

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE
FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THEME

**Étude de la stabilité physico-chimique d'une suspension buvable de
l'amoxicilline : approche statistique de l'ACP et la boîte à
moustaches**

Présenté par : SAIDANI Hadjila
IBRIHEN Nawel

Soutenu publiquement, le 25/ 11 / 2020, devant le Jury composé de :

BENCHOULAK	<i>Mounir</i>	MAA	UMMTO	PRESIDENT
BAAZIZ	<i>Bahia</i>	MCB	UMMTO	ENCADREUR
GOUBI	<i>Mouloud</i>	MCB	UMMTO	EXAMINATEUR

Promotion: 2019/2020

Remerciements

On tient à remercier Dieu le clément de nous avoir aidé durant toute notre scolarité et sur lequel on compte tous pour atteindre notre but.

*Nos profonds et sincères remerciements vont en premier lieu à notre promotrice Mme **BAAZIZ B.** Maitre de Conférences B au département de Chimie à l'UMMTO, pour avoir acceptée d'encadrer notre travail, pour sa rigueur scientifique et son assistance aussi bien matérielle que morale et son soutien indéfectible et sa disponibilité et ses conseils précieux malgré tous les inconvénients dues au Covid-19.*

Merci Madame pour votre optimisme, votre confiance et encore pour vos critiques judicieuses.

Nous exprimons également notre gratitude aux membres du jury qui ont bien voulu et accepté de lire notre travail et d'y apporter leurs remarques et critiques à l'occasion de la soutenance.

*M^r **Benchoulak M.** Maitre-Assistant A au département de Chimie à l'UMMTO, pour avoir honoré ce travail en acceptant de présider le jury.*

*M^r **GOUBI M.** Maitre de Conférences B au département de mathématique à l'UMMTO, pour avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce travail.*

*Nous remercions particulièrement M^{me} **BELMAHDI**, de nous avoir facilité l'accès au laboratoire de Chimie Pharmaceutique.*

Nos remerciements vont également à tous nos enseignants durant ces années d'études.

Enfin, nos remerciements vont vers toutes les personnes qui, de près ou de loin nous ont apportés leurs soutiens et leurs conseils pour la réalisation de ce mémoire de Master.

MERCI

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A Ma tendre Mère

Nacera

Tu représente pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager.

Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

A Mon très cher Père

Arezki

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

A mon cher frère

Ali

A mes chères sœurs

Radia, Fairouz, Sonia

A ma chère amie et mon binôme

Nawel

Cette dédicace ne saurait exprimer mon grand respect et ma profonde estime, que dieu vous procure bonne santé et long vie.

A tous les étudiants de ma promotion.

A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.

A tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer.

HADJILA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail,

A

Mustapha mon père qui est mon support dans ma vie, qui m'a appris et m'a dirigé vers la gloire par ses conseils. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Fadila ma très chère maman, je te remercie pour tout l'amour, le soutien que tu m'apportes depuis ma naissance, j'espère que ta bénédiction m'accompagnera toujours, je t'aime Maman Puisse Dieu, t'accorder santé, bonheur et longue vie

Samir et Tarik, mes chères frères, que j'aime tellement que Dieu vous protège

Mes Grands Parents et toute ma famille qui ont toujours été là pour moi avec leur amour inconditionnel et leur soutien sans faille

Hadjila, ma binôme, a vrai dire plus qu'un binôme mais plutôt une amie et une sœur pour moi, je te souhaite une grande réussite dans ta vie que Dieu illumine ton chemin

Ma très chère Chahinez, merci pour ton soutien et ta générosité, Aucun mot ne saurait exprimer l'immense attachement que je te témoigne, ma reconnaissance et mon profond amour envers toi

Mes Ami(e)s et toute ma promotion et mes enseignants et aux personnes qui ont contribué de près ou de loin

Que ce modeste travail soit l'exaucement des vœux tant formulés, et le fruit d'innombrables sacrifices.....

Nawel

Sommaire

LISTE DES ABRÉVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

Introduction Générale	1
------------------------------------	----------

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1. Généralités	3
1.1. Définition de médicament	3
1.1.1. Définition d'une poudre	4
1.1.2. Préparations liquides pour usage orale	4
1.2. Suspensions Pharmaceutiques	5
1.2.1. Définition des suspensions pharmaceutiques	5
1.2.2. Propriétés des suspensions pharmaceutiques	5
1.2.3. Facteurs intervenants sur la stabilité des suspensions	6
1.2.3.1. Mouabilité	6
1.2.3.2. Sédimentation	6
1.2.4. Essais physico chimiques des suspensions	8
1.2.4.1. Mesure de la viscosité	8
1.2.4.2. Détermination du pH	8
1.2.4.3. Stabilité	8
1.3. Antibiotiques	9
1.3.1. Définition des antibiotiques	9
1.3.2. Classification des antibiotiques	9
1.3.3. Familles des antibiotiques	9
1.3.4. Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne	10
1.3.4.1. β -lactamines	11
1.3.4.2. Structure de base des β -lactamines	11
1.3.4.3. Mode d'action	12
1.3.4.4. Pénicillines	12
1.3.4.5. Amoxicilline	13
1.3.4.6. Indication thérapeutique de l'amoxicilline	14
1.4. Contrôle de stabilité des médicaments	14
1.4.1. Objectifs des études de stabilités	14
1.4.2. Conditions exigées sur l'étude de stabilité	15

1.4.3. Produits pour lesquels des études de stabilité exigées	15
1.4.4. Facteurs influençant la stabilité des médicaments	15
1.4.5. Classification des zones climatiques selon ICH	16
1.5. Généralités sur l'analyse par chromatographie liquide à haute performance	16
1.5.1. Définition	16
1.6. Généralités sur les plans d'expériences	18
1.6.1. Plan d'expérience	18
1.6.2. Objectif du plan d'expérience	18
1.6.3. Types de plans d'expériences utilisés dans notre étude	18
1.6.3.1. Facteurs	18
1.6.3.2. Réponses	19
1.6.4. Analyse en composantes principales (ACP)	19
1.6.4.1. Objectifs de l'ACP	19
1.6.4.2. Principes de l'ACP	20
1.6.4.3. Analyse des données	20
1.6.4.4. Inertie ou information	21
1.6.4.5. Interprétation d'un cercle de corrélations	21
1.6.5. Boîte à moustaches	22
1.6.5.1. Médiane (paramètre de position)	23
1.6.5.2. Quartiles (paramètres de position)	23
1.6.5.3. Mesures de dispersion	23
1.6.5.4. Délimitation des longueurs des moustaches (valeurs adjacentes)	24
1.6.5.5. Représentation graphique de la Boîte à moustaches	24
1.6.5.6. Lecture d'une boîte à moustaches	26

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

1. Matériel et méthodes	27
2.1. Matériel	27
2.1.2. Volume de reconstitution	30
2.1.3. Reconstitution des échantillons d'amoxicilline	30
2.1.4. Température de conservation	30
2.1.5. Temps de conservation	30
2.2. Méthodes	31
2.2.1. Stabilité physico chimique des échantillons (test physico-chimique)	31
2.2.1.1. Test de contrôle	31
2.2.1.2. Test de stabilité	33
2.3. Matériel et appareillage du travail antérieur (pris comme référence)	34
2.3.1. Réactifs et solutions de travail	34
2.3.2. Échantillonnage	35
2.3.3. Méthodologie	35
2.3.4. Mode de reconstitution des suspensions	35
2.3.5. Températures de conservation	35
2.3.6. Préparation de l'extrait à analyser	36
2.3.7. Conditions d'analyse chromatographique	36

Chapitre 3 : Résultats et Approche Statistique

3. Résultats et Approches Statistique	37
3.1. Résultats expérimentaux et discussion des tests de stabilité physico-chimique	37
3.1.1. Résultats de l'inspection des caractères organoleptique	37
3.1.2. Mesures de pH	37
3.1.3. Résultats de test de contrôle microscopique	37
3.1.4. Résultat de la sédimentation forcée des échantillons	40
3.2. Approche statistiques et discussion des résultats de l'étude antérieure	40
3.2.1. Interprétation de la courbe de régression	42
3.2.2. Interprétation de l'Analyse en Composantes Principales (ACP)	43
3.2.2.1. Interprétation du tableau de corrélation des variables	43
3.2.2.2. Interprétation graphique des cercles de corrélation	44
3.2.3. Interprétation des nuages de points	48
3.2.3.1. Interprétation des nuages de points (des essais) sur (F1/F2)	48
3.2.4. Part d'information portée par les axes	49
3.2.5. Interprétation de l'ACP en 3 dimensions	50
3.2.6. Boite à moustaches	52
3.2.6.1. Représentation graphique de la boite à moustaches	53
3.2.6.2. Résultat donné par la boite à moustaches	54
3.2.6.3. Interprétation de la boite à moustaches	60
Conclusion Générale	63

LISTE DES FIGURES, TABLEAUX ET ABRÉVIATIONS

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1. Structure chimique du noyau de base β - Lactamine

Figure 1.2. Structure chimique des pénicillines

Figure 1.3. Structure chimique de l'amoxicilline

Figure 1.4. Principe de fonctionnement de l'HPLC

Figure 1.5. Relation entre les facteurs et les réponses d'un système donné

Figure.1.6. Cercle de corrélation entre variables

Figure 1.7. Représentation graphique d'une boîte à moustaches

Figure 2.1. Bille utilisée pour la mesure de la viscosité

Figure 2.2. Étude de la taille et la distribution granulométrique des particules à l'aide d'un microscope optique

Figure 2.3. Schéma simplifié du tube central de mesure

Figure 2.4. Centrifugation forcée des échantillons

Figure 3.1. Résultat de la sédimentation forcée des échantillons (A, B, C, D)
(a) 1^{er} jour et (b) 7^{eme} jours

Figure 3.2. Courbe de régression pour la réponse taux de dégradation $P_{dég.}(\%)$

Figure 3.3. Cercle de corrélation entre variables (F1/F2)
(Inertie (F1=39,79% et F2= 33,95%))

Figure 3.4. Cercle de corrélation entre variables (F1/F3)
(Inertie (F1=39,79% et F3= 18,32%)).

Figure 3.5. Cercle des corrélations entre variables F2/F3
(Inertie (F2=33,95% et F3= 18,32%)).

Figure 3.6. Représentation visuelle (nuage de points) via les facteurs F1 et F2 48

Figure 3.7. Décomposition de l'inertie (valeur propre de la matrice des corrélations)

Figure 3.8. Représentation graphique en 3D des variables ($T^{\circ}C$, $[C]_{J6}$, $P_{dég.}(\%)$)

Figure 3.9. Représentation graphique des données par le logiciel Statistica (boîte à moustache)

Figure 3.10. Représentation graphique des données de la boîte à moustache

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1. Classification des suspensions selon différents critères

Tableau 1.2. Caractéristiques physico-chimiques de l'amoxicilline

Tableau 1.3. Facteurs influençant la stabilité des médicaments

Tableau 1.4. Zones climatiques selon ICH

Tableau 2.1. Date de fabrication et péremption d'amoxicilline poudre pour suspension buvable

Tableau 2.2. Poudres d'amoxicilline pour suspension buvable 250mg/5ml

Tableau 2.3. Matériel du laboratoire

Tableau 2.4. Volumes de reconstitution des échantillons étudiés

Tableau 3.1. Résultats des tests de contrôle physico-chimique des suspensions d'amoxicilline 250mg/5ml

Tableau 3.2. Résultats de test de contrôle de la taille et la distribution granulométrique des particules

Tableau 3.3. Évaluation des teneurs des échantillons d'amoxicilline en suspension 250mg/5ml

Tableau 3.4. Corrélation entre variables sur les facteurs

Tableau 3.5. Part d'information portée par les axes

Tableau 3.6. Valeurs de taux de dégradation (Pdég) par ordre croissant

Tableau 3.7. Comparaison entre valeurs calculées et données par le logiciel

ABRÉVIATIONS

% : pourcentage

[C]_{j1} : concentration en jours 1

[C]_{j6} : concentration en jours 6

µg : microgrammes

µm : micromètres

3D : 3 dimensions

A, B, C, D, E : échantillons d'amoxicilline

ACP : analyse en composantes principales

AMX : amoxicilline

C° : degré celsius

CMI : concentration minimale inhibitrice

CSP : code de la santé publique

Eau de rob. : eau de robinet bouillée et refroidit

Eau min. : eau minérale

F1 : facteur axial 1

F2 : facteur axial 2

F3 : facteur axial 3

F4 : facteur axial 4

F5 : facteur axial 5

g/mol : masse molaire

HPLC : chromatographie liquide à haute performance

HR : Humidité Relative

ICH : Conférence Internationale de l'Harmonisation

max. : maximum

mg : milligrammes

min : minutes

min : minimum

ml : millilitres

mpa/s: milipascal

N : effectif total

nm : nanomètre

η: viscosité dynamique

P_{dég.} : taux de dégradation

PA : Principe Actif

Pka : constante d'acidité

Q1 : premier quartile

Q2 : médiane

Q3 : troisième quartile

Cordonnées (X, Y, Z) : (T°C, [C]_{6j}, P_{dég.}(%))

T°C : température de conservation

USP : united states pharmacopeia

[C]_{6j} : concentration en jours 6

P_{dég.}(%) : taux de dégradation

λ_{max} : longueur d'onde maximale

Introduction Générale

Ce travail a été réalisé au département de chimie, Faculté des sciences, à l'université de Mouloud MAMMARI de Tizi Ouzou (UMMTO). Ce projet de fin d'études intitulé : ***Etude de stabilité physico-chimique d'une suspension buvable de l'amoxicilline : approche statistique par l'ACP et la boîte à moustaches.***

Les formes pharmaceutiques, appelées suspensions, sont des systèmes biphasés où la phase solide se disperse, dans la phase liquide. Ces formes pharmaceutiques sont très intéressantes car elles rendent possible l'incorporation des principes actifs à faible solubilité, ainsi d'excipient modifiant le goût désagréable de l'antibiotique. Les suspensions d'amoxicilline sont indiquées pour un usage pédiatrique en raison de leur grande efficacité et de leur appétence adéquate à l'utilisation facile et rapide, ainsi que leur faible coût par rapport aux autres antibiotiques.

Les suspensions d'antibiotiques renferment des principes actifs si peu stables qu'elles doivent être reconstituées au moment de l'emploi et que, dès ce moment, leur validité est fortement réduite. Par conséquent, les conditionnements multi doses après ouverture posent un problème de conservation et de délai d'utilisation lié aux conditions favorables de dégradation rapide du principe actif. Selon **ALZOMOR et al., 2016**, de nombreuses suspensions d'antibiotiques reconstituées doivent être conservées au réfrigérateur afin d'obtenir des conditions de conservation optimales.

