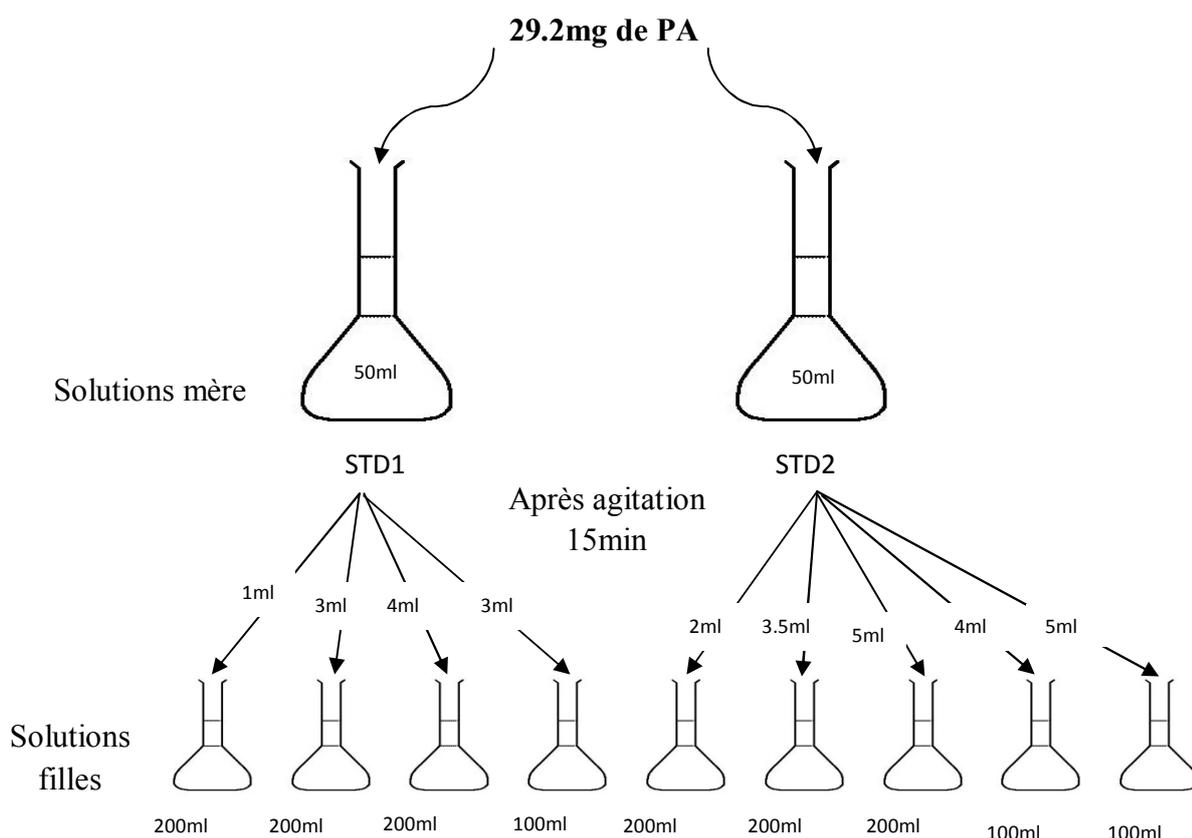


Figure 21 : Schéma préparation des solutions filles.

Les étapes de la prise d'essai sur Augmentin PPSB pour la détermination de la teneur en claves polymères sont résumées dans la figure ci-dessous (GSK, 2016).

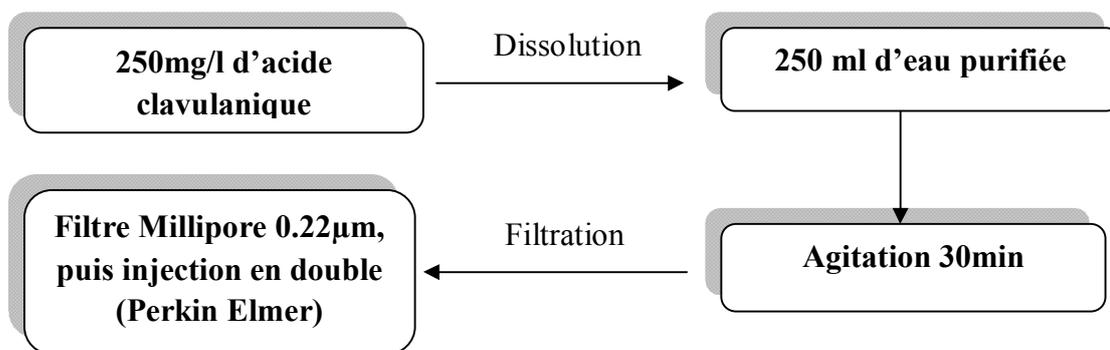


Figure 22 : Schéma dosage des claves polymères.

La détermination du pourcentage des clavés polymères s'effectue selon la formule suivante :

$$\text{Clavés polymères \%} = \frac{E \times V \times 10}{P \times D}$$

Avec

E : concentration apparente en polymère de l'essai ;

V : volume de dilution de l'essai (ml) ;

P : prise d'essai (mg) ;

D : dosage théorique en acide clavulanique (en mg).

$$D = \frac{\text{Dosage théorique en acide clavulanique (en mg)}}{\text{Masse théorique du lot (en mg)}} \times 100$$

Les conditions analytiques de Perkin Elmer, pour la détermination de la teneur des clavés polymères sont mentionnées dans le tableau VII.

Tableau VII : Conditions chromatographiques pour clavés polymères (**GlaxoSmithKline, 2016**)

Paramètres	Conditions
Pompe	Débit : 1.5ml/min
Détecteur (fluorescence)	- Longueur d'excitation : 360nm - Longueur d'émission : 440nm - Grain : 10 - Atténuation : 32 - Fréquence de la lampe : 55Hz
Eluant	Solution KCL à 0.3%
Volume injecté	50µl
Temps de rétention	0.14 min
Température de l'échantillon	5 ± 1°C

Chapitre III
Résultats et Discussions

III.1. Lot de commercialisation N° 603005**III.1.1. Mise en suspension**

Après 24h, la solution reconstituée reste en suspension en formant une couleur blanchâtre et laisse déposer un léger sédiment blanc après repos.

Résultat mesure pH et teneur en eau

Tableau VIII : Résultats contrôles pH et teneur en eau.

Temps	pH	Teneur en eau
Norme	5- 6,5	≤ 11 %
Résultats	5,4	8,9 %

Le résultat du pH du lot commercial 603005 (à T0), est de 5,4 situé entre la norme inférieur qui est 5 et la norme supérieure de 6,5. Ce qui répond aux exigences de l'unité de production « **GSK** », suivant les normes de la pharmacopée européenne.

La teneur en eau d'Augmentin PPSB à T0 est de 8,9%, ce qui indique que l'hygroscopie de la poudre d'Augmentin est inférieure à la norme supérieure (11%).

III.1.2. Uniformité de masse

Le poids moyen d'un échantillon du lot commercial N° 603005 est de 10,41 g. Il se situe dans l'intervalle exigé [9,89 g - 10,931g ± 5%], ce qui montre que la répartition de la poudre dans les flacons d'Augmentin durant le processus de fabrication a été établi avec succès pour un flacon d'échantillon (tableau VIII) et pour le lot entier (tableau IX).

Tableau IX : Résultats uniformité de poids moyen d'un flacon.

Poids moyen (Pm)	Pm= 10,41 g
Normes	Poids théorique; [9,89 - 10,931± 5%] g
Résultat	Conforme

Tableau X : Résultats uniformité de poids moyen du lot commercial N° 603005.

Uniformité de masse			
T1= Pm - 7,5/100 x Pm	9637,88	T1= Pm + 7,5/100 x Pm	11200,79
T2= Pm - 15/100 x Pm	8856,43	T2= Pm + 15/100 x Pm	11982,24
Résultats: Nbre de flacons entre T1 et T2	0	Norme: 02 flcs au max peuvent dépasser la norme Pm +/- 7,5%	
Résultats: Nbre de flacons au-delà de T2	0	Norme: Aucun flacon ne doit dépasser la norme Pm +/- 15%	
Résultat	Conforme		

L'essai d'uniformité de teneur des préparations multi-doses est basé sur la détermination de la teneur individuelle en substance (s) active(s) des unités composant l'échantillon, permettant de vérifier que les teneurs individuelles en substance active se trouvent dans les limites établies par rapport à la teneur moyenne de l'échantillon (**Pharmacopée européenne, 2008**).