Cependant, ces conditions de conservation ne sont souvent pas clairement spécifiées. Il nous donc paru opportun dans la présente étude, d'évaluer la stabilité physico chimique de l'amoxicilline dans certaines formes reconstituées à différentes températures de conservation pendant sept jours correspondant à la durée moyenne d'un traitement avec un antibiotique.

Vu la situation sanitaire que traverse actuellement le monde notamment, notre pays l'Algérie, on s'est inspiré d'une étude réalisée par **YAO J.S.N.T et al., 2019** (voir annexe) dans le but d'enrichir notre travail en appliquant une étude statistique réalisée par le logiciel Statistica à travers l'analyse en composantes principales (ACP) et la boîte à moustaches. Le travail de recherche de **YAO J.S.N.T et al., 2019** porte sur l'étude de stabilité de suspensions buvables à base d'amoxicilline).

Cependant, l'application de l'ACP, nous donne les corrélations significatives possibles entre les variables influençant la dégradation de la suspension buvable. En revanche, la boîte à moustaches est un moyen simple pour situer les conditions opératoires d'une série statistique (de valeurs expérimentales) c.-à-d. nous permet de résumer les informations sur la répartition de la variable $P_{\text{dég.}}(\%)$ d'une manière simple et visuelle

Cette présente étude se subdivise en trois chapitres :

Le 1^{er} chapitre concerne la partie bibliographique qui illustre toutes les définitions relatives aux médicaments, l'outil informatique et statistique tel que l'analyse en composantes principales (ACP) et la boîte à moustaches.

Dans le 2^{ème} chapitre, une description du matériel et les méthodes utilisées ont été mises en œuvre afin de réaliser une étude de stabilité physico-chimique en se basant sur les tests de contrôles de stabilité des poudres d'amoxicilline 250mg/5ml, reconstituées les plus vendus en Algérie. Notamment, l'application des outils statistiques de l'étude antérieure de **YAO J.S.N.T et al., 2019** (voir annexe).

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

1. Généralités

1.1. Définition de médicament

La définition précise du médicament, inscrite à l'article L5111-1 du code de la santé publique(CSP), est la suivante : «Un médicament est toute substance ou composition présentée comme, possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme et/ou chez l'animal, ou pouvant être administrée en vue d'établir un diagnostic ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique» (**HARRACHE Z et al., 2017**). Le médicament est constitué de substances actives combinées à des excipients, qui sont formulées et mis en forme pharmaceutique de façon à être adapté à l'usage qui en est prévu et qui sont présentés dans un récipient approprié, convenablement étiqueté (**PHARMACOPEE EUROPEENNE, 2013**).

Un 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 G., 2006**).
- Excipient : l'excipient est une substance qui généralement 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**).

Les médicaments sont présentés sous différentes formes pharmaceutiques (liquide, solide et semi-solide) selon les voies d'administration.

1.1.1. Définition d'une poudre

La poudre est un état fractionné de la matière. Il s'agit d'un solide présent sous forme de petits morceaux, en général de taille inférieure au dixième de millimètre (100 μm).

1.1.2. Préparation des liquides pour usage orale

Les préparations des liquides pour usage oral sont habituellement des solutions, émulsions ou suspensions contenant une ou plusieurs substances actives dans un excipient approprié ; certaines préparations liquides pour usage oral (liquides buvables), sont constituées de substances actives liquides utilisées telles quelles. Certaines préparations liquides pour usage oral sont préparées par dilution de préparations liquides concentrées, ou à partir de poudres ou granulés destinés à la préparation de solutions ou suspensions buvables, de gouttes buvables ou de sirops, au moyen d'un excipient approprié.

Les excipients utilisés pour préparer les liquides pour usage oral sont choisis en fonction de la nature de la ou des substances actives, et de façon à conférer à la préparation des propriétés organoleptiques appropriées à l'usage prévu.

Les préparations liquides pour usage oral peuvent contenir des conservateurs antimicrobiens appropriés, des antioxydants et d'autres excipients tels que des agents de dispersion, de suspension, des substances épaississantes, émulsionnantes, des aromatisants, des édulcorants et des colorants.

Les émulsions peuvent présenter des signes de séparation des phases, mais sont facilement disperser par agitation. Les suspensions peuvent présenter un sédiment, qu'il est facile de disperser par agitation de façon à obtenir une suspension suffisamment stable pour permettre l'administration de la dose voulue (**Pharmacopée européenne 2008**).

1.2. Suspensions pharmaceutiques

1.2.1. Définition des suspensions pharmaceutiques

Les suspensions pharmaceutiques sont des dispersions de solides finement divisés dans un milieu liquide dans lequel elles sont insolubles ou pratiquement insolubles. Ce sont des systèmes thermodynamiquement instables constitués de deux phases :

- une phase continue constituée par solvant qui est souvent de l'eau ;
- une phase discontinue dispersée constituée par un solide.

Une suspension est une forme multi dose, cela veut dire qu'à chaque prise, doit délivrer une quantité précise du principe actif. Cela ne peut être que si l'homogénéité de la préparation est sans cesse assurée. Cette homogénéité maintenue le temps de l'obtention ou d'agitation et qu'au bout de quelques instants les particules solides en suspension finissent par sédimenter. Il faudra s'assurer que le sédiment qui se forme soit facilement dispersé et qu'il redonne une préparation homogène qui restera le temps du versement de la prise.

1.2.2. Propriétés des suspensions pharmaceutiques

Les suspensions pharmaceutiques sont caractérisées par plusieurs paramètres qui sont :

- la viscosité : qui est en fonction de la viscosité de la phase continue et de la concentration en phase dispersée ;
- la dispersibilité : une suspension peut être diluée dans la phase dispersante ;
- la taille des particules : doit être inférieure à 50 μm .

La classification des suspensions est donnée dans le tableau 1.1 selon différents critères

Tableau 1.1. Classification des suspensions selon différents critères

Voie d'administration	Proportion des particules solides	Taille des particules solides
- suspensions orales - suspensions pour application locale - suspensions parentérales (LIEBERMAN H.A et al., 1996)	- suspensions diluées (2 à 10% de solide) - suspensions concentrées (50% de solide)	- dispersions colloïdales (taille inférieur à 1µm) - suspensions (taille supérieur à 1µm) (CABANE B., 2003)

1.2.3. Facteurs intervenants sur la stabilité des suspensions

Les facteurs intervenants sur la stabilité des suspensions sont :

1.2.3.1. Mouillabilité

Lors de l'incorporation de substances hydrophobes à une solution aqueuse, l'angle de contact de la tangente de la gouttelette de liquide avec la surface du solide joue un rôle très important. À la surface d'un liquide, la tension superficielle, assure la cohésion de ses molécules et s'oppose à la pénétration ou le mouillage du solide. Le mouillage est d'autant plus mauvais si l'angle de contact θ est grande. Par contre, le mouillage est d'autant plus parfait si la tension superficielle du liquide est plus faible.

Les mouillants utilisent :

- les surfactifs naturels : cholestérol, céphaline ;
- les surfactifs synthétiques : surfactifs non ioniques tels que le span 60 si les phases sont huileuses et le tween 80 si les phases sont aqueuses ;
- les polymères hydrophiles : leurs particules colloïdales solvatées forment autour des particules solides une barrière hydratée favorisant le mouillage.

1.2.3.2. Sédimentation

Dans les suspensions pharmaceutiques, les particules dispersées finissent toujours par sédimenter. Leur utilisation est tributaire d'une agitation préalable capable de rendre son homogénéité au système.

Deux notions sont alors importantes : la vitesse avec laquelle les particules séparent et la nature du sédiment formé.

Vitesse de sédimentation

La vitesse de sédimentation d'une particule au sein d'un liquide visqueux est régie par la **loi de STOKES** :

$$V = \frac{2r^2(d_1-d_2)g}{9\eta} \dots \dots \dots (1.1)$$

Où :

V : vitesse de sédimentation

r : rayon de la particule

d_1-d_2 : différence des densités de la phase solide et de la phase liquide

g : attraction de la pesanteur

η : viscosité de la phase dispersante

D'après la loi (1.1), les facteurs influençant la vitesse de sédimentation sont :

- la taille des particules ;
- la différence de densité entre deux phases ;
- la viscosité ;
- la concentration.

Structure de sédiment

Il peut y avoir rupture de la suspension par modification des cristaux dans le cas particulier des suspensions cristallines. La croissance des cristaux dépend de leur solubilité dans le liquide dispersant. En principe, les particules sont insolubles mais en fait il n'y a pas d'insolubilité absolue. Une légère solubilité favorise la croissance des gros cristaux aux dépens des plus petits qui disparaissent progressivement.

Deux types de sédiments peuvent exister à savoir :

Sédiment défloculé

Les particules sédimentent individuellement sous l'effet de la pesanteur avec une vitesse relativement faible. Elles forment au fond du récipient un sédiment de faible volume dans lequel les particules les plus petites remplissent les interstices existant entre les particules les plus grosses. Les particules sont fortement serrées les unes contre les autres. Dans ces conditions le sédiment est très compact et très difficile à disperser. Ce phénomène rend la suspension pratiquement inutilisable

Sédiment floclé

Les particules se lient entre elles sous forme de flocons dans lesquels est emprisonnée une certaine quantité de liquide. Chaque flocon précipite à une vitesse qui dépend de sa taille et de sa porosité.

Le sédiment formé par l'accumulation de flocons est très volumineux, poreux et facile à disperser. De plus le liquide surnageant est limpide car les plus fines particules sont intégrées dans les flocons. Dans ces différents phénomènes interviennent la mouillabilité des particules, la viscosité de la suspension, l'énergie de surface (diminuée par les surfactifs) et surtout les forces d'interactions particulières dans lesquelles on peut distinguer des forces d'attraction du type Van der Waals et des forces de répulsion qui dépendent de la charge des particules.

1.2.4. Essais physico-chimiques des suspensions

Les essais sur les suspensions nous permettent de déterminer les paramètres à savoir : l'homogénéité, la viscosité, le pH et la stabilité.

1.2.4.1. Mesure de la viscosité

Les appareils les plus utilisés sont les viscosimètres à écoulement par un capillaire et les viscosimètres à mobile tournant.

1.2.4.2. Détermination du pH

La valeur de pH est souvent importante pour la conservation et pour les incompatibilités. La détermination du pH se fait soit par un papier pH ou un pH mètres (plus précis).

.

1.2.4.3. Stabilité

La stabilité d'une suspension peut être observée dans une éprouvette graduée par l'observation à l'intervalle régulière de la sédimentation. Pour une étude comparative, des résultats sont obtenus beaucoup plus rapidement, en soumettant les suspensions à une centrifugation (LE HIR et al., 2009).

1.3. Antibiotiques

1.3.1. Définition des antibiotiques

Le terme antibiotique, du grec anti, signifié « contre » et bios signifié « vie ». L'antibiotique 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).

Les antibiotiques 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 synthétisée par *Penicillium notatum*). Ils sont utilisés contre les infections causées par des bactéries. L'antibiotique à la propriété de tuer les bactéries (bactéricide) ou d'empêcher leur prolifération (bactériostatique) (GUINDO, 2008).

1.3.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères dont la nature chimique, le mécanisme et le spectre d'action.

La classification des antibiotiques en tenant compte du spectre antimicrobien ne paraît pas être la meilleure en raison de l'évolution de la résistance bactérienne. La classification chimique permet de classer les antibiotiques en groupes assez homogènes mais éloignés des objectifs cliniques. En revanche, celle basée sur le mécanisme d'action rend compte des propriétés particulières de chaque groupe d'antibiotiques (WALSH., 2000). Par ailleurs, nous pouvons distinguer plusieurs familles, elles-mêmes divisées en plusieurs classes (SMAOUI., 2010).

1.3.3. Familles des antibiotiques

Il existe plusieurs familles d'antibiotiques, dont les principales sont :

Les bêta-lactamines (pénicillines et céphalosporines) ; les macrolides ; les aminosides ;

les cyclines et les quinolones.

Ces grandes familles d'antibiotiques se différencient par :

- leur spectre d'activité : c'est-à-dire l'ensemble des germes sensibles à chaque famille d'antibiotique ;
- leur indications, directement liées au spectre d'activité et à la diffusion de l'antibiotique dans les différents organes : par exemple, certains antibiotiques se concentrent dans les urines et sont particulièrement intéressants en cas d'infection urinaire ;
- leur voie d'utilisation : les antibiotiques peuvent être pris par voie orale, à l'exception des aminosides qui sont détruits dans l'intestin. Il existe également des collyres, des solutions auriculaires ou nasales et des pommades contenant des antibiotiques. Ces formes locales sont parfois suffisantes pour combattre certaines infections ;
- leur mode d'emploi et leur fréquence d'utilisation existe, à titre d'exemple, certaines infections des traitements monodoses ;
- leur contre-indications;
- leur effet indésirable : réaction allergique, diarrhée, photosensibilisation, tendinite, toxicité rénale sont des effets indésirables qui caractérisent certaines familles d'antibiotiques.

L'apparition d'un effet indésirable grave limite l'utilisation ultérieure des médicaments appartenant à la même famille.

1.3.4. Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne

Les antibiotiques les plus sélectifs sont ceux qui interfèrent avec la synthèse de la paroi bactérienne, dotés d'un indice thérapeutique élevé car leur cible n'existe pas dans les cellules eucaryotes (**PRESCOTT et al., 2013**).

Les antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi sont bactéricides et agissent seulement sur les germes en phase active de multiplication (phase exponentielle). Ainsi lorsque les bactéries, en voie de croissance sont traitées par des antibiotiques, qui ont comme cible

la synthèse de la paroi, cette dernière est arrêtée. Les cellules continuent de croître tandis que la paroi s'amenuise progressivement, elles s'allongent puis finissent par éclater en absence de barrière osmotique (MEYER et al., 2008).

Trois familles sont concernées à savoir : les β -lactamines, les glycopeptides et les fosfomycines.

1.3.4.1. β -lactamines

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotique la plus importante, aussi bien par le nombre et la diversité des molécules utilisables que par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. La grande variété de leurs modes d'administration, leur large spectre d'activité antibactérien associé à une action bactéricide, une bonne diffusion tissulaire, une bonne tolérance et un faible nombre d'interactions médicamenteuses expliquent leur popularité et l'importance de leur utilisation, seules ou en associations, depuis plus de 60 ans (CAVALLO et al., 2004).