D'après le tableau ci-dessus (tableau X), on constate que le nombre de flacons entre l'intervalle [Pm +/- 7,5%-Pm +/- 15%], et celui dépassant la norme T2 est nul, sachant que la norme est 2 flacons et de 0 respectivement. Ce Résultat indique que tous les échantillons du lot commercial N° 603055 sont uniformes, et conforme aux exigences.

III.1.3. Résultats des dosages

L'utilisation de l'HPLC dans une entreprise pharmaceutique a pour but d'assurer la qualité des tests fournit grâce à sa précision, sa fiabilité, sa reproductibilité, et à sa rapidité, donnant ainsi des résultats précis et authentiques (**Pharmacopée européenne, 2015**).

Au sein de l'entreprise pharmaceutique « GSK » l'appareillage est soumis à des tests de robustesse afin de contrôler l'efficacité de l'appareil, par des alternances d'injections entre standards et échantillons (**GlaxoSmithKline, 2015**).

D'après le chromatogramme HPLC du standard 1 (figure 23), on remarque que les temps de rétention de l'acide clavulanique et de l'Amoxicilline sont de : **2 min** et **4 min** respectivement, ceci étant en relation avec leurs structures et leurs degrés de polarité. La

surface du pic correspondant à l'Amoxicilline est de 86,5%, et celle de l'acide clavulanique est de 13,5% (tableau XI).

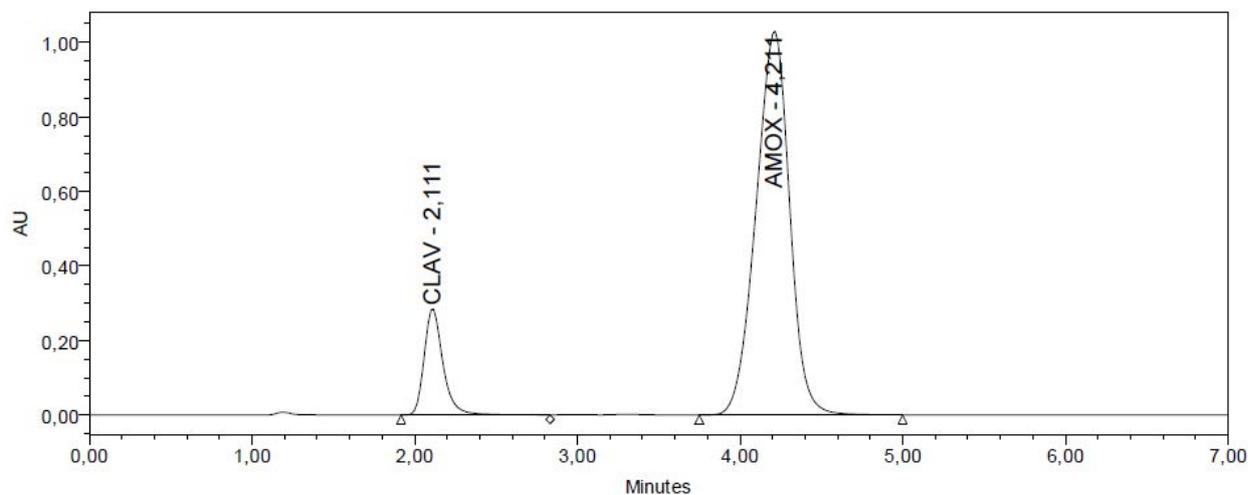


Figure 23 : Chromatogramme des principes actifs du standard 1.

Tableau XI : Surface du chromatogramme du standard 1.

	Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1	CLAV	2,111	2312680,49	13,50	285344
2	AMOX	4,211	12821287,40	86,50	1031225

Les résultats du chromatogramme de l'échantillon 1 (figure 24), présente une similitude à celle du standard 1 (figure 23). Les temps de rétention ainsi que les surfaces des pics des deux principes actifs à savoir l'acide clavulanique et de l'Amoxicilline sont respectivement 2min/14,13% et 4min/85,87% (tableau XII). Ces résultats nous confirment que l'échantillon 1 est conforme aux exigences revendiquées par le laboratoire contrôle qualité « GSK »

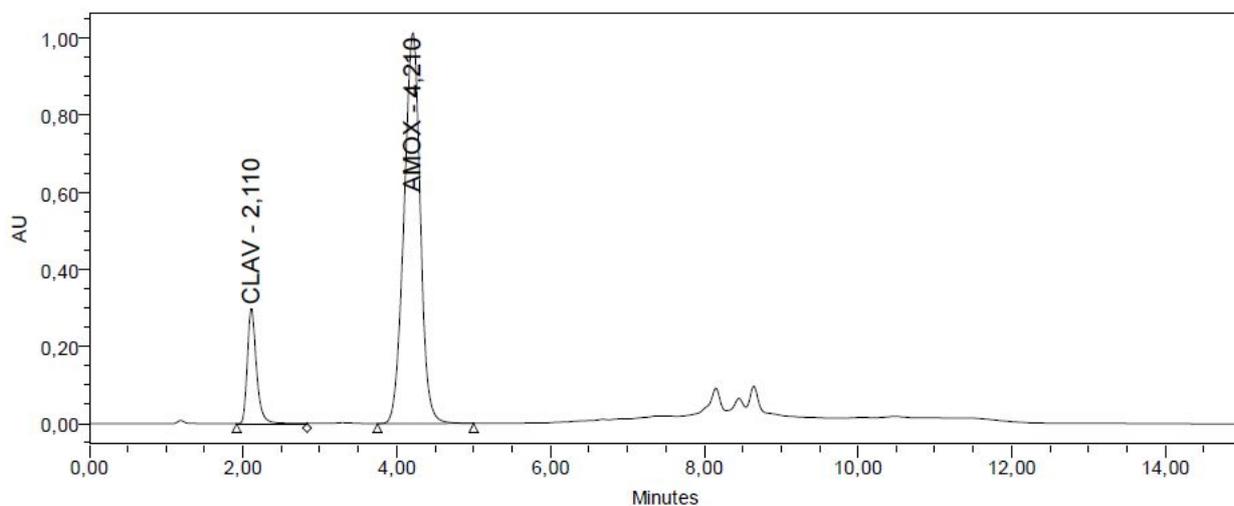
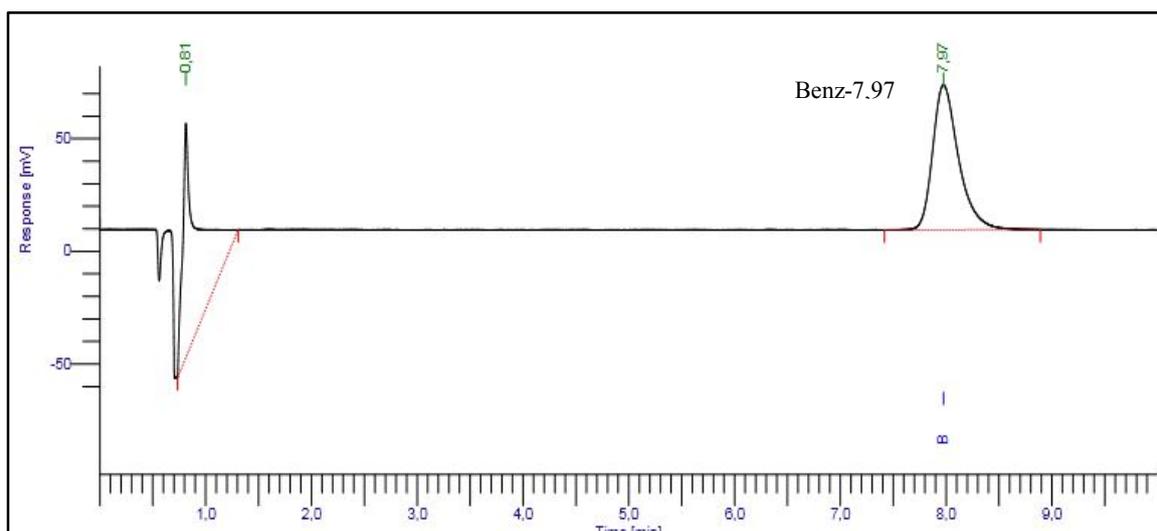


Figure24 : Chromatogramme des principes actifs de l'échantillon 1 du lot 603005.

Tableau XII : Les surfaces du chromatogramme des principes actifs de l'échantillon 1N° de lot 603005.

	Peak Name	RT	Area	% Area	Height
1	CLAV	2,110	2450798,70	14,13	299400
2	AMOX	4,210	14894619,08	85,87	1015902

Dans le cas du conservateur, le benzoate de sodium, les chromatogrammes du standard 1 (figure 25), et de l'échantillon 1 (figure 26) présentent des temps de rétention (**7.97min**), et des surfaces des aires similaires (tableaux : XIII, XIV).

**Figure 25** : Chromatogramme du conservateur du standard 1 N° de lot 603005.**Tableau XIII** : Surfaces du pic standard 1 du conservateur de l'échantillon 1 N° de lot 603005.

Peak Name	RT	Area	Height
Benzoate de Sodium	7,974	1098841,67	64231,90

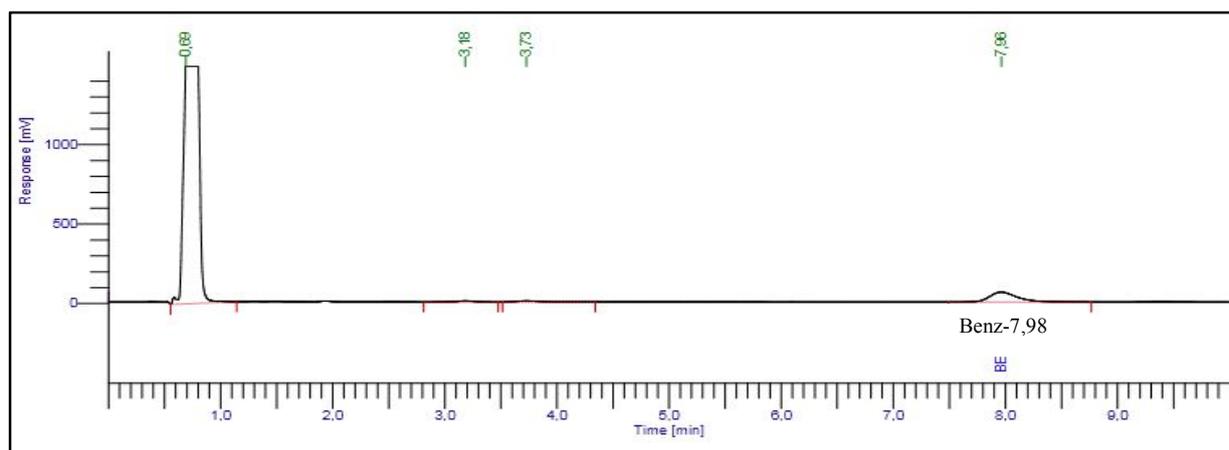


Figure 26 : Chromatogramme de l'échantillon 1 du conservateur N° de lot 603005.

Tableau XIV : Surfaces du pic du conservateur de l'échantillon 1 N° de lot 603005.

Peak Name	RT	Area	Height
Benzoate de Sodium	7,974	1098841,67	64231,90

Les teneurs des principes actifs et conservateur d'Augmentin PPSB 60 ml ont été calculé à partir des aires des pics chromatographiques. Les résultats sont résumés dans le tableau XV.

Tableau XV: Dosage des principes actifs et conservateur d'Augmentin PPSB 60 ml.

	Titre en mg/flc Amoxicilline	Titre en mg/flc de l'acide clavulanique	Titre en mg/flc de benzoate de sodium
Teneur moyenne	5901,5	781,9	100,9
RSD en %	1,2	0,8	1,87
Norme	Flc 60 ml: 5700 à 6300 mg/flc	Flc 60 ml: 748,1 à 826,9 mg /flc	91,8 à 112,2 mg/flc
Résultat	Conforme		

III.2. Résultats de l'étude de stabilité lot commercialisation N° 403055

Les études de stabilité (physico-chimique, microbiologique) sont exploitées afin de déterminer une date limite de consommation pour un médicament. Cette analyse nous indique si tous les éléments du processus de fabrication garantissent la sécurité du médicament et du consommateur (Graham, 2002).

III.2.1. Tests microbiologiques

L'origine de la contamination bactérienne est multiple : elle peut provenir de la matière première, des étapes de fabrication, du conditionnement ou même du stockage. C'est pour cela que des tests microbiologiques sont effectués à différent stade du processus de production.

Au vu des résultats des ensemencements, on constate l'absence totale de bactéries : entérobactéries, bactéries à gram négatif résistantes aux sels biliaires, *Escherichia coli*, *Salmonelles*, et de *Staphylococcus aureus*. Ces résultats (tableau XVI) montrent qu'Augmentin PPSB 60ml ne renferme aucun germe dans l'ensemble des échantillons analysés, ce qui est conforme aux exigences établis par la pharmacopée européenne et celles adoptées par le laboratoire contrôle qualité « GSK ».

Tableau XVI : Résultats des tests microbiologiques.

Type de bactérie	Résultat	Norme
DMLT	-	< 100 ufc /g
DGAT	-	< 1000 ufc /g
Entérobactéries et bactéries à gram négatif résistantes aux sels biliaires	-	< 100 ufc /g
<i>Escherichia coli</i>	-	Absence / g
<i>Salmonelles</i>	-	Absence / 10g
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	Absence / g

III.2.2. Etude de stabilité dans des conditions réelles

Rappelons que Les conditions réelles sont :

- Température : 25 ± 2 °C (23 à 27) °C
- Humidité relative : 60 ± 5 % (55 à 65) %

III.2.2.1. L'analyses physico-chimiques de la solution reconstituée

L'étude de stabilité sur la solution reconstituée d'Augmentin PPSB 60 ml dans des conditions réelles, à partir de J0-T0 à J0-J7 (7 jours), nous montre que les résultats des analyses faites sur différents paramètres, sont conformes aux normes adoptées par le laboratoire contrôle qualité « GSK » (tableau XVII).

Tableau XVII : Résultats d'analyses physico-chimiques de la solution reconstituée.

Temps	pH	Teneur en eau	Teneur en amoxicilline mg/flc	Teneur en acide clavulanique mg/flc	Teneur en benzoate de sodium mg/flc	MTI	Claves polymères
J0-T0	5,3	NA	5917,34	797,3	103,8	2,8	NA
Norme	5-6,5	Max 11%	5700-6300	748,1-826,9	91,8-112,2	Max 5%	Max 5,5%
T0-J7	6,0	NA	5855,28	690,80	102,20	1,7	NA
Norme	5-6,5	Max 11%	5400-6300	600-826,9	91,8-112,2	Max 5%	Max 5,5%

Les différentes analyses physico-chimiques et microbiologiques, ainsi que le dosage des composants du médicament et leurs produits de dégradation, pour l'étude de stabilité portées sur Augmentin PPSB du lot commercial N° 403055 durant 12 mois, suivant les conditions exigées par le laboratoire, les résultats récoltés se situent dans les normes (figure 27).

Nous observons de légères variations mais qui restent dans l'intervalle exigé. Cela est dû à plusieurs facteurs : facteur humain et erreurs systémiques. Ces résultats nous permettent de dire que le produit stocké dans ces conditions reste stable tout au long de cette période. (tableau XVIII)

Tableau XVIII : Résultats des analyses physico-chimiques durant l'étude de stabilité.