1.3.4.2. Structure de base des β -lactamines

La structure de base (Fig.1.1) est le noyau azétidinone ou β -lactame qui contient la structure carbonyle lactame laquelle est indispensable pour l'activité des molécules. Sur cette structure est fixée un cycle penta-atomique saturé (pénème), insaturé (pénème) ou hexaatomique (céphème). Le noyau azétidinone seul (β -lactamine monocyclique) peut être substitué, et en fonction des substituants de l'atome d'azote, il est possible de distinguer les monobactames, les monocarbames, les monophosphatames ou autres hétérocycles Actuellement du fait de la complexité de ce groupe, est dénommé monolactame (BRYSKIER., 1999)

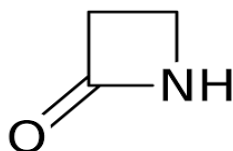


Figure 1.1. Structure chimique du noyau de base β -lactamine

1.3.4.3. Mode d'action

L'action des β -lactamines sur une bactérie passe par trois étapes qui sont :

Pénétration

Le passage des β -lactamines à travers la membrane cellulaire externe s'effectue au moyen d'un système de protéines transmembranaires ou porines.

Attachement à une molécule cible

Les cibles dans le cas β -lactamines, sont situées au niveau du feuillet interne de la membrane cellulaire qui est le Protéine Liant Pénicilline (PLP). Ces dernières jouent un rôle dans le métabolisme de structure de la paroi.

Perturbation d'une fonction bactérienne essentielle

Les β -lactamines exercent des effets différents sur les cellules bactériennes soit par l'inhibition de la division cellulaire, ou par changement de la forme.

Les bactéries ayant une même concentration minimale inhibitrice (CMI) peuvent ainsi se comporter différemment en présence de β -lactamine par l'inhibition rapide et réversible de la croissance ou par perte rapide de viabilité associée à une lyse (**RAHAL et al., 1984**). Sachant que la lyse est la destruction de la membrane d'une cellule biologique par un agent physique, chimique ou biologique, provoquant la mort de la cellule.

1.3.4.4. Pénicilline

Dans notre étude on s'intéresse aux pénicillines qui appartiennent à la famille chimique des β -lactamines (**Fig.1.2**). Le cycle bêta lactame (amide interne provenant de l'élimination d'une molécule d'eau entre un groupe acide et un amide de la même molécule) est associé à un cycle thiazolidine formant un cycle péname.

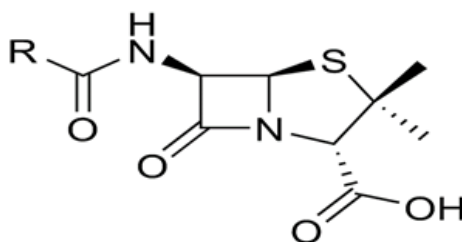


Figure 1.2. Structure chimique des pénicillines

Il peut être substitué par acylation sur sa fonction aminée pour donner naissance à des dérivées qui se distinguent par leur pharmacocinétique, leur stabilité, le spectre antibiotique et la résistance aux β -lactamases. La fonction carboxylique peut être transformée en carboxylate (ce qui conduit à des composés plus solubles) et permet l'obtention d'esters (ETIENNE et FAURE., 2015).

1.3.4.5. Amoxicilline

L'amoxicilline est un antibactérien bactéricide de la famille des bêta-lactamines, du groupe des pénicillines A ou aminopénicillines. La **figure 1.3** représente la structure chimique de l'amoxicilline.

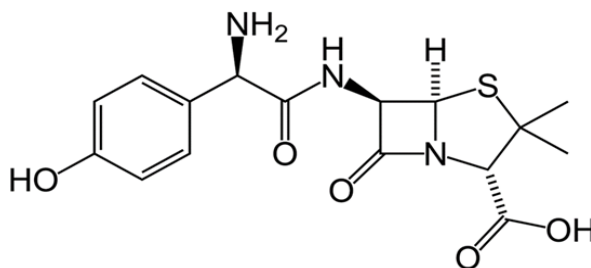


Figure 1.3 : Structure chimique de l'amoxicilline

Les caractéristiques physico-chimiques de l'amoxicilline sont résumées dans le **tableau 1.2**.

Tableau 1.2. Caractéristiques physico chimiques de l'amoxicilline

Nom	Amoxicilline
Classe thérapeutique	Antibiotique / β lactame
Formule brute	$C_{16}H_{25}N_3O_8S$
Masse molaire	419,45g/mol
Pka	2,4 ;4,7 ;9,6

Solubilité dans l'eau	3430mg/L
λ_{\max}	232nm
Forme tri hydraté	$C_{16}H_{19}N_3O_5S, 3H_2O$
Forme sel sodique	$C_{16}H_{19}N_3O_5S, Na$

1.3.4.6. Indication thérapeutique de l'amoxicilline

L'amoxicilline est utilisé dans le traitement des infections (**DICTIONNAIRE SAIDAL., 2005**), et qui sont :

- les pneumopathies aiguës ;
- les surinfections de bronchites aiguës et exacerbation de bronchites chroniques ;
- l'infections ORL (otite, sinusite, angine) et stomatologiques ;
- l'infection urinaire ;
- l'infection génitale masculine et infection gynécologique ;
- l'infection digestive et biliaire ;
- la maladie de Lyme.

1.4. Contrôle de stabilité des médicaments

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**).

1.4.1. Objectif 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).

1.4.2. Conditions exigées sur l'étude de stabilité

Les conditions exigées sur l'étude de stabilité sont différentes par rapport au principe actif et le produit fini.

1.4.3. Produits pour lesquels des études de stabilité exigées

Pour le 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).

Pour le 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).

1.4.4. Facteurs influençant la stabilité des médicaments

Plusieurs types de facteurs peuvent influencer la stabilité des médicaments tels que les facteurs extrinsèques et les facteurs intrinsèques qui sont résumés dans le **tableau 1.3**

Tableau 1.3. Facteurs influencent la stabilité des médicaments

Facteurs extrinsèques	Facteurs intrinsèques
Température	Systèmes médicamenteux

Humidité	Interaction contenu contenant
Oxygène	pH
Lumière	Polymorphisme
/	Chiralité

1.4.5. Classification des zones climatiques selon ICH

L'ICH divise le monde en quatre zones climatiques (**Tab.1.4**). Il faut noter que, l'Algérie appartenant à la zone II.

Tableau 1.4. Zones climatiques selon ICH

Zones	Climat	Température (°C)	Hygrométrie (HR)
Zone I	Climat tempéré	21	45
Zone II	Climat méditerranée et subtropicale	25	60
Zone III	Climat chaud et sec	30	30
Zone IV	Climat chaud et humide	30	35

1.5. Généralités sur l'analyse par chromatographie liquide à haute performance

1.5.1. Définition

La chromatographie liquide à haute performance est une technique séparative des constituants d'un mélange homogène ; c'est une méthode d'analyse très performante. Cette technique présente un champ d'application vaste (chimie, biochimie, environnement, industrie pharmaceutique, agroalimentaire, etc.) où la seule obligation pour l'échantillon est d'être soluble dans la phase mobile (**DINARY.A., 2010**).

La chromatographie liquide permet aussi, l'identification, la séparation et le dosage de composés chimiques dans un mélange donnée. Cette méthode est dotée d'une grande précision permettant la recherche de traces. En revanche, il est possible de la coupler à un spectromètre de masse (**LAMOUDI L., 2009**).

Le principe de la chromatographie liquide 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 (**Fig.1.4**). 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**).

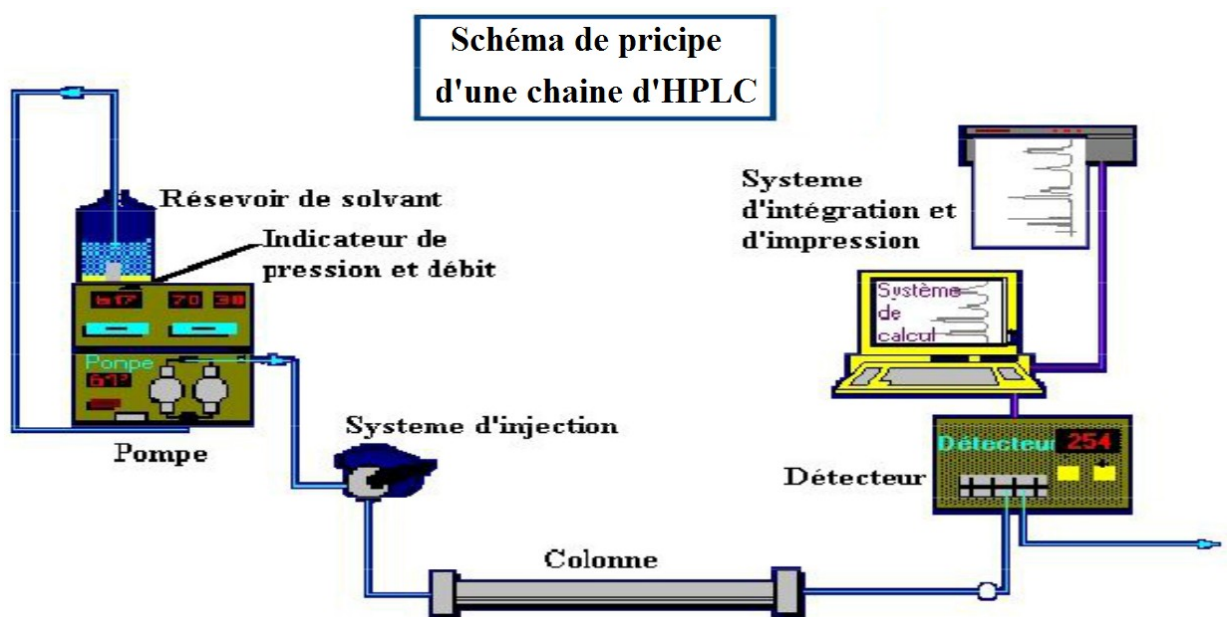


Figure 1.4. Principe de fonctionnement de l'HPLC (**SHEN, 2008**)

Dans les années 1990, la HPLC avait entamé une croissance explosive qui s'en faisait la méthode analytique, la plus populaire, jugée en fonction des ventes d'instruments et de l'importance scientifique. Sa popularité actuelle résulte de sa séparation pratique d'une large gamme de types d'échantillons, d'une puissance de résolution exceptionnelle, de la vitesse et des niveaux de détection nano molaires. La HPLC est actuellement utilisée dans la recherche pharmaceutique et le développement dans le but de :

- purifier les produits synthétiques ou naturels ;

- caractériser les métabolites ;
- doser les ingrédients actifs, les impuretés, les produits de dégradation ;
- utiliser dans les essais de dissolution et dans les études pharmacodynamiques et pharmacocinétiques (DINARY.A., 2010).

1.6. Généralités sur les plans d'expériences

1.6.1. Plan d'expériences

Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche ou des études industrielles (GOUPY J. 2005). La compréhension de la méthode de ces plans s'appuie sur deux notions essentielles, celle d'espace expérimental et celle de la modélisation mathématique des grandeurs étudiées (GOUPY J, CREIGHTON L. 2006).

1.6.2. Objectif du plan d'expériences

Les plans d'expériences ont essentiellement deux objectifs (TRIBOULET P., 2008), dans un système avec une variable de sortie et plusieurs variables d'entrée, et de quantifier les effets des variables d'entrée sur la variable de sortie en un nombre minimal d'expériences et ce afin de :

- sélectionner les variables/facteurs qui ont un effet significatif et de les quantifier et éventuellement classer ces facteurs en fonction de leurs effets
- déterminer la combinaison optimale des facteurs d'entrée qui permet d'optimiser la variable de sortie toujours en un nombre minimal d'expérience.

1.6.3. Type de plans d'expériences utilisés dans notre étude

Différents outils statistiques de plans d'expériences peuvent être utilisés par l'expérimentateur pour mener son étude tel que l'analyse en composantes principales (ACP) et la boîte à moustaches.

Afin de mieux interpréter les résultats expérimentaux, notamment les visualiser, les outils statistique mesure une réponse, établis des relations entre les réponses et les facteurs (SADO G., SADO M. C. 2000 ; TINSSON W., 2010 ; TRIBOULET P., 2008).

1.6.3.1. Facteurs

Les facteurs étudiés dans un plan d'expériences sont des facteurs d'entrée parfois appelés variables indépendantes. Un facteur peut être qualitatif ou quantitatif, continu ou discontinu, contrôlable ou non contrôlable.

1.6.3.2. Réponses

La réponse parfois appelée variable dépendante est une grandeur mesurée à chaque essai dont elle est analysée en fonction des variations des facteurs. Le plan vise à déterminer quels facteurs significatifs ou son évolution. La réponse peut être mesurable et/ou qualitative (KIASSOS E., et al., 2009 ; LIU R. S., et al., 2010 ; RUOTOLO L. A. M., 2005 ; YAHIAOUI I. et al., 2010). La figure 1.5. présente la relation entre les facteurs et les réponses d'un système donné

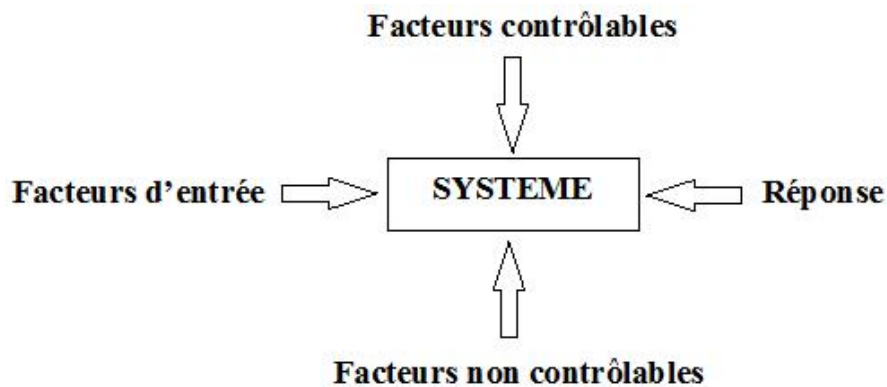


Figure 1.5. Relation entre les facteurs et les réponses d'un système donné

1.6.4. Analyse en composantes principales (ACP)

Dans notre travail, nous introduisant l'ACP, méthode centrale, indispensable pour bien comprendre le fonctionnement de toute technique factorielle. Cependant l'ACP permet de calculer les corrélations variables-facteurs, autrement dit les coefficients de corrélation linéaire entre chaque variable initiale et chaque facteur retenu.