Temps	pH N=5-6.5	KF Max 11%	Teneur en Amox mg/flc Min 5400 Max 6300	Teneur en Clavulanate mg/flc min 708,7 max 826,9	Teneur en benzoate de sodium mg/flc min 45,9 max 56,1	MTI max 5%	Claves polymères max 5%
T0	5,5	9,6	5973	793,6	102,7	1,2	0,37
T3R	5,3	9,6	6160,2	787,96	102,5	1,2	0,76
T6R	5,3	10,1	5997,0	764,3	101,3	1,7	0,77
T9R	5,3	10,2	5907,0	772,8	99,1	1,7	0,85
T12R	5,3	10,2	5982,3	776,3	102,4	1,8	1,05

Les résultats de l'étude de stabilité sur le lot commercial d'Augmentin PPSB 60ml sont résumés dans les figures ci-dessous

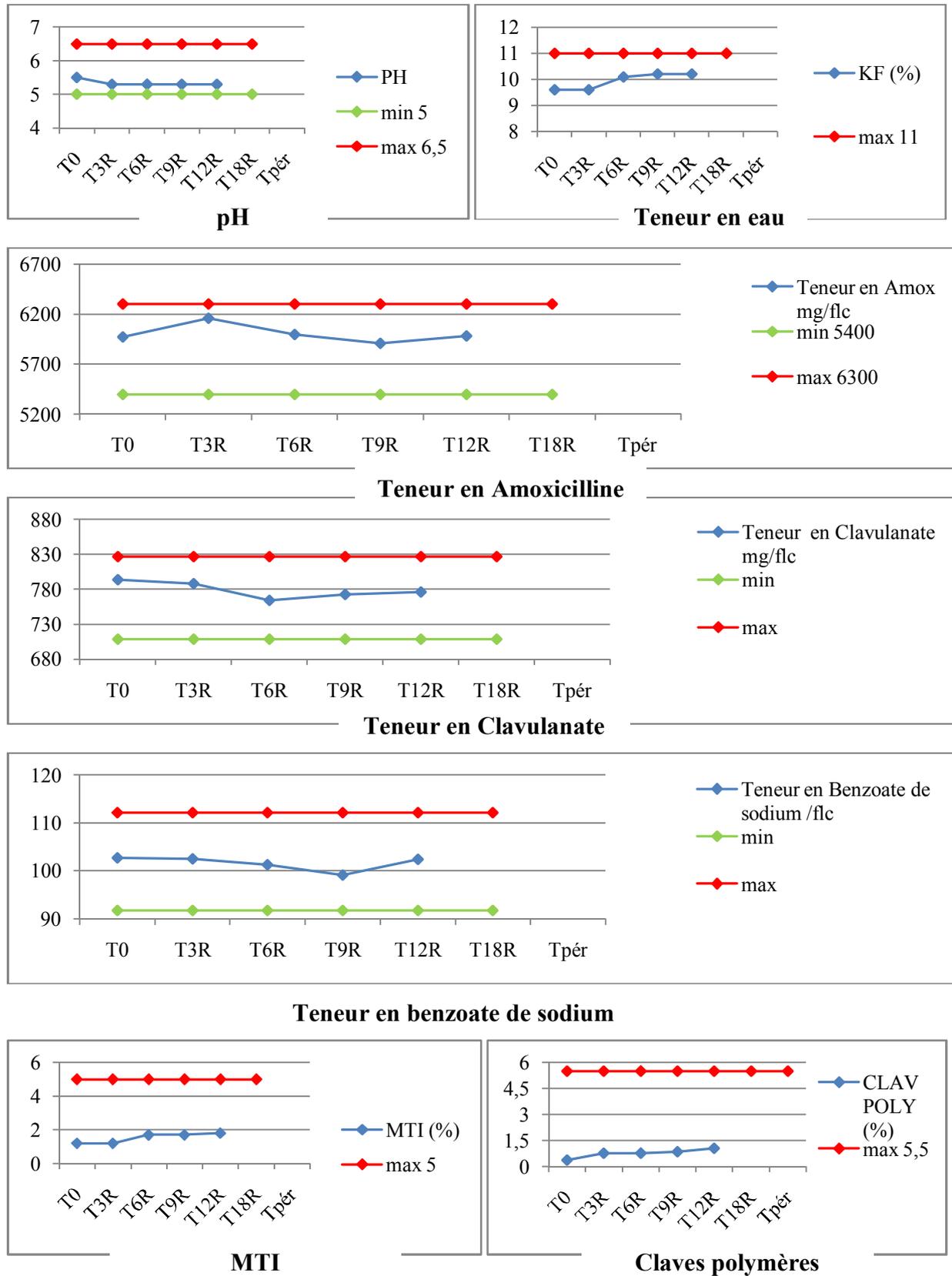


Figure 27: Tendances de l'étude de stabilité d'Augmentin PPSB 60ml lot commercial N° 403055

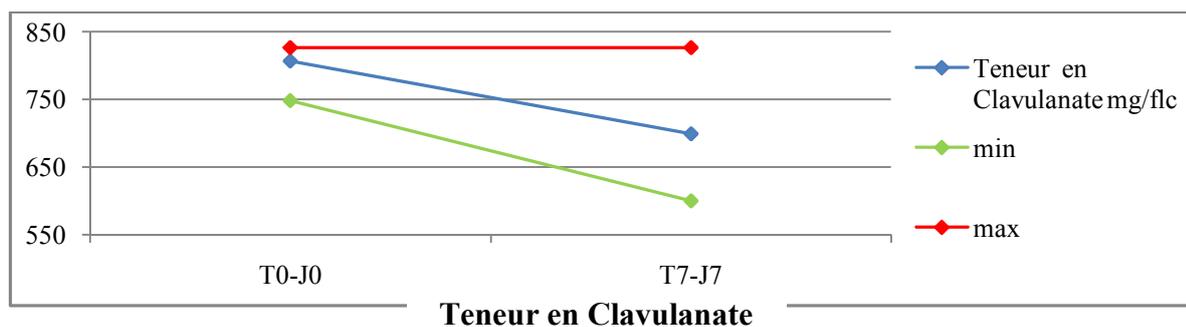
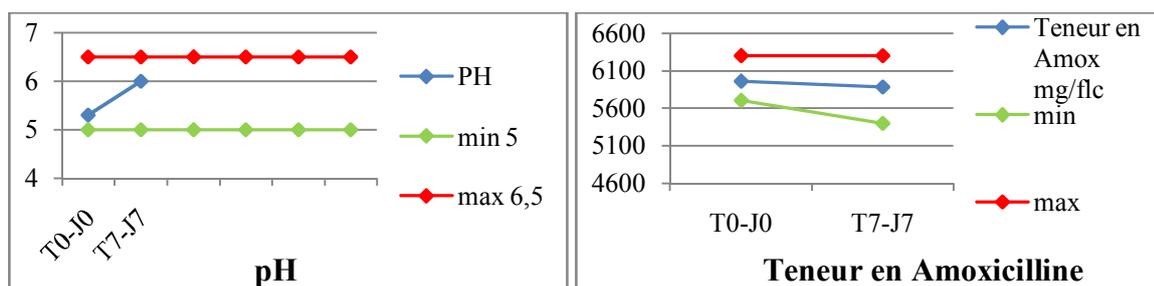
III.3. Résultats analyses physico-chimiques stabilité lot de validation N° 503047

Plusieurs études de stabilité sont effectuées sur différents lots de production médicamenteuse, (lot commercial et lot de validation), afin de prouver leur conformité et d'approuver leur commercialisation (Bonnet, 2007).

Les résultats des tests effectués sur le lot de validation Augmentin PPSB 60 ml N° 503047 et la solution reconstituée dans des conditions réelles et accélérées durant les 6 mois d'étude, sont regroupés dans les tableaux : XIX, XX, et XXI respectivement, démontrent que le lot N° 503047 est conforme aux normes exigées.

Tableau XIX : Résultats d'analyses physico-chimiques de la solution reconstituée du lot de validation N° 503047

Temps	pH	Teneur en eau	Teneur en amoxicilline mg/flc	Teneur en acide clavulanique mg/flc	Teneur en benzoate de sodium mg/flc	MTI	Claves polymères
J0-T0	5,3	NA	5958,7	806,5	103,5	2,8	0,57
Norme	5-6,5	Max 11%	5700-6300	748,1-826,9	91,8-112,2	Max 5%	Max 5,5 %
T0-J7	6,0	NA	5878,65	699,59	103,69	1,7	0,87
Norme	5-6,5	Max 11%	5400-6300	600-826,9	91,8-112,2	Max 5%	Max 5,5%



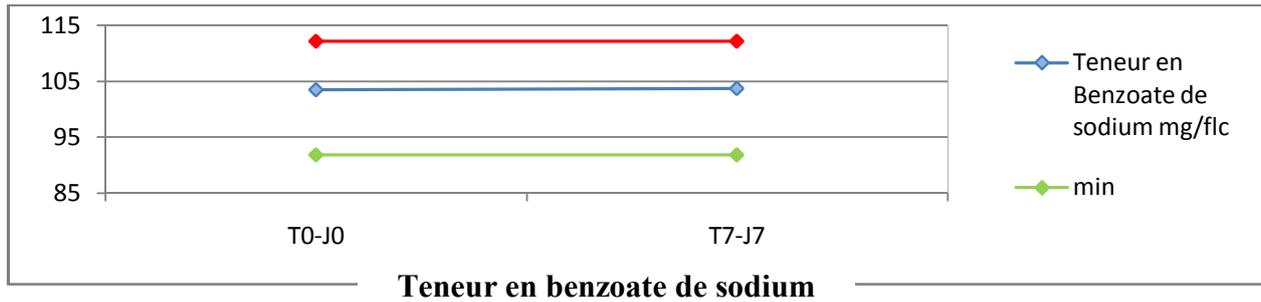
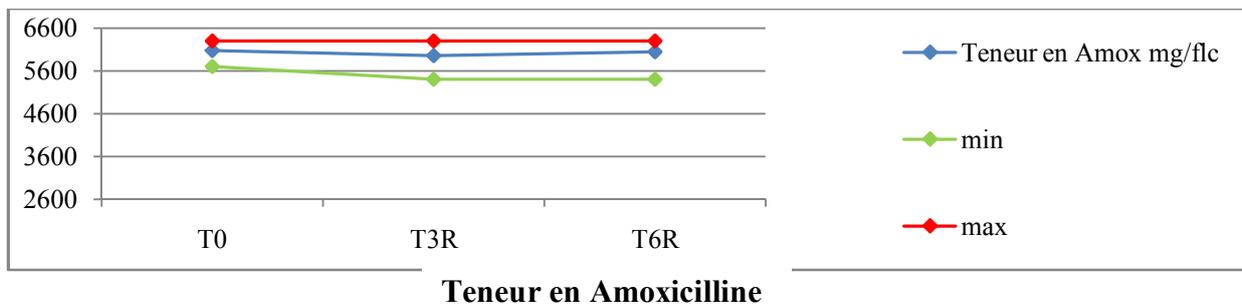
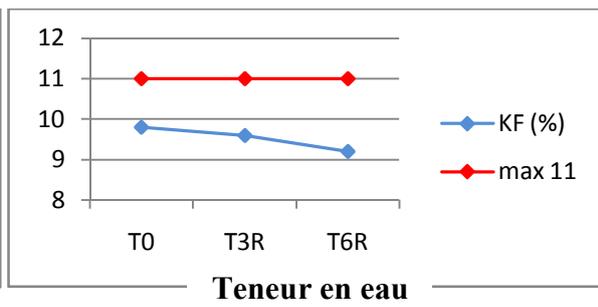
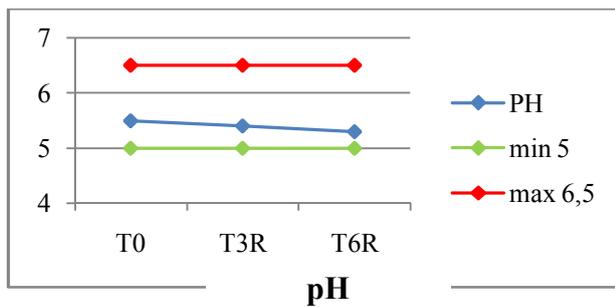


Figure 28 : Tendances de l'étude de stabilité de la solution reconstituée d'Augmentin PPSB60ml du lot de validation N° 503047.

Tableau XX : Résultats d'analyses physico-chimiques dans des conditions réelles du lot de validation N° 503047.

Temps	PH N=5- 6.5	KF Max 11%	Teneur en Amox mg/flc Min T0 5700 5400 Max 6300	Teneur en Clavulanate mg/flc min 708,7 max 826,9	Teneur en benzoate de sodium mg/flc min 45,9 max 56,1	MTI max 5%	Claves polymères max 5%
T0	5,5	9,8	6078,5	810,3	96,5	NA	0,48
T3R	5,4	9,6	5951,3	814,1	103,9	1,2	0,9
T6R	5,3	9,2	6046,4	814,5	99,7	1,4	1,6



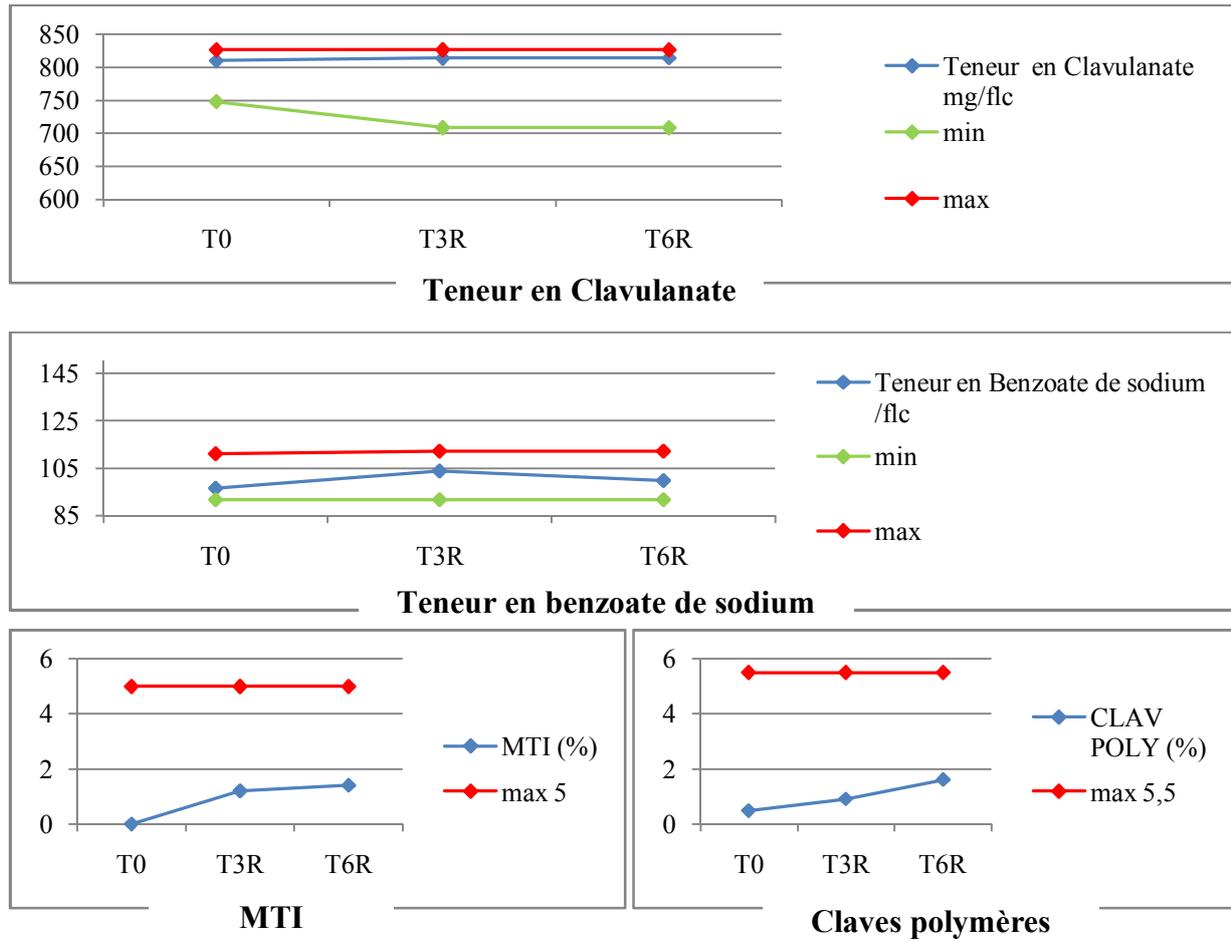


Figure 29 : Tendances de l'étude de stabilité dans des conditions réelles d'Augmentin PPSB 60ml du lot de validation N° 503047.