1.6.4.1. Objectifs de l'ACP

L'objectif de l'ACP est d'identifier des structures au sein des facteurs échantillonnés ; établir les liaisons entre variables et de synthétiser et de relier (corrélér), sous forme graphique, les informations sur les individus aux variables (CASIN P., 1999).

1.6.4.2. Principes de l'ACP

Le principe général de l'ACP est de réduire la dimension des données initiales (qui est p si l'on considère p variables quantitatives), en remplaçant les p variables initiales par q facteurs appropriés ($q < P$). On effectue une rotation des axes dans l'espace des facteurs afin que le premier axe soit dans le sens du plus grand allongement du nuage de point, le deuxième axe soit dans le sens du second plus grand allongement du nuage de point etc. Cette rotation revient à chercher de nouveaux axes appelés composantes principales qui sont des combinaisons linéaires des variables de départ (FENELON J. P., 1981).

Notons que, les composantes principales qui apportent peu d'informations sur la forme sont éliminées. La quantité d'information conservée (perdue) est quantifiée. On appelle cette information quantifiée l'inertie.

1.6.4.3. Analyse des données

On considère p variables quantitatives, notées $X^1, \dots, X^j, \dots, X^p$, observées sur n individus, notés $1, \dots, i, \dots, n$. L'observation de la variable X^j sur l'individu i , $X_{(i)}^j$, sera plus simplement notée X_i^j ($X_i^j = 1$ ou -1) (BACCINI A., 2010). Les données se présentent ainsi sous le schéma d'un tableau (matrice de donnée) (Tab.1.5).

Tableau.1.5. Matrice de donnée (X^p : variable, n : essai ou échantillonnage)

	X^1		X^j		X^p
1	X_1^1		X_1^j		X_1^p
i	X_i^1		X_i^j		X_i^p
n	X_n^1		X_n^j		X_n^p

Le nombre p de variables d'une ACP vaut au moins 2 ; le plus souvent, p est de l'ordre de 10. Le nombre n d'individus est au moins égal à p ; le plus souvent, il vaut plusieurs dizaines (voire plusieurs centaines).

1.6.4.4. Inertie ou information

Rappelons que la dispersion d'une variable quantitative se mesure, en général, par sa variance (ou par son écart-type, racine carrée positive de la variance). Plus généralement, lorsqu'on dispose d'un nuage d'observations en plusieurs dimensions, on parle d'inertie (somme des variances des variables considérées), donc l'inertie d'un axe est égale à sa variance. L'inertie d'un axe correspondant à une variable réduite vaut 1

Inertie d'une composante principale est souvent donnée sous forme relative en %, soit :

$$(\%) = \frac{\text{Inertie de la CP}}{\text{Inertie du nuage de points}} \dots \dots \dots (1.2)$$

Les ACP portant une grande inertie sont retenus, par contre, celles qui contiennent peu d'information sont éliminées. Il est souvent convenu de dire que si:

- la part d'information est supérieure à 70%, la variable est très bien représentée ;
- la part d'information est inférieure à 70%, les variables peuvent être, moyennement bien représentées (par exemple 60%) ou médiocrement représentées (par exemple 30%). Dans ce dernier cas, on ne pourra rien conclure sur les relations entre ces variables. Il sera donc nécessaire de visualiser cette variable dans un autre plan ou elle sera mieux représentée (**KARAM S., 2004**).

1.6.4.5. Interprétation d'un cercle de corrélations

Seules les variables dont le vecteur est proche du cercle sont bien représentées dans le plan de l'ACP. Les autres variables ne doivent pas être prises en compte. Les coordonnées des anciennes variables sur les nouveaux axes s'interprètent comme des coefficients de corrélation (**BAAZIZ B., 2017**).

Par conséquent, la représentation d'un cercle (**Fig.1.6**) n'est valable que si le pourcentage de variance expliquée par F1 et F2 est suffisamment grand (nuage assez aplati sur le plan). Vérifier si les proximités se maintiennent dans d'autre plan de projection (F1-F2), (F2-F3) et (F1-F3) etc. (**BACCINI A., 2010**).

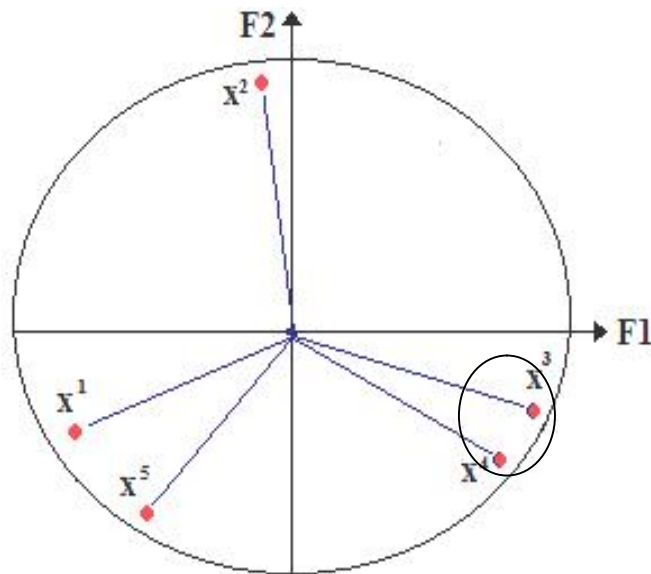


Figure.1.6. Cercle de corrélation entre variables
 X^3 et X^4 sont positivement corrélés entre eux,
 X^1 et X^3 sont négativement corrélés,
 X^2 est négativement corrélé à X^5

1.6.5. Boîte à moustaches

La boîte à moustaches, ou boîte à pattes, est un petit diagramme représentant divers caractères de dispersion d'une série statistique. La représentation graphique est mystérieuse lorsqu'on la découvre pour la première fois. Lorsqu'on utilise une calculatrice ce diagramme porte le nom de « Box Plot ».

Pour lire et interpréter une boîte à moustaches ; il est nécessaire de connaître sa construction. La boîte à moustaches utilise 5 informations à savoir : le minimum, les quartiles Q1, Q2 (médiane), Q3 et le maximum.

1.6.5.1. Médiane (paramètre de position)

La liste des N (effectif) donnée est rangée par ordre croissant si :

- N est impair ($N=2n+1$), la médiane est la donnée de rang $n+1$.
- N est pair ($N=2n$) la médiane est la demi-somme des données de rang n et de rang $n+1$.

Propriétés de la médiane :

- si on ajoute le même nombre k à toutes les valeurs de la série statistique, la médiane augmente de k .
- si on multiplie toutes les valeurs de la série statistique par un même nombre k , la médiane est multipliée par k .

1.6.5.2. Quartiles (paramètres de position)

La liste des N données est rangée par ordre croissant.

Le premier quartile (Q1) est la plus petite donnée de la liste telle qu'au moins un quart des données de la liste sont inférieures ou égales à Q1, qui correspond à 25% des observations.

Le troisième quartile (Q3) est la plus petite donnée de la liste telle qu'au moins les trois quarts des données de la liste sont inférieures ou égales à Q3, qui correspond à 75 % des observations.

1.6.5.3. Mesures de dispersion

Etendue

L'étendue d'une série statistique est égal à la différence entre la plus grande et la plus petite des données de la série.

Ecart interquartile

L'écart interquartile est égal à la différence ($Q3 - Q1$)

Écart Interquartile = $Q3 - Q1$

1.6.5.4. Délimitation des longueurs des moustaches (valeurs adjacentes)

L'extrémité de la moustache inférieure est la valeur minimum dans les données qui est supérieure à la valeur frontière basse est donnée par la relation suivante :

$$Q_1 - 1,5 \times (Q_3 - Q_1)$$

L'extrémité de la moustache supérieure est la valeur maximum dans les données qui est inférieure à la valeur frontière haute est donnée par la relation suivante ::

$$Q_3 + 1,5 \times (Q_3 - Q_1)$$

Calcul de UQ1

C'est l'erreur commise en Q1

$$\Delta Q1 = Q1_{\text{stat.}} - Q1_{\text{calcul.}}$$

Calcul de UQ3

C'est l'erreur commise en Q3

$$\Delta Q3 = Q3_{\text{stat.}} - Q1_{\text{calcul.}}$$

1.6.5.5. Représentation graphique de la boîte à moustaches

Une série statistique est peut être représentée par un diagramme appelé «boîte à moustaches» d'une série. On appelle aussi diagramme en boîte ou boîte à pattes ou encore diagramme de Tukey du nom de son concepteur. La boîte à moustaches (**Fig.1.7**) est composée de deux rectangles et de deux segments dont les longueurs correspondent aux paramètres de la série, représentés sur un axe gradué.

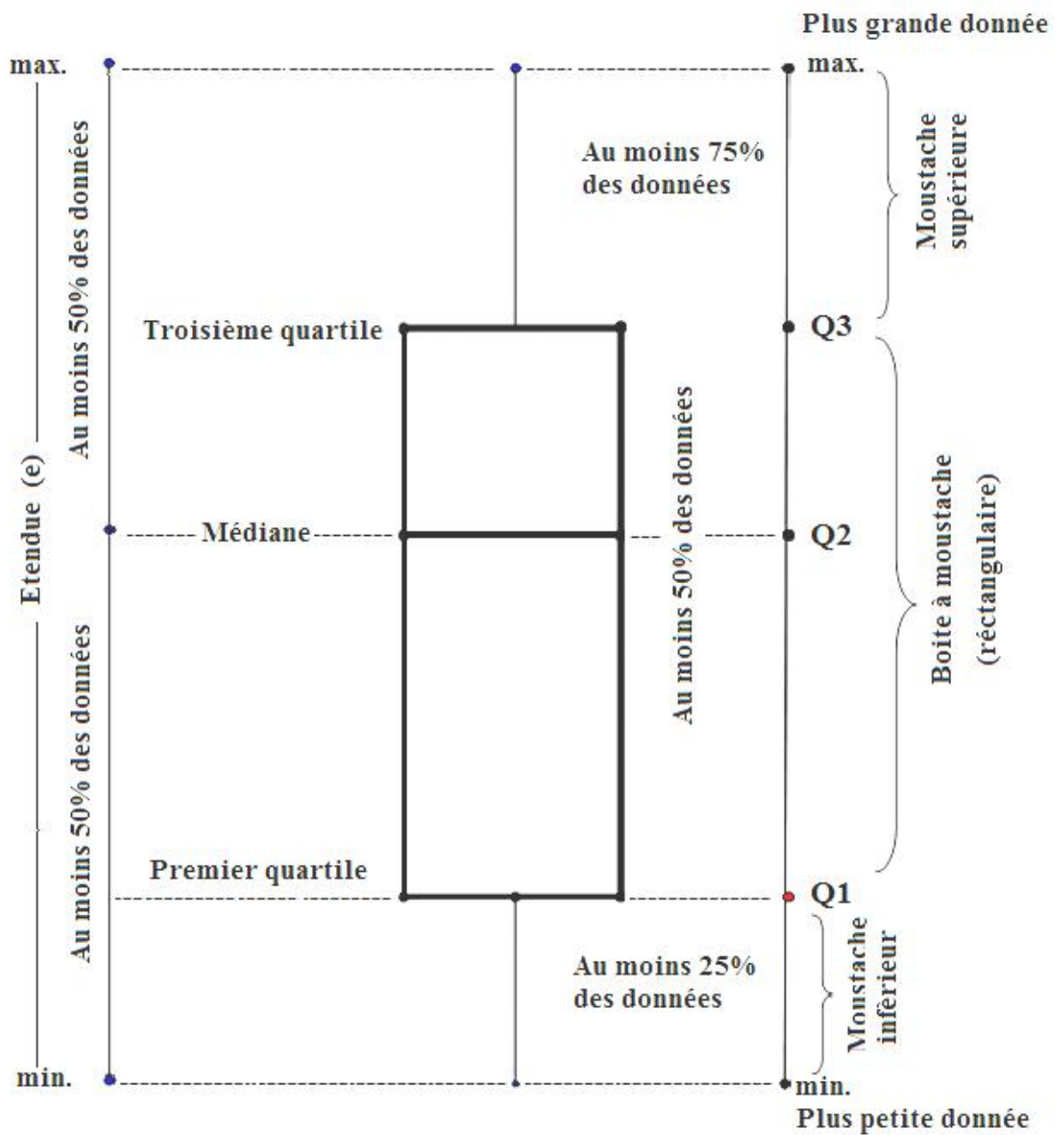


Figure 1.7. Représentation graphique d'une boîte à moustaches d'une série

1.6.5.6. Lecture d'une boîte à moustaches

La lecture d'une boîte à moustaches se fait dans ce notre cas sur une échelle des valeurs de la variable (d'une série), située sur un axe vertical. On repère trois principales moustaches :

- **Moustache inférieure 25%**

La moustache inférieure (min-Q1) représentée par un trait vertical du bas de la boîte et qui illustre au moins 25% des données.

- **Boîte à moustache (rectangulaire)**

Dans cette partie rectangulaire se situe les principales valeurs de quartile Q1, Q2 et Q3.

- la valeur du 1^{er} quartile Q1 (25% des effectifs), correspondant au trait inférieur de la boîte rectangulaire ;

- la valeur du 2^{ème} quartile Q2 (50% des effectifs) appelé médiane, représentée par un trait horizontal à l'intérieur de la boîte rectangulaire ;

- la valeur du 3^{ème} quartile Q3 (75% des effectifs), correspondant au trait supérieur de la boîte rectangulaire.

- **Moustache supérieure 75%**

La moustache supérieure (Q3-max) représentée par un trait vertical du haut de la boîte rectangulaire.

Les deux moustaches (inférieure et supérieure), délimitent les valeurs dites adjacentes qui sont déterminées à partir de l'écart interquartile (Q3-Q1).

Chapitre 2

Matériel et Méthodes

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

Dans le présent travail, l'application de l'outil informatique (Statistica) a été utilisé comme un moyen de calcul statistique sur la voie de dégradation d'une suspension d'amoxicilline et ce, en se basant sur l'étude de **YAO J.S.N.T et al.,2019**.

Nous nous sommes également, intéressé dans ce travail à l'étude de la stabilité physico-chimique d'une poudre pour suspension buvable d'amoxicilline au sein de laboratoire pharmaceutique de la Faculté des Sciences (Département de Chimie) afin de réaliser les différents tests en choisissant quatre laboratoires algériens certifiés « Bonnes Pratiques de Fabrication ».

Les quatre marques d'amoxicilline choisies sont considérées comme les plus vendues et les plus prescrites en Algérie. Ces échantillons nous permettent d'effectuer des tests de contrôle de la stabilité physico-chimique de la suspension. Les dates de fabrications et de péremptions des quatre marques d'amoxicilline poudre pour suspension buvable sont données dans le **tableau 2.1**.

Tableau 2.1. Marques d'amoxicilline poudre pour suspension buvable

Marques	A	B	C	D
Date de fabrication	07/2019	05/2018	07/2019	09/2019
Date de péremption	04/2022	05/2021	06/2022	09/2022

Quatre unités de quatre lots différents de poudre d'amoxicilline pour suspension buvable (250mg/5ml) ont été achetées, dont 08 échantillons utilisés et codés comme suit : **A** pour le laboratoire **1** ; **B** pour le laboratoire **2** ; **C** pour le laboratoire **3** et **D** pour le laboratoire **4**. Le contenu du produit, les matériaux d'emballages, et les excipients sont donnés dans le **tableau 2.2**.

Tableau 2.2. Poudres d'amoxicilline pour suspension buvable (250 mg/5ml)

Médicaments	Laboratoires	Composition et présentation
A	1	<p><u>Substance active</u> :</p> <p>Amoxicilline trihydratée quantité correspondante à amoxicilline anhydre 250mg.</p> <p><u>Excipients</u> :</p> <p>Benzoate de sodium, citrate de sodium anhydre, l'arôme cerise, l'acide citrique anhydre, saccharose.</p>
B	2	<p><u>Substance active</u> :</p> <p>Amoxicilline trihydratée équivalent à 250mg d'amoxicilline /5ml</p> <p><u>Excipients</u> :</p> <p>Gomme xanthane, parahydroxybenzoate de méthyle, parahydroxybenzoate de propyle, povidone K-30, poudre aromatisée citron-peche-fraise, citrate de sodium, saccharinate de sodium, saccharose q.s.p. une dose de suspension reconstituée (soit 5ml)</p> <p>Excipients à effet notoire (suspension buvable) : sodium, saccharose, parahydro xybenzoate de méthyle, parahydro xubenzoate de propyle.</p>
C	3	<p><u>Substance active</u> :</p> <p>Amoxicilline (DCI) tri hydratée exprimé en produits anhydre 250mg/ml</p> <p><u>Excipients</u> :</p> <p>q.s.p.5ml</p> <p>Excipients à effet notoire : Aspartam.</p>
D	4	<p><u>Substance active</u> :</p> <p>Clamoxyl 250mg/5ml, poudre pour suspension buvable Amoxicilline (sous forme trihydratée) 250mg</p> <p><u>Excipients</u> :</p> <p>q.s.p. une cuillère mesure de suspension reconstituée (soit 5ml)</p> <p>Crospolyvidone, aspartam, stéarate de magnésium, gomme xanthane, carmellose sodique, silice colloïdale anhydre, benzoate de sodium, arôme «citron-pêche-fraise»</p>

Afin de réaliser le contrôle de la stabilité physico-chimique ainsi d'effectuer les différents tests sur les différents échantillons choisis à savoir (**A, B, C, D**), plusieurs matériel ont été utilisés (**Tab. 2.3**).

Tableau 2.3. Matériel du laboratoire utilisé

Verrerie	Equipements	Appareils de mesure
<ul style="list-style-type: none"> - Bêchers en verre - Pipettes de 25ml - Propipette - Pycnomètres - Tubes à essais en verre 	<ul style="list-style-type: none"> - Balance analytique <i>(KERN_{ABJ-NM/ABS-N})</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Centrifugeuse <i>(Hettich Zentrifugen EBA20)</i> - Microscope optique <i>(PHYWE WF10 X-18MM)</i> - pH mètre <i>(HANNA HI 208).</i> - Viscosimètre à chute de bille <i>(Thermo ELECTRON CORPORATION)</i>

Une bille d'alliage de fer nickel de densité de $8,1 \text{ g/cm}^3$ a été choisie pour réaliser les expériences (*Kugelsatz Typ 800-0182*) (**Fig 2.1**).



Figure 2.1. Bille utilisée pour la mesure de la viscosité

2.2. Volume de reconstitution

Les suspensions d'antibiotiques sont des spécialités pharmaceutiques renferment des principes actifs si peu stables qu'elles doivent être reconstituées au moment de l'emploi et que, dès ce moment, leur validité est fortement réduite. Ces médicaments se présentent sous forme de poudre et qu'il faut mettre en suspension par addition d'eau purifiée et/ou minérale naturelle (MARKMAN B.E.O et al., 2014).

2.3. Reconstitution des échantillons d'amoxicilline

La reconstitution des échantillons d'amoxicilline a été effectuée dans le flacon de l'antibiotique (volume total 60ml), et rempli d'eau minérale (eau minérale de *Lala Khedidja*) jusqu'au trait de jauge puis bien agiter afin d'obtenir une suspension homogène (si nécessaire, compléter à nouveau avec l'eau jusqu'au trait et agiter) (PHARMACOPEE EUROPEENNE.2008).

Le **tableau 2.4** donne le volume d'eau minérale (*Lala Khedidja*) ajouté pour la reconstitution de la poudre pour suspension buvable de l'amoxicilline.

Tableau 2.4. Volumes de reconstitution des échantillons étudiés

Échantillons	A	B	C	D
Volume ajouté d'eau (ml)	$V_1 = 40$	$V_2 = 48,90$	$V_3 = 53,90$	$V_4 = 53,20$

2.4. Températures de conservation des échantillons

Les échantillons reconstitués ont été conservés à deux différentes températures 8°C et 25°C. (NAIDO et al., 2006). Le choix de ces températures représente les conditions de stockage à domicile en Algérie. Notons que les suspensions doivent être mises à l'abri de l'humidité et à la lumière.

2.5. Temps de conservation

Les échantillons reconstitués ont été conservés pendant 7 jours. Cette durée est considérée comme une durée moyenne du traitement à base d'un antibiotique (NAIDO et al., 2006).

2.2. Méthodes

2.2.1. Stabilité physico-chimique des échantillons (Tests physico-chimiques)

La stabilité physico-chimique a été étudiée pour chaque échantillon et ce au 1^{er} et au 7^{ème} jour. Ces deux jours sont considérés comme un repère d'étude de la stabilité.

2.2.1.1. Test de contrôle

Examen macroscopique

L'examen macroscopique permet d'apprécier les caractères organoleptiques : la couleur, l'odeur et l'homogénéité. Cet examen visuel permet aussi, de noter l'aspect du surnagent. Les caractères organoleptiques ont été caractérisés pour chaque échantillon (KAYE C.M et al., 2001).

Examen microscopique

L'examen microscopique permet d'apprécier la taille des particules. La répartition granulométrique doit être la plus homogène possible (PHARMACOPEE EUROPEENNE.2008). Cet examen est effectué à l'aide d'un microscope optique (Fig.2.2)



Figure 2.2. Photo d'un microscope optique

Mesure de pH

Le test de pH est répété pendant l'intervalle de temps (1^{er} et 7^{ème} jour) afin d'évaluer la stabilité chimique des échantillons à l'aide d'un pH-mètre (ADDOTEY J.N.A et al., 2014).

Mesure de la viscosité

Le viscosimètre à chute de bille a été utilisé pour les liquides newtoniens. D'abord, un volume d'échantillon a été versé dans le tube de mesure jusqu'à 20mm du rebord du tube. Ensuite, la bille a été placée dans le tube puis le bouchon creux. Le liquide doit atteindre un niveau juste au-dessus du capillaire, l'échantillon dans le tube ne doit pas contenir de bulles d'air. Avant de prendre une mesure finale, la bille doit parcourir le tube dans les deux sens au moins une fois pour améliorer l'homogénéité de l'échantillon, l'uniformité de sa température et le dégazage. Le tube est toujours incliné de 10°.

En retournant le tube, la bille se remet en position de mesure (**Fig.2.3**). Le temps de chute de la bille se déplaçant de la marque circulaire (repère A) jusqu'à la marque circulaire (repère B) qui est mesuré à l'aide d'un chronomètre. La période de temps démarre lorsque le périmètre inférieur de la bille touche la marque circulaire (repère A) qui doit être observé à l'œil comme une ligne droite. Le temps de chute s'arrête lorsque le périmètre inférieur de la bille touche la marque circulaire (repère B) qui doit également être observé à l'œil comme une ligne droite. Si la distance AC ou BC est utilisée pour réduire des temps de chute très longs pour les liquides très visqueux, il faut prendre en compte le double du temps mesuré.

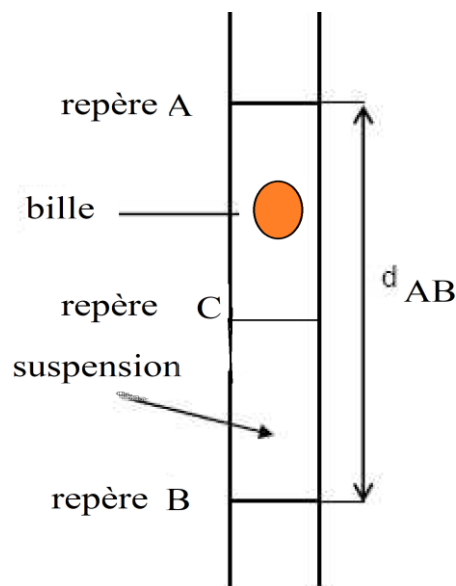


Figure 2.3. Schéma simplifié du tube central de mesure

La viscosité dynamique η (en mPa.s) est calculée à l'aide de l'équation (2.1) (pharmacopée européenne)

$$\eta = K(\rho_1 + \rho_2).t \quad \dots \dots \dots (2.1)$$

Où

K : constante de bille mPa.s.cm³/g.s

ρ_1 : densité de la bille en g/cm³

ρ_2 : densité du liquide à mesurer à la température de mesure en g/cm³

t : temps de chute de liquide de la bille en secondes (s)

Densité relative

La densité relative a été mesurée à l'aide d'un pycnomètre, les volumes d'eau distillée et des suspensions sont pesés selon les températures étudiées (T= 8 et T= 25°C). Lorsque l'équilibre de la température avec la salle des balances est établi, le pycnomètre à vide est pesé, ainsi rempli avec l'eau distillée puis peser. Enfin, le pycnomètre vide rincé et séché afin de le remplir avec les suspensions et le repeser à nouveau (pharmacopée européenne). La densité est évaluée à l'aide de la formule (2.2)

$$d^{25} = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} + 0.0012 \dots \dots \dots (2.2)$$

Avec :

25°C : température de la salle ;

M₀ : masse du pycnomètre à vide (en g) ;

M₁ : masse pycnomètre rempli avec de l'eau distillée (en g) ;

M₂ : masse du pycnomètre rempli avec la suspension (en g).

2.2.1.2. Test de stabilité

Sédimentation forcée par centrifugation

Les échantillons ont été versés dans des tubes de centrifugation, ensuite sont placés dans la centrifugeuse (**Fig.2.4**) sous une vitesse de 3000tours/minutes pendant 5 minutes afin d'apprécier leur stabilité.



Figure 2.4. Centrifugation forcée des échantillons

2.3. Matériel et appareillage du travail antérieur (pris comme référence)

Nous nous sommes intéressé aussi à l'étude statistique des résultats expérimentaux de **YAO J.S.N.T et al., 2019** (voir annexe). En fait, leur résultat repose sur le dosage de l'amoxicilline qui s'est effectué sur un chromatographe liquide (*Shimadzu, France*) équipé d'une pompe (*DGU-20A5*), d'un système d'injection automatique (*LC-20AT*), d'un détecteur UV Visible réglé à 230 nm (*SPD 20 AT*) et d'un enregistreur intégrateur (*CTO-20A*). L'étude a également nécessité un agitateur magnétique (*Vortex Génie II, USA*) ; un pH mètre (*Thermo-Orion, USA*) ; une étuve (*Jouan, USA*) ; une balance de précision (*Sartorius, Allemagne*) et un dispositif de filtration sur un Büchner pour le dégazage.

2.3.1. Réactifs et solutions de travail

Les réactifs utilisés étaient de qualité analytique tels que l'Acétonitrile pour chromatographie liquide (*Scharlau, Espagne*); Dihydrogénophosphate de potassium (*Merck, Allemagne*) et l'hydroxyde de potassium (*Merck, Allemagne*). Le produit de référence était l'amoxicilline trihydratée (*Sigma-Aldrich, Allemagne*) de titre 100,2% (858,7 μ g/mg). Par contre, les solutions de travail préparées sont une solution tampon phosphate 0,02 M, pH 5 ; une solution d'hydroxyde de potassium (1%) et une solution de référence d'amoxicilline à 0,2 mg/ml.

2.3.2. Échantillonnage

L'échantillonnage a été constitué de cinq marques commerciales (les plus vendues) de poudres pour suspensions buvables à base d'amoxicilline sélectionnés après une préenquête réalisée sur une période de 30 jours dans deux officines de pharmacie de la place. Ces marques codifiées par les lettres A, B, C, D et E et étaient dosées chacune à 250mg d'amoxicilline pour 5ml. Quatre boîtes de chacune des cinq marques retenues ont été nécessaires pour l'analyse, soit un total de 20 échantillons.

2.3.3. Méthodologie

Chacun des échantillons a été reconstitué avec 2 différentes qualités d'eau puis conservé à 2 températures différentes (5 ± 3 °C et 30 ± 2 °C). La stabilité a été étudiée en déterminant la teneur en amoxicilline pendant 6 jours consécutifs par chromatographie liquide en phase inverse après validation de la méthode d'analyse. Le volume d'eau nécessaire pour la reconstitution a été évalué pour chaque marque commerciale. Le pourcentage de dégradation a été calculé après le 6^{ème} jour de reconstitution selon la formule (2.3)

$$\text{Pourcentage de dégradation} = \frac{(T_{\text{enseur}}_{j_6} (\text{mg}/5\text{ml}) - T_{\text{enseur}}_{j_1} (\text{mg}/5\text{ml}))}{T_{\text{enseur}}_{j_6} (\text{mg}/5\text{ml})} \times 100 \dots (2.3)$$

2.3.4. Mode de reconstitution des suspensions

Deux eaux ont été choisies à savoir : eau minérale naturelle notée (Eau MIN.) et eau de robinet bouillie et refroidie notée (Eau ROB.). Le volume d'eau utilisé était de 60ml comme indiqué sur le conditionnement, correspondant ainsi à 12 doses de 5ml de suspension selon le fabricant. Après reconstitution, les flacons ont été vigoureusement agités.