➤ **Etude de stabilité dans des conditions accélérées**

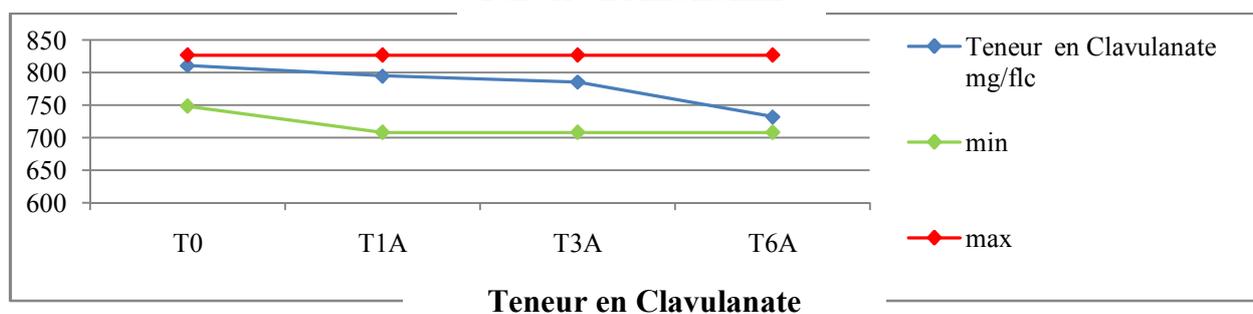
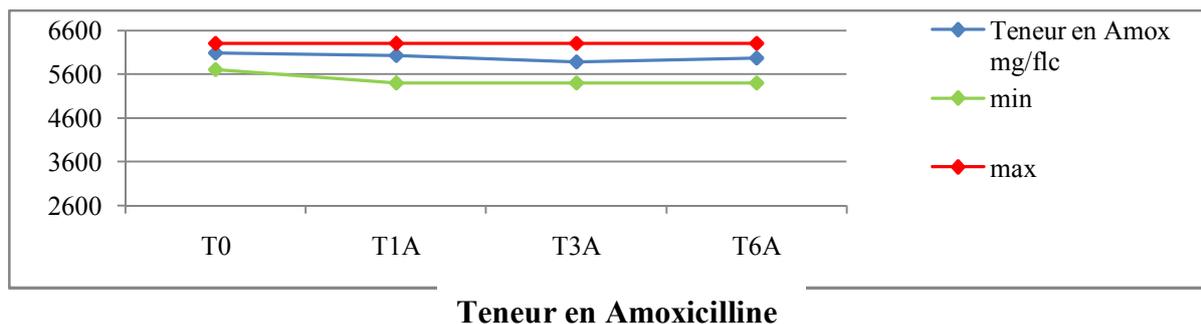
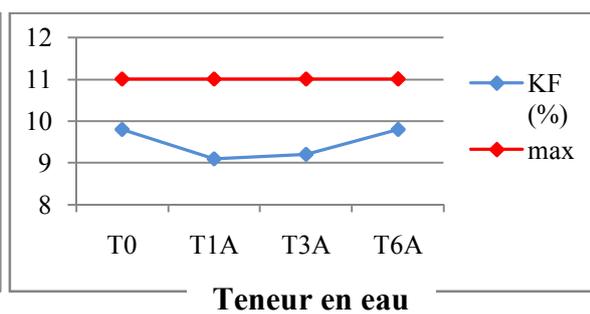
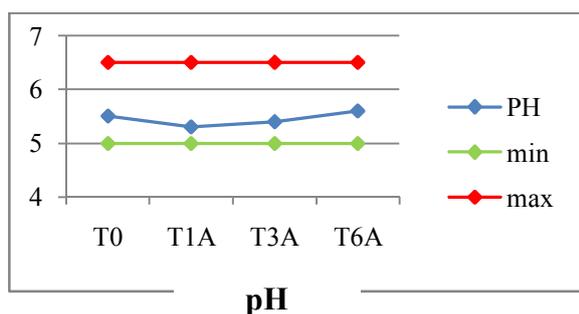
Rappelons que Les conditions accélérées sont :

- Température : 40 ± 2 °C (38 à 42) °C
- Humidité : 75 ± 5 % (70 à 80) %

Tableau XXI : Résultats d'analyses physico-chimiques dans des conditions accélérées du lot de validation N°503047.

Temps	PH N=5- 6.5	KF Max 11%	Teneur en Amox mg/flc Min T0 5700 5400 Max 6300	Teneur en Clavulanate mg/flc min 708,7 max 826,9	Teneur en benzoate de sodium mg/flc min 45,9 max 56,1	MTI max 5%	Claves polymères max 5,5 %
T0	5,5	9,8	6078,5	810,3	96,5	NA	0,9
T1A	5,3	9,1	6027,8	794,4	96,4	0,9	1,2
T3A	5,4	9,2	5882,0	785,3	102,9	3	1,6
T6A	5,6	9,8	5961,1	732,06	101,9	2,3	1,94

Les résultats de l'étude de stabilité sur le lot de validation d'Augmentin PPSB 60ml sont résumés dans les figures ci-dessous



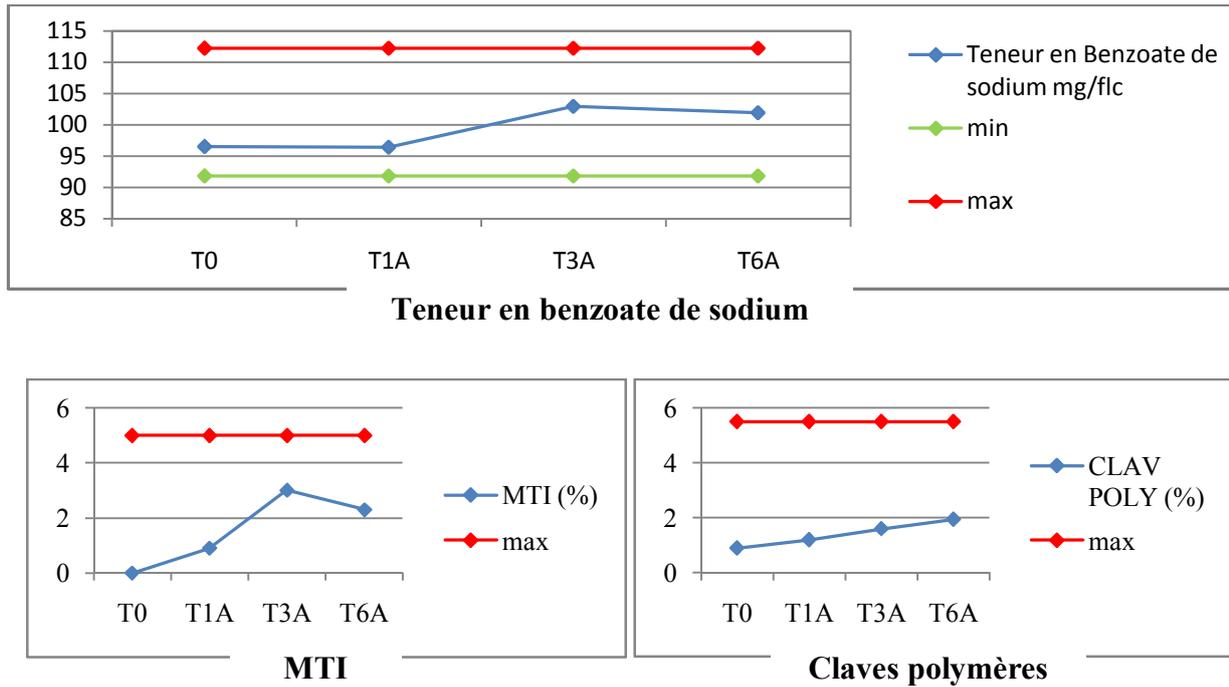


Figure 30 : Tendances de l'étude de stabilité dans des conditions accélérées d'Augmentin PPSB 60ml du lot de validation N° 503047.