2.3.5. Températures de conservation

Chaque suspension préparée selon la qualité d'eau choisi a été conservée à deux températures différentes 5 ± 3 °C et 30 ± 2 °C. Ces conditions représentent les conditions de stockage à domicile (NWOKOYE, 2012).

2.3.6. Préparation de l'extrait à analyser

Un millilitre de la suspension reconstituée a été prélevé dans une fiole jaugée de 100ml. La prise d'essai a été diluée dans 15ml d'une solution tampon phosphate à pH égal à 5,0. La solution obtenue a été soumise à agitation mécanique vigoureuse pendant 10min, puis compléter jusqu'au trait de jauge avec un pH 5,0. La solution a été homogénéisée agiter pendant 5 minutes puis filtrer. La solution obtenue constitue l'extrait à analyser par chromatographie liquide (**USP 31, 2008**).

2.2.7. Conditions d'analyse chromatographique

Les conditions d'analyse retenues sont tirées des travaux de **PEREZ-LOZAN et al. (2006)** et sont :

- Phase mobile : tampon phosphate 0,02 M pH 5 / acétonitrile (95/5, v/v) ;
- Phase stationnaire : C18, 250 x 4,6 mmx5 μ m ;
- Débit à 0,8ml/min ;
- Détection UV à 230 nm.

Chapitre 3

Résultats et Approche Statistique

3. Résultats et approche statistique

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés à évaluer les résultats expérimentaux des tests de stabilité physico-chimique de l'antibiotique (amoxicilline) au sein de laboratoire de travaux pratiques de chimie pharmaceutique au département de chimie à la Faculté des sciences de l'université UMMTO, notamment l'application de l'analyse en composantes principales (ACP) et la boîte à moustaches des résultats antérieurs de YAO J.S.N.T et al., 2019 et ce afin d'enrichir notre travail.

3.1. Résultats expérimentaux et discussion des tests de stabilité physico-chimique

3.1.1. Résultats de l'inspection des caractères organoleptiques

La suspension buvable d'amoxicilline est considérée comme une poudre blanche à écoulement libre, sa reconstitution donne une couleur laiteuse et une odeur spécifique. Le test de la couleur, le goût et l'odeur a été enregistré pendant une période d'étude allant de 1^{ère} jour jusqu'à 6^{ème} jours.

Les résultats des tests de contrôle physico-chimique des suspensions d'amoxicilline 250mg/5ml ont été illustrés dans le **tableau 3.1**. Les résultats des tests physiques montrent que les 8 échantillons conservés à température ambiante (25°C) étaient très différents, en particulier la couleur. Par contre, ceux conservés à température réfrigérée entre 2 et 8°C étaient stables pendant la même période d'étude (**Tab.3.1**).

3.1.2. Mesure de pH

Les résultats de pH pour les 4 marques sont illustrés dans le **tableau 3.1**. Selon USP 30, les valeurs de pH sont dans la limite d'acceptation (3,8-6,75) pour 1^{ère} jour et le 6^{ème} jours.

3.1.3. Résultats du test de contrôle microscopique

L'analyse par examen microscopique nous a permis d'observer la taille et la distribution de particules. Les résultats de test de contrôle de la taille et la distribution granulométrique des particules sont indiqués sur le **tableau 3.2**. Les résultats montrent que la croissance des cristaux est due au changement de la température pendant le stockage (la conservation). Cette croissance induit à l'altération physique des suspensions par la modification de l'écoulement et l'altération des propriétés thérapeutiques par modification de la distribution granulométrique des particules.

Tableau 3.1. Résultats des tests de contrôle physico-chimique des suspensions d'amoxicilline 250mg/5ml

Conditions	Test	T =25°C (température ambiante)				T=8°C (température réfrigérée)			
Temps en jours	Paramètres	A	B	C	D	A	B	C	D
Jour 1	pH	6,23	6,14	6,13	6,31	6,23	6,14	6,13	6,31
	Couleur	Blanche pale	Blanche pale	Blanche	Blanche	Blanche pale	Blanche pale	Blanche	Blanche
	Odeur	Cerise	Fraise	Désagréable	Fraise	Cerise	Désagréable	Fraise	Fraise
Jour 7	pH	5,95	5,55	5,54	4,17	5,73	5,60	5,36	5,50
	η (mpa/s)	6,60	7,50	/	1,36	6,60	7,50	/	1,36
	Couleur	Jaunâtre	Jaunâtre	Blanche pale	Blanche pale	Blanche pale	Blanche pale	Blanche	Blanche
	Odeur	Cerise	Fraise	Très désagréable	Fraise	Cerise	Désagréable	Fraise	Fraise

Tableau 3.2. Résultats de test de contrôle de la taille et la distribution granulométrique des particules

Temps (jour)		T =25 °C température ambiante				T=8 °C température réfrigérée			
		A	B	C	D	A	B	C	D
Jour 1	Taille des cristaux observée	Cristaux de taille moyenne se forme de bâtonnets	Cristaux éloignés et de même taille	Cristaux de moyenne à grande taille	Cristaux de petite taille approchés entre eux	Cristaux de taille moyenne se forme de bâtonnets	Cristaux éloignés et de même taille	Cristaux de taille moyenne et approchés entre eux	Cristaux de très petite taille approchés entre eux
Jour 7		Cristaux de grande taille	Cristaux éloignés et de grande taille	Cristaux de grande taille	Cristaux de petite taille approchés entre eux	Cristaux de taille moyenne se forme de bâtonnets	Cristaux éloignés et de même taille	Cristaux de petite taille approchés entre eux	Cristaux de très petite taille approchés entre eux

3.1.4. Résultat de la sédimentation forcée des échantillons

La sédimentation forcée des échantillons nous a permis d'observer en haut des tubes à essais une croûte (une partie de la poudre), qui restera collée et ne se remettra jamais en suspension, ce qui implique qu'une partie de la dose du médicament est perdue.

Ce phénomène a été noté dans les 08 échantillons conservés à deux différentes températures (**Fig. 3.1**).

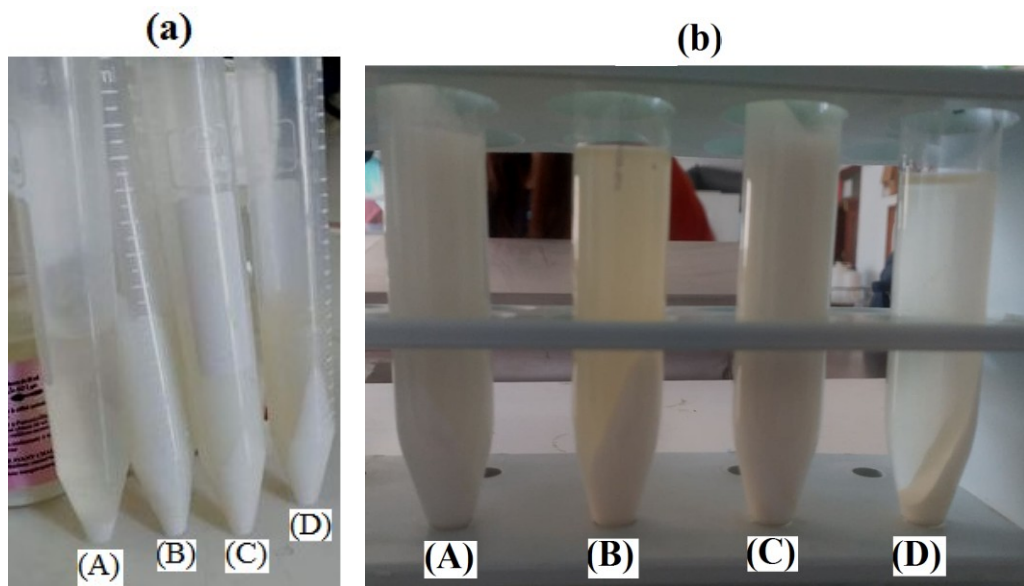


Figure 3.1. Résultat de la sédimentation forcée des échantillons (A, B, C, D)

(a) 1^{er} jour et (b) 7^{ème} jour

3.2. Approche statistique et discussion des résultats de l'étude antérieure

La suite de la discussion est consacrée à l'étude antérieure de YAO J.S.N.T et al., 2019. Le **tableau 3.3** donne l'évaluation des teneurs des échantillons d'amoxicilline en suspension 250mg/5ml et leur taux de dégradation $P_{\text{dég.}}(\%)$ dans des conditions opératoires bien définies.

Tableau 3.3. Évaluation des teneurs des échantillons d'amoxicilline en suspension 250mg/5ml

Essais	T°C	Echantillon	Groupe	Eau Min.	Eau Rob.	[C] J 1 (mg/ml)	[C] J6 (mg/ml)	P _{dég.} (%)
1	5	A	1	Eau Min.	0	262,30	249,95	04,70
2	5	B		Eau Min.	0	299,90	290,50	03,13
3	5	C		Eau Min.	0	267,60	256,55	04,12
4	5	D		Eau Min.	0	262,85	254,75	03,07
5	5	E		Eau Min.	0	260,30	247,15	05,05
6	5	A	2	0	Eau Rob.	259,85	249,10	04,14
7	5	B		0	Eau Rob.	293,40	285,05	02,85
8	5	C		0	Eau Rob.	259,00	249,55	03,65
9	5	D		0	Eau Rob.	259,05	249,30	03,76
10	5	E		0	Eau Rob.	263,85	254,60	03,50
11	30	A	3	Eau Min.	0	262,80	231,21	12,02
12	30	B		Eau Min.	0	298,50	270,70	09,32
13	30	C		Eau Min.	0	255,00	227,95	10,60
14	30	D		Eau Min.	0	272,75	226,35	17,01
15	30	E		Eau Min.	0	260,15	244,20	06,13
16	30	A	4	0	Eau Rob.	260,05	228,15	12,27
17	30	B		0	Eau Rob.	297,90	274,65	07,81
18	30	C		0	Eau Rob.	251,30	233,75	07,10
19	30	D		0	Eau Rob.	255,35	232,75	08,85
20	30	E		0	Eau Rob.	257,75	242,15	06,07

3.2.1. Interprétation de la courbe de régression

La **figure 3.2** montre la courbe de régression pour la réponse taux de dégradation $P_{\text{dég.}}(\%)$ en fonction des valeurs observées et les valeurs prévus (prédites). Sachant que les valeurs observées sont les résultats expérimentaux (dites aussi réelles) et les valeurs prévus (dites aussi estimées). Les valeurs prévues sont données par le logiciel_Statistica et sont déterminées par des fonctions mathématiques. Néanmoins, plus les valeurs prédites se rapprochant aux valeurs observées et s'approche de la diagonale, le modèle étudié est bon.

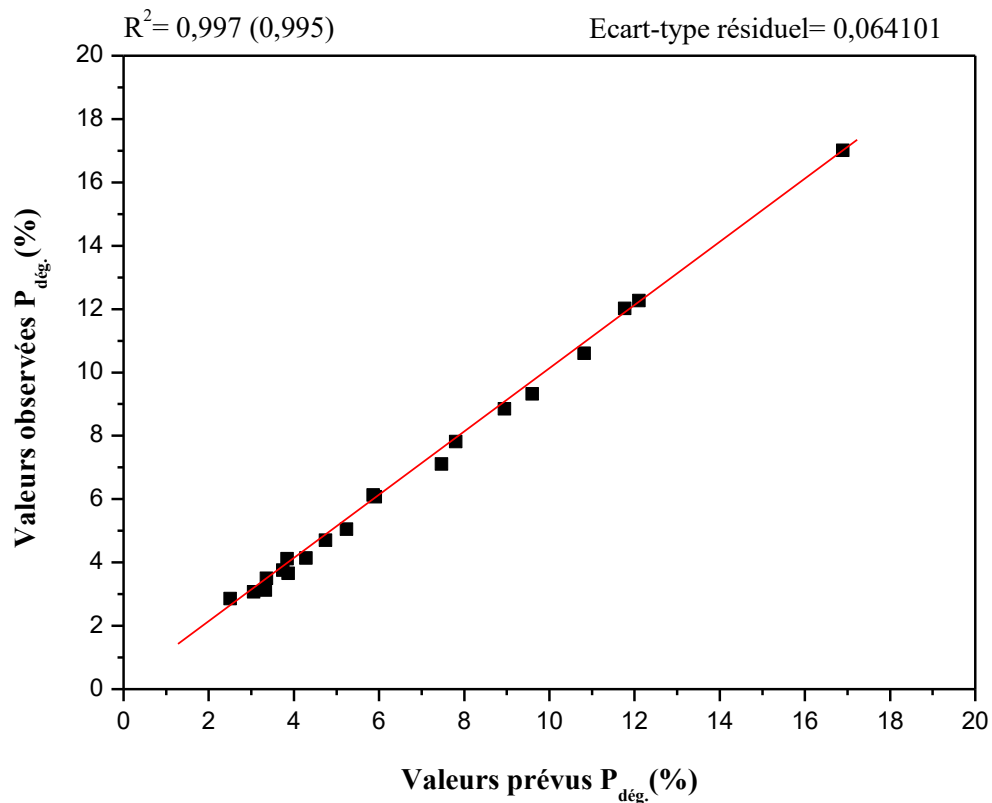


Figure 3.2. Courbe de régression pour la réponse taux de dégradation $P_{\text{dég.}}(\%)$

En effet, le modèle rend assez bien compte la réponse mesurée puisque les points du graphique sont très rapprochés entre eux et donc ne s'éloignent pas trop de la bissectrice (la diagonale). Le coefficient d'estimation R^2 et le R^2 (ajusté) vaut respectivement 0,997 et 0,995. L'erreur globale sur la réponse taux de dégradation $P_{\text{dég.}}(\%)$, c.-à-d. l'écart-type résiduel, est estimé à 0,064101. Cette valeur est très petite ce qui signifie que le modèle est bon et acceptable.

3.2.2. Interprétation de l'Analyse en Composantes Principales (ACP)

Les tableaux de valeurs et les figures illustrés dans cette partie sont donnés par le logiciel de Statistique complet -V.8.0.725.0 (EN) : *Statistica*.