Les figures ci-dessus (figure 27, 28, 29, et 30) démontrent que les différents lots contrôlés d'Augmentin PPSB 60ml, de poudre et de solution reconstituée, dans différentes conditions, reste stable tout au long de sa durée de vie. Bien qu'il y ait des petites variations dans les différents paramètres physico-chimiques analysés en fonction du temps, ces derniers restent dans les normes.

Conclusion et Perspectives

Conclusion et perspectives

L'analyse du médicament se décompose en une succession d'étapes que l'on doit parfaitement maîtriser pour assurer la qualité du résultat final. Cette maîtrise passe par une vigilance permanente et la mise en place de points de contrôle pertinents notamment en matière de métrologie.

Afin de pouvoir commercialiser un médicament, ce dernier doit répondre à des normes bien précises. Dans notre étude, les résultats obtenus à partir des différentes analyses de plusieurs paramètres physico-chimiques et microbiologiques, effectuées sur le lot commercial d'Augmentin poudre pour suspension buvable 60 ml N° 603055 au niveau du laboratoire contrôle qualité GlaxoSmithKline « GSK », démontrent qu'il est conforme aux exigences établies par l'unité pharmaceutique.

L'évaluation de la stabilité d'un médicament est possible grâce à une étude tout au long de sa durée de vie, en le soumettant à des conditions de températures et d'humidité précises élaborées par la conférence internationale d'harmonisation «ICH ».

Les tendances de l'étude de stabilité dans des conditions réelles de température et d'humidité relative ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, et HR $60\% \pm 5\%$), ainsi que dans des conditions accélérées ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, et HR $75\% \pm 5\%$), sur la solution reconstituée et sur la poudre des lots N° 403055, et N° 503047, démontrent qu'Augmentin PPSB 60 ml est inaltérable dans le temps.

Les pourcentages du dosage des produits de dégradation des deux principes actifs, l'Amoxicilline et l'Acide clavulanique (MTI, et claves polymères respectivement) d'Augmentin PPSB 60 ml, sont très faibles, et restent en dessous de la norme supérieure exigée qui est de 5% et 5,5% respectivement.

Un rapport est rédigé à la fin de tous les tests effectués sur Augmentin PPSB 60 ml au niveau de l'unité pharmaceutique « GSK », afin d'approuver la commercialisation du lot étudié.

Il serait intéressant d'essayer d'étudier la stabilité de la solution reconstituée dans des conditions de température et d'humidité ambiantes. Sachant que l'acide clavulanique s'oxyde rapidement au contact des UV, il serait souhaitable de remplacer le type du verre avec un verre de type 2, ou même d'ajouter une substance qui permettra à ce principe actif de retarder son oxydation au moins jusqu'à la fin du traitement.

Références Bibliographiques

A

Aiache, J-M., Beyssac, E., Cardot, J-M., Hoffart, V., Renoux, R. (2001). *Initiation à la connaissance du médicament.* Paris : Masson. 337.

Aurélié, D. (2012). Contrôle qualité : Une garantie de conformité. *Industrie pharma*, 78 : 25-29.

B

Bach, J.F. Blanchard-Desce, M., Couvreur, P., Dardel, F., Giovannangeli, C., Maffrand, J-P., Mansuy, D., Meunier, B., Port, M. (2010). De la conception du médicament à son développement : l'indispensable chimie. In : Bach Jean-François. *La chimie et la santé, au service de l'homme.* France : EDP Sciences. P. 77-90.

Beljean-Leymarie, M., Dubost, J., Galliot-Guilley, M. (2006). *Chimie analytique.* Paris : Elsevier Masson. 151 p.

Bonnes pratiques de fabrication. (2011). Lignes directrices des bonnes pratiques de fabrication : (GMP-001). Canada. 110 p.

Bonnet, P-A. (2007). Contrôle de qualité des médicaments. *Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.* Saint-Denis.

Bouchard, J. (2009). Les bonnes pratiques de fabrication dans l'industrie pharmaceutique, Enjeux, défis et applications, *Les Presses de l'Université Laval.* 313 P.

C

Calop, J., Limat, S., Fernandez, C., Aulagner, G., Association Nationale des Enseignants de Pharmacie Clinique. (2012). *Pharmacie clinique et thérapeutique.* 4eme éd. Paris : Elsevier Masson. 1336 p.

Chavass, D., Kolwicz, C., Smith, B. (2001). Liens d'accès. *Médicaments Essentiels : le Point*, 27(30) : 1-27.

D

Duval, J. Soussy, C-J. (1990). *Antibiothérapie.* Saint-Germain : Masson. 188p.

G

Gaudy, C., Buxeraud, J. (2005). *Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique*. Paris : Gregg Colin. 269p.

GlaxoSmithKline. (2011). Direction de la Communication GSK/Carré Noir.

GlaxoSmithKline., Astrazeneca., Novartis., Merck., Pierre. (2011). La commercialisation et la diffusion. *Les entreprises du médicament*, 44 p.

GlaxoSmithKline. (2012). Documentation GlaxoSmithKline : dossier pharmaceutique d'Augmentin poudre pour suspension buvable 60 ml 100 mg/12,5.

GlaxoSmithKline. (2013). Documentation interne : GDS21 / IPI11 (SI).

GlaxoSmithKline. (2014). Documentation interne : dossier antibiotiques.

GlaxoSmithKline. (2014). Documentation interne : procédure de prélèvement US-Qual-039/002.

GlaxoSmithKline. (2014). Documentation interne : procédure contrôle qualité Augmentin PPSB MC009/01.

GlaxoSmithKline. (2014). Documentation interne : procédure préparation standards.

GlaxoSmithKline. (2014). Documentation interne : procédure microbiologie.

GlaxoSmithKline. (2015). Documentation interne : procédure dosage MTI US-Dc-043/002.

GlaxoSmithKline. (2015). Documentation interne : procédure dosage de l'amoxicilline et acide clavulanique.

GlaxoSmithKline. (2015). Documentation interne : procédure dosage des claves polymères.

GlaxoSmithKline. (2015). Documentation interne : procédure étude de stabilité LAB-019/02.

GlaxoSmithKline. (2016). Documentation interne : procédure dosage claves polymères US-Mc-044/002.

Graham, L-P. (2002). *Chimie pharmaceutique*. 2eme éd. De Boeck. 629 p.

Guindo, A. (2008). *Etude prospective de la prescription et de la consommation des antibiotiques dans le centre de santé de référence de la commune III district de*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bamako. Travail de diplôme en vue de l'obtention du diplôme doctorat, Médecine de pharmacie, Université de Bamako, 45p.

K

Katzung., Bertram, G. (2006). *Pharmacologie fondamentale et clinique*. Italie : Piccin.P. 1169.

L

Lamoudi, L. (2009). *Optimisation d'un procédé de fabrication d'un médicament et contribution à la modélisation de sa diffusion*. Travail de diplôme en vue de l'obtention du diplôme Magistère, USTHB Alger, p 37.

Loi n° 08-13. (2008). l'article L.5111.1 du Code de la santé publique [1] puis dans l'article 1 du Code Communautaire:[2] modifiant et complétant la loi n° 85-05 du 16 février 1985 relative à la protection et à la promotion de la santé.

M

Makedhi, M. (2005). GlaxoSmithKline Lancement de l'usine d'antibiotiques de Boudouaou. *El Watan*.

Moille, M. (2006). Entreprise GlaxoSmithKline. *Recherche et traitement de l'information*. 45 p.

O

Organisation mondiale de la santé. (1998). *Assurance de la qualité des produits pharmaceutiques : Recueil de directives et autres documents*, Genève, volume N° 1. 278 p.

P

Paoletti, CL., Schlumberger. And Nogues. (2011). *Produits pharmaceutique*. Chicago : Presses documentaires. 280 p.

Pharmacopée européenne 8.0. (2008). Méthodes analytiques : uniformité de teneur 209006. p318.

Pharmacopée européenne 8.3. (2015). 2.Méthodes analytiques : Chromatographie liquide 202229 : 4453-4454.

Pharmacopée européenne 8.0. (2013). Monographies A : Amoxicilline trihydratée 0260.P.1687-1689

Pharmacopée européenne 8.0. (2013). 2.Monographies B : Benzoate Sodium 0362.P.853-855.

Pharmacopée européenne 8.0. (2013). Monographies générales : Production des médicaments 2619. P.811-813.

R

Rebiere, H., Mazel, B., Civade, C., Bonnet, P-A. (2007). Determination of 19 antiretroviral agents in pharmaceuticals or suspected products with two methods using high-performance liquid chromatography. *Journal of chromatography.B*, 850,(1): 376-383.

S

Saltmarsh, M., Hampshire,A. (2014). Recent trends in the use of food additives in the United Kingdom. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*.

Scodellar, A. (2013). Revue du processus des études de stabilité dans l'industrie pharmaceutique : De la réglementation à la réalisation et jusqu'à l'exploitation des tendances observées. Thèse de doctorat. Université de Rouen. 165p.

Shen, Y., Smith, R-D. (2008). *Electrophoresis, High Performance Liquid Chromatography*. Canada : WILEY-INTERSCIENCE. 1104 p.

U

USP. (2013). Monographs USP 38 : Clavulanate. P.2855-2857.

Annexes

Annexe 01 :

Ce tableau représente le résultat des différentes concentrations de la dilution de la solution mère.

Tableau : Concentration et surfaces des solutions filles

Concentration mg/l	Aire (AI)
1,746000	207313,43
3,492000	401215,61
5,238000	580229,24
6,111000	730511,08
6,984000	761253,48
8,730000	948220,74
10,476000	1211677,37
13,968000	1476178,44
17,460000	1761063,26
Coefficient a	71716,46
Pente S (coefficient b)	100157,87
Coefficient de corrélation R	0,9960

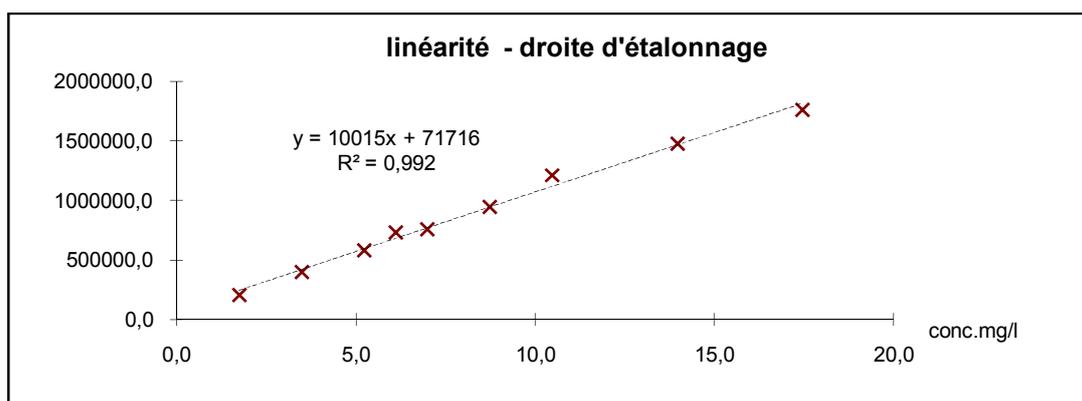


Figure : Courbe d'étalonnage.

Annexe 02 :

Représente chromatogrammes des différents résultats du dosage des principes actifs (Amoxicilline, et acide clavulanique) et du conservateur (benzoate de sodium), d'Augmentin PPSB 60 ml lot N° 603005.

Résumé

Dans l'industrie pharmaceutique, le contrôle qualité du produit fini est un gage de sûreté pour la conformité de commercialisation. Nous nous sommes intéressés dans le cadre de ce mémoire à l'analyse d'Augmentin poudre pour suspension buvable 60 ml, un antibiotique contenant deux principes actifs et un conservateur. Ainsi, le but de notre travail est de contrôler le produit fini, et le suivi des tendances de stabilité d'Augmentin PPSB 60 ml, grâce à des méthodes analytiques précises telle que l'HPLC. La méthode de dosage du produit fini d'Augmentin PPSB 60 ml nous a permis de retrouver les quantités d'amoxicilline, d'acide clavulanique et de benzoate de sodium indiquées pour chaque flacon comprise dans les normes : 5700-6300, 748,1-826,9, 91,8-112,2 respectivement. Les études de stabilité dans des conditions réelles de température 25 ± 2 °C (23 à 27) °C et humidité relative 60 ± 5 % (55 à 65) % ainsi que dans les conditions accélérées de température 40 ± 2 °C (38 à 42) °C et humidité relative 75 ± 5 % (70 à 80) %, effectuées sur les lots de produits finis et de validations, ont démontrées que le taux des produits de dégradation de l'amoxicilline (MTI), et de l'acide clavulanique (claves polymères) reste dans la norme exigée qui est 5%.

Mots clés : contrôle qualité, Augmentin, tendances de stabilité, produits de dégradation.

Summary

In the pharmaceutical industry, a quality control of a finished product is a guarantee of security for marketing compliance. We were interested in the part of this thesis to analyze the Augmentin powder for oral suspension 60 ml, which is an antibiotic containing two active ingredients and preservative. Thus, the purpose of our work is to control the finished product, as well as monitoring trends of the Augmentin PPSB 60 ml stability, with specific analytical methods such as high performance liquid chromatography. The assay method of the finished product Augmentin PPSB 60 ml allowed us to find the quantities of amoxicillin, clavulanic acid and sodium benzoate indicated for each bottle within the standards: 5700-6300, 748,1- 826.9, 91.8 to 112.2 respectively. Stability studies in real conditions of temperature 25 ± 2 °C (23 to 27) °C and relative humidity $60 \pm 5\%$ (55-65)% in addition of accelerated conditions of temperature 40 ± 2 °C (38 42) °C and relative humidity $75 \pm 5\%$ (70-80)%, performed on batches of finished products and validations, have shown that the rate of degradation of amoxicillin products (MTI), and the clavulanic acid (claves polymers) remains in the required standard which is 5%.

Keywords: stability, the pharmaceutical industry, antibiotic.

ملخص

في مجال الصناعات الصيدلانية، مراقبة جودة المنتج هي ضمان الأمان لموافقة التسويق. اهتمنا في هذا المشروع إلى مسحوق أوجمنتين محلول للشرب 60 مل، مضاد للجراثيم يحتوي على مادتين فعاليتين ومادة حافظة. وبالتالي، فالغرض من عملنا هو السيطرة على المنتج النهائي، و متابعة الاستقرار أوجمنتين مسحوق للشرب 60 مل، مع طرق تحليلية محددة مثل HPLC. طريقة معايرة المنتج النهائي أوجمنتين محلول للشرب 60 مل سمحت لنا للعثور على كميات من أموكسيسيلين، حمض كلا فولانيك وبنزوات الصوديوم وأشار لكل زجاجة ضمن المعايير: 5700-6300، 748،1-826،9، 91،8-112،2 على التوالي. دراسات الاستقرار في الظروف الحقيقية لدرجات الحرارة 25 ± 2 °C (23-27) درجة مئوية والرطوبة النسبية 60 ± 5 % (55-65) وفي ظروف متسرة من درجات الحرارة 40 ± 2 °C (38 42) درجة مئوية والرطوبة النسبية 75 ± 5 % (70-80)٪، التي أجريت على مجموعات من المنتجات النهائية والتصديقات، قد أظهرت أن معدل هدم منتجات الأموكسيسيلين، و حمض كلا فولانيك في مستوى المطلوب الذي هو 5٪.

الكلمات الرئيسية: الصناعات الصيدلانية، دراسات الاستقرار، أوجمنتين، محلول للشرب.