3.2.2.1. Interprétation du tableau de corrélation des variables

Le **tableau 3.4** donne la corrélation des variables (paramètres) par rapport aux axes factoriels dits « Facteurs » à savoir : Factor 1, Factor 2, Factor 3, Factor 4 et Factor 5, l'inertie de chaque facteur est respectivement 39,79%, 33,95%, 18,32, 5,12% et 2,82%. L'inertie de ces facteurs indique d'une part, la présence de corrélation entre les variables et d'autre part suggère le nombre de composantes principales à interpréter. On considère seulement les variables significatives sur les axes factoriels ce qui veut dire la plus grande valeur en valeur absolu.

Tableau 3.4. Corrélation entre variables sur les facteurs

Variables	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5
Inertie (%)	39,79	33,95	18,32	5,12	2,82
T°C	<u>0,710816</u>	-0,509045	0,327935	0,270327	0,234510
Eau Min.	0,622721	<u>0,736955</u>	-0,258439	0,036472	0,031535
Eau Rob.	-0,622721	<u>-0,736955</u>	0,258439	-0,036472	-0,031535
[C](mg/ml) _{J1}	0,274159	0,415875	<u>0,817006</u>	-0,289488	0,024141
[C](mg/ml) _{J6}	-0,552970	<u>0,601681</u>	0,421339	0,379221	-0,104256
P _{dég.} (%)	<u>0,851945</u>	-0,395920	0,114757	0,060434	-0,317200

L'axe F1 définit sur son pôle positif c.à.d. [0, 1] avec inertie d'information de 39,79%, 2 variables significatives telles que la température de conservation (T°C) et le taux de dégradation (P_{dég.} (%)), cette dernière s'approche de la valeur 1.

Par ailleurs, l'axe F2 est exprimé sur les deux 2 pôles (positif et négatif) avec une inertie d'information de 33,95%. Sur son pôle positif définit l'eau minérale (Eau Min.) qui est proche de 1, et la concentration finale ([C](mg/ml)_{J6}). Tandis que sur son pôle négatif, l'eau de robinet (Eau Rob.) qui s'approche de -1.

À noter que, sur l'axe F3 est exprimé seulement, sur son pôle positif ; la concentration initiale ($[C] \text{ (mg/ml)}_{j1}$) la seule variable qui est proche de l'unité 1.

Les 2 axes qui restent (F4 et F5) n'apportent pas beaucoup d'informations sur les variables étudiées et donc à exclure. On retient donc, que les trois premiers facteurs, qui porte une inertie importante tels que F1, F2 et F3 afin d'interpréter l'ACP.

3.2.2.2. Interprétation graphique des cercles de corrélation

Cercle de corrélation des variables sur (F1/F2)

La **figure 3.3** présente le cercle de corrélation des variables sur (F1/F2). Sur le facteur 1, avec une inertie de 39,79%, est défini la température de conservation ($T^{\circ}\text{C}$) et le taux de dégradation ($P_{\text{dég.}}(\%)$) et qui sont positivement corrélés entre eux (forte corrélation), ce qui traduit, qu'une fois la température de conservation augmente cela va engendrer la dégradation de l'antibiotique (la molécule en suspension) ($P_{\text{dég.}}(\%)$) et par la suite, induit la diminution de la concentration finale. On peut dire que la température de conservation joue un rôle très important sur la stabilité de la suspension buvable.

Notons que, les deux températures utilisées (5 et 30°C) sont considérées comme des températures standard données par ICH (voir *Tableau.1.3. Chapitre.1.*)

La forte corrélation positive entre la température de conservation ($T^{\circ}\text{C}$) et le taux de dégradation ($P_{\text{dég.}}(\%)$) est très lisible. Cette figure est intéressante car, nous permet d'identifier et de confirmer l'influence de la température sur la conservation du médicament.

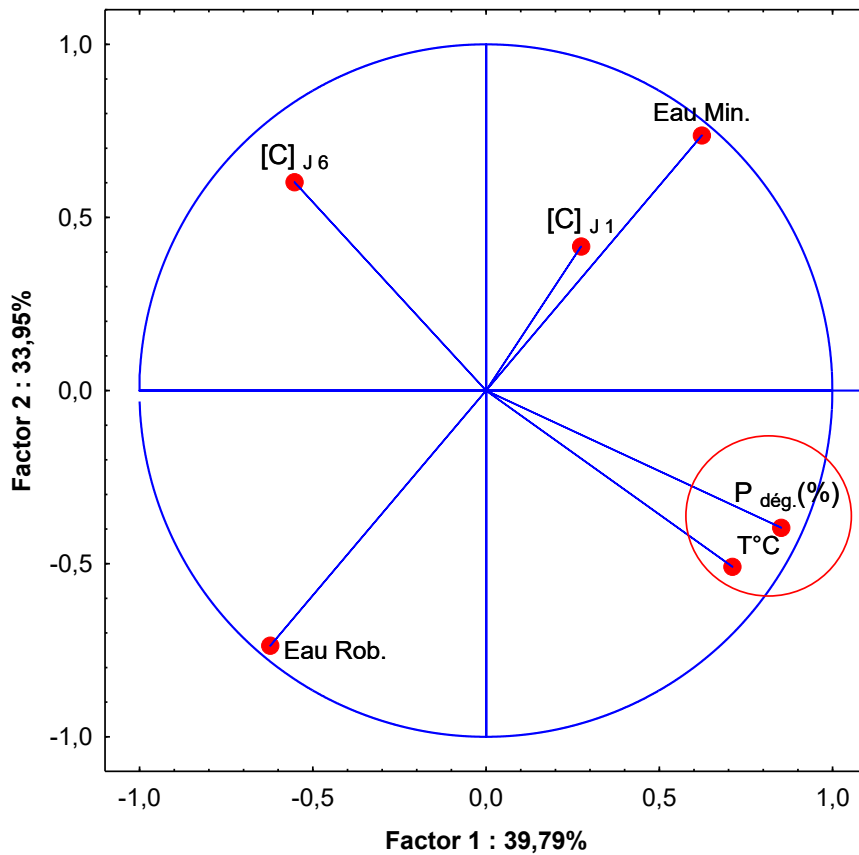


Figure 3.3. Cercle de corrélation entre variables (F1/F2)
(Inertie (F1=39,79% et F2= 33,95%))

Par ailleurs, sur le facteur 2, l'inertie d'information est estimée à 33,95% et nous révèle que l'eau de robinet (Eau Rob.) est négativement corrélée avec l'eau minérale (Eau Min.). Ce résultat nous renseigne sur la qualité d'eau utilisée pour la reconstitution de la poudre pharmaceutique ce qui veut dire soit on utilise l'eau minérale pour la préparation de la suspension ou l'eau de robinet bouillée et refroidie (selon la disponibilité) et ne pas le mélange des deux. De plus, la concentration finale c.-à-d. au sixième jour $[C](\text{mg/ml})_{J6}$ est positivement corrélée avec l'eau minérale. On peut dire que l'eau minérale est favorisée pour la reconstitution des poudres pour les suspensions buvables à base d'amoxicilline. En revanche, l'eau de robinet bouillée et refroidie est conseillée sans être favorisée.

Cercle de corrélation des variables sur (F1/F3)

L'analyse en composantes principales de la **figure 3.4**, nous renseigne que sur l'axe F1 et F3 l'inertie d'information est respectivement 39,79% et 18,32%.

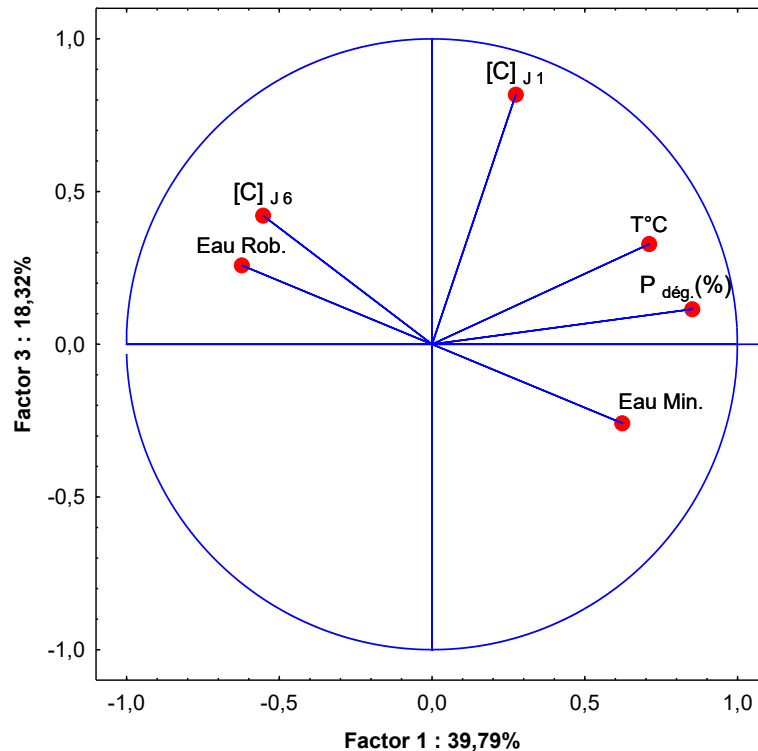


Figure 3.4. Cercle de corrélation entre variables (F1/F3)
(Inertie (F1=39,79% et F3= 18,32%))

La température de conservation du médicament ($T^{\circ}\text{C}$) et le taux de dégradation ($P_{\text{dég.}}(\%)$) sont positivement corrélés entre eux sur l'axe F1 ce qui confirme le résultat donné par ACP de la **figure 3.3** et ce qui sous-entend que quand la température de conservation est faible, le taux de dégradation n'est pas considérable. Par ailleurs, la température choisie joue un rôle très important dans l'étape de conservation de médicament. Par conséquent, on peut dire que sur l'axe F1 qui porte une inertie de 39,97% on trouve beaucoup d'informations car il possède l'inertie la plus importante par rapport aux axes F3 et F2.

Rappelons que sur le facteur 2, l'inertie d'information est estimée à 33,95% et définit les variables suivantes (voir tableau 3.4), on prend la grande valeur avec la valeur absolue

- Eau Min. 0,736955 sur F2 contre 0,622721 sur F1
- Eau Rob. -0,736955 sur F2 contre -0,622721 sur F1
- $[C](\text{mg/ml})_{J6}$ 0,601681 sur F2 contre -0,552970 sur F1

Sur le facteur F3 l'inertie d'information est estimée à 18,32%, et contient peu d'information car l'inertie est trop faible. Par conséquent, une seule variable est défini à savoir la concentration initiale c.-à-d. la concentration prise en premier jour $[C](\text{mg/ml})_{J1}$. La diminution de cette concentration dans les différents échantillons reste conforme à la norme (225-300mg/5ml).

Cercle de corrélation des variables sur (F2/F3)

La **figure 3.5** ne nous donne aucune information supplémentaire sur le taux de dégradation, la température de conservation et les deux concentrations des différents échantillons. Sur l'axe F3 est exprimé seulement sur un pôle positif la concentration initiale $[C](\text{mg/ml})_{J1}$ la seule variable qui est proche de l'unité 1.

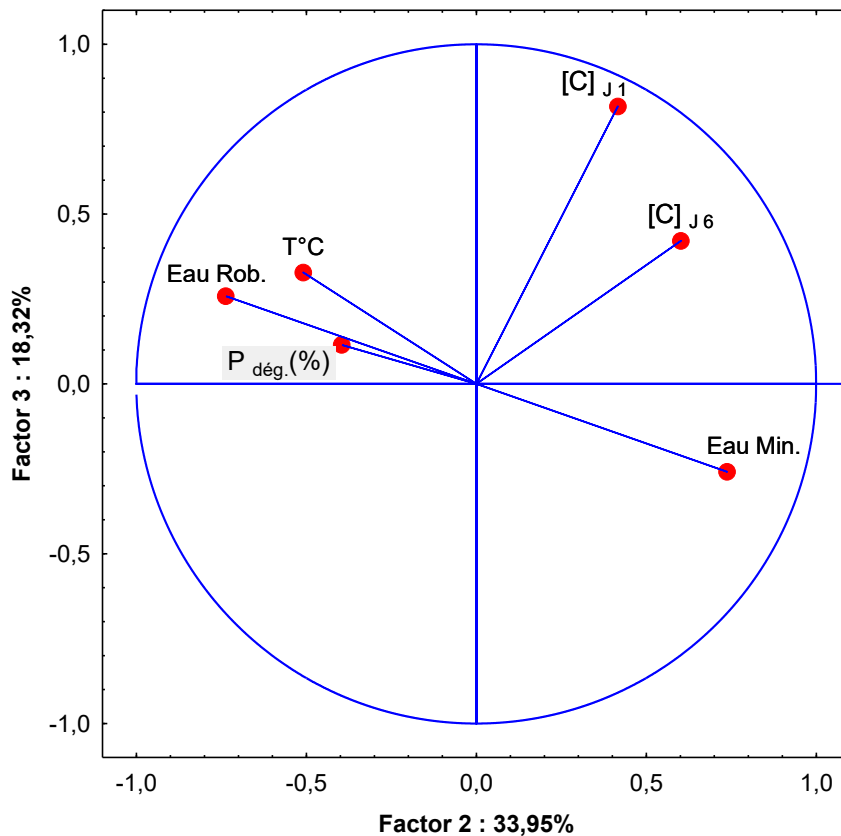


Figure 3.5. Cercle des corrélations entre variables (Inertie (F2=33,95% et F3= 18,32%))

Par ailleurs, cette figure nous confirme que sur le facteur F2 (33,95%) l'eau de robinet (Eau Rob.) est négativement corrélée avec l'eau minérale (Eau Min.). Ce qui signifie que les poudres pharmaceutiques sont reconstituées soit par une eau minérale ou bien l'eau de robinet bouillie et refroidit mais pas le mélange des deux.

3.2.3. Interprétation des nuages de points

3.2.3.1. Interprétation des nuages de points (des essais) sur le plan F1/F2

Les deux premiers axes F1 et F2 expriment 73,74% d'inertie totale c.-à-d. 73,74% de la variabilité totale du nuage des individus (ou essais).

On peut vérifier visuellement sur la **figure 3.6**, qui représente le nuage des points de 20 essais réalisés, que les points (essais) 11, 13 et 14 correspondent respectivement aux valeurs du taux de dégradation $P_{\text{dég.}}$ de la suspension buvable d'amoxicilline les plus élevés et qui sont 12,02, 10,60 et 17,01% avec une teneur faible de l'amoxicilline enregistrée après 6 jours de conservation ($[C]_{\text{mg/ml}_6}$) à température ambiante (30°C) considérée ici comme une valeur élevée. Ces points sont les plus proches sur l'axe F1 (pôle positif), ce qui signifie que quand la température de conservation est grande, la concentration (et/ou la teneur en amoxicilline) diminue au cours du temps de conservation du médicament, ce qui va engendrer par la suite une augmentation du taux de dégradation de la suspension. Ce résultat est en concordance avec les résultats trouvés par la **figure 3.3** de l'ACP (F1/F2)

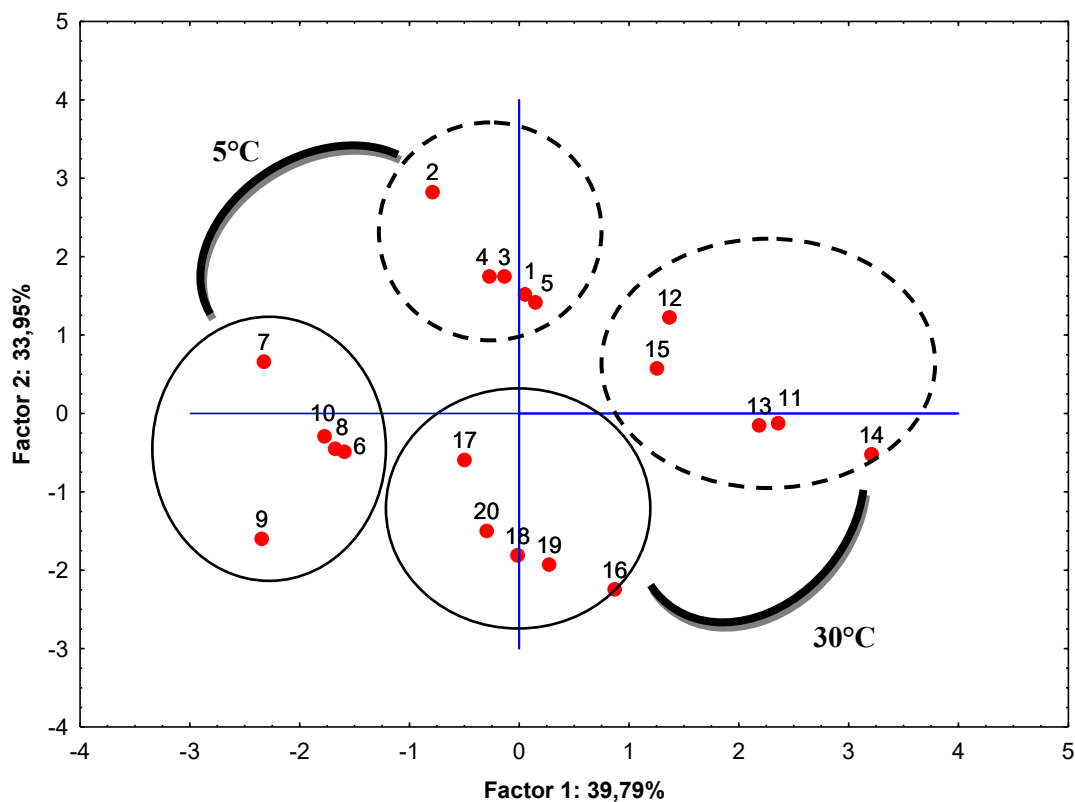


Figure 3.6. Représentation visuelle du nuage de points (essais) via les facteurs F1 et F2

○ Eau minérale naturelle ● Eau de robinet bouillie et refroidi

Par contre, le point 7, correspondant à l'essai 7 (voir tableau 3.3), nous confirme les résultats donnés par la **figure 3.5** de l'ACP F2/F3. Les conditions opératoires de l'essai 7 sont les conditions optimales de la reconstitution, cette dernière, reste stable pendant une durée moyenne du traitement allant de 6 jours. Donc, la meilleure stabilité avec les conditions opératoires de préparation de la suspension buvable d'amoxicilline sont :

Eau de reconstitution (eau de robinet bouillie et refroidi) ;

Température de conservation ($T=5^{\circ}\text{C}$) ;

Taux de dégradation ($P_{\text{dég.}}=2,85\%$).

La **figure 3.6** est intéressante car, nous permet de confirmer que la température de conservation influe positivement sur la dégradation de la suspension buvable d'amoxicilline ce qui induit à l'instabilité de cette dernière. Par ailleurs, le solvant de la reconstitution à savoir eau minérale naturelle ou l'eau de robinet bouillie et refroidi n'influe pas sur la stabilité de la suspension buvable, mais ce dernier est conseillé sans être favorisé.

3.2.4. Part d'information portée par les axes factoriels

La courbe des valeurs propres (**Fig.3.7**) nous indique la décomposition de l'inertie des axes factoriels c.-à-d. les résultats des valeurs propres schématisées sur les axes (F1, F2, F3, F4, F5). En effet, les axes factoriels ou les facteurs F1, F2, F3 sont les seules à dépasser la valeur 1 de la valeur propre. Les 2 axes qui restent (F4 et F5) n'apportent pas beaucoup d'informations sur les variables étudiées et donc à exclure. Ce résultat nous confirme les résultats donnés par le tableau 3.4.

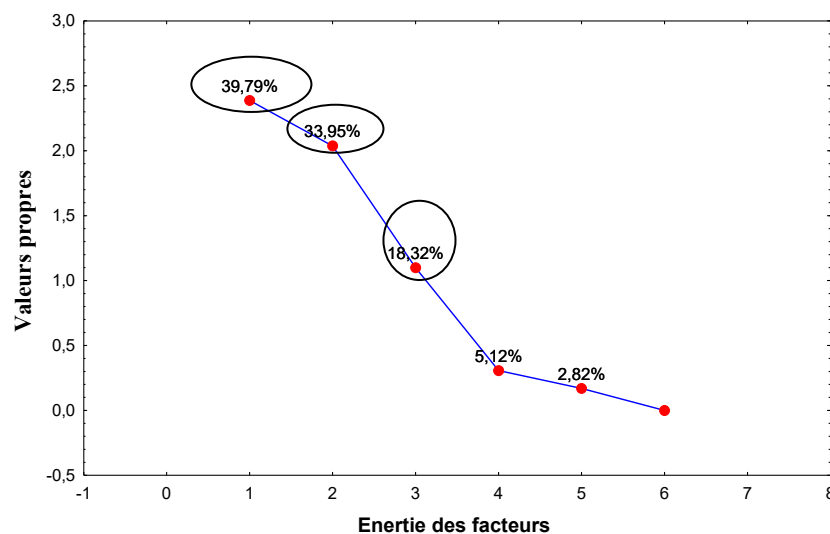


Figure 3.7. Décomposition de l'inertie (valeur propre de la matrice des corrélations)

À noter que, les axes factoriels F1 et F2 sont les plus significatifs, ce qui traduit la grande valeur de la valeur propre (>2). La valeur propre du Facteur F3 est retenue, car elle est supérieure à la valeur 1. Par contre, les valeurs propres de F4 et F5 correspondent respectivement aux 0,307001 et 0,169052 sont à exclure car sont inférieures à la valeur 1.

Les valeurs propres, le pourcentage de variance et la variance cumulée pour chaque facteur sont reportés dans le **tableau 3.5** et qui montre que la somme des part d'information portée par les axes significatifs F1, F2, F3 expliquent environ 83,1511% d'information.

Tableau 3.5. Part d'information portée par les axes factoriels

	valeur propre	Variance totale (%)	Valeur propre cumulé	Cumulé (%)
F1	2,387572	39,79287	2,387572	39,7929
F2	2,037059	33,95098	4,42463	73,7438
F3	1,099317	18,32194	5,523947	92,0658
F4	0,307001	5,11668	5,830948	97,1825
F5	0,169052	2,81753	6,000000	100,0000

La valeur cumulée en (%) des axes factoriels se calcul par la formule 3.1.

$$\sum_{j=1}^i f_j = f_1 + f_2 + \dots + f_i \dots \dots \dots (3.1)$$

3.2.5. Interprétation de l'ACP en 3 dimensions

La **figure 3.8** donne une représentation de l'analyse en composantes principales ACP en trois dimensions (3D) sur les axes (x, y, z) et qui représentent respectivement (la température de conservation T°C, la concentration finale [C]mg/ml_{J6}, Pourcentage de dégradation P_{dég.}(%)). Ces variables sont considérées comme des variables significatives sur la dégradation de la suspension buvable d'amoxicilline.

L'essai ou le point N°7 correspond à la coordonnées (5°C, 285,05mg/5ml, 2,85%) (voir tableau 3.3). Ce point signifie que l'essai 7 donne un taux de dégradation $P_{\text{dég.}}(\%)$ minimal égal à 2,85%, avec une faible température de conservation égale à 5°C et une concentration finale très élevée aux alentours de 285,05mg/5ml après 6 jours de conservation. On peut dire que le point 7 représente les conditions opératoires optimales de la préparation de la suspension buvable d'amoxicilline, d'où une meilleure stabilité.

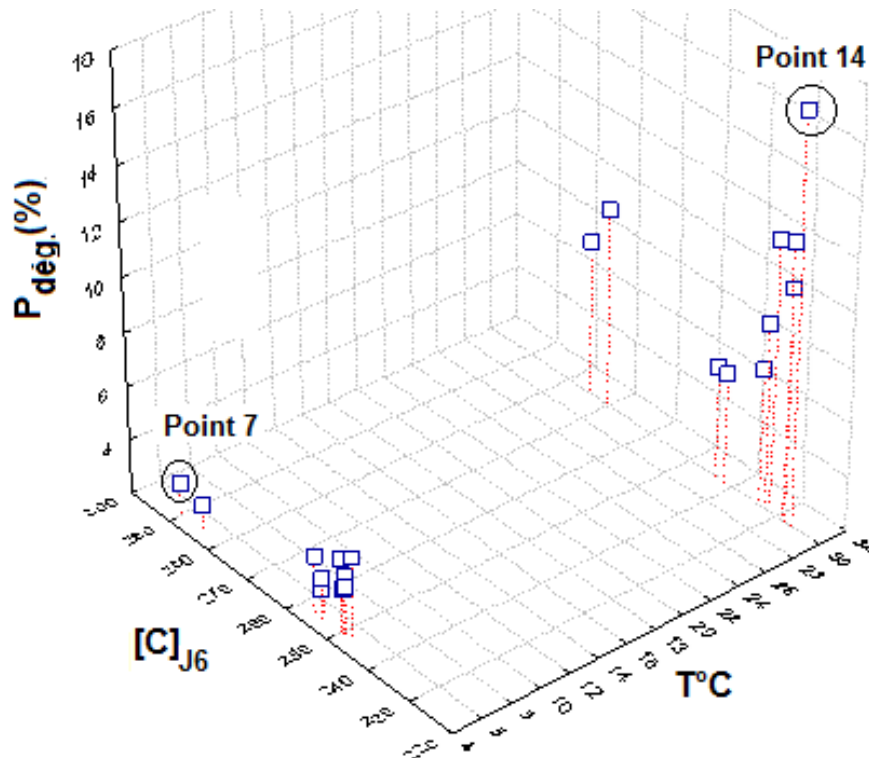


Figure 3.8. Représentation graphique en 3D des variables (T°C, [C]_{J6}, P_{dég.}(%))

Par contre, l'expérience ou le point 14 est caractérisé par la coordonnée (30°C ; 226,35mg/5ml ; 17,01%) donne un taux de dégradation maximal égale à 17,01% avec une température de conservation 30°C et une concentration finale de 226,35mg/5ml. On peut dire que plus la durée de conservation est longue (6 jours), la concentration en principe actif diminue quand la température de conservation est élevée ce qui traduit l'augmentation du taux de la dégradation $P_{\text{dég.}}(\%)$. De plus, le point 14 représente les conditions opératoires défavorisées mais acceptables (restent dans les normes européenne) de la préparation de la suspension buvable d'amoxicilline.

3.2.7. Boite à moustaches

Le **tableau 3.6** donne les valeurs du taux de dégradation $P_{\text{dég.}}(\%)$ par ordre croissant (A) afin de calculer les bords de la boite à moustaches et les valeurs de la matrice de valeurs de taux de dégradation $P_{\text{dég.}}(\%)$ (B).

Tableau 3.6. Valeurs de taux de dégradation $P_{\text{dég.}}(\%)$

A		B	
Ordre croissant des valeurs de $P_{\text{dég.}}(\%)$		Matrice de valeurs de $P_{\text{dég.}}(\%)$	
Essais	$P_{\text{dég.}}(\%)$	Essais	$P_{\text{dég.}}(\%)$
7	2,85	1	04,70
4	3,07	2	03,13
2	3,13	3	04,12
10	3,5	4	03,07
8	3,65	5	05,05
9	3,76	6	04,14
3	4,12	7	02,85
6	4,14	8	03,65
1	4,7	9	03,76
5	5,05	10	03,50
20	6,07	11	12,02
15	6,13	12	09,32
18	7,1	13	10,60
17	7,81	14	17,01
19	8,85	15	06,13
12	9,32	16	12,27
13	10,6	17	07,81
11	12,02	18	07,10
16	12,27	19	08,85
14	17,01	20	06,07

3.2.7.1. Représentation graphique de la boîte à moustaches

Le graphique de la boîte à moustaches (**Fig.3.9**) est donné par le logiciel Statistica. Il permet de résumer la variable de réponse $P_{\text{dég.}}(\%)$ de manière simple et visuel, ainsi que d'identifier les valeurs de la boîte à moustaches et de comprendre la répartition des points (essais) des valeurs du taux de dégradation $P_{\text{dég.}}(\%)$. Les résultats donnés par la boîte à moustaches sont :

- La valeur centrale du graphique représentée par (\square) est dite « la médiane (Q2)» située à l'intérieur de la boîte rectangulaire mais sans être au milieu. La médiane est égale à 5,56. C'est la moyenne des valeurs des essais ; on peut dire qu'il existe autant de valeurs supérieures et inférieures à cette valeur (les valeurs des essais sont dites *Raw Data* sur la **figure 3.9** et sont représentées par le symbole (Δ))
- Les bords sont représentés par le symbole ($\overline{-}$) indiquent respectivement, le min. et le max. des valeurs observées du taux de dégradation $P_{\text{dég.}}(\%)$ et qui correspondent respectivement à 2,85 et 17,01%.
- Les quartiles Q1 et Q3 caractérisent 25 et 75% de population et vaut respectivement 3,705 et 9,085. Ces quartiles existent sur les bords de la boîte rectangulaire représentée par le rectangle (\square). Par conséquent, 50% des valeurs observées sont concentrées à l'intérieur de la boîte à moustaches (Q2).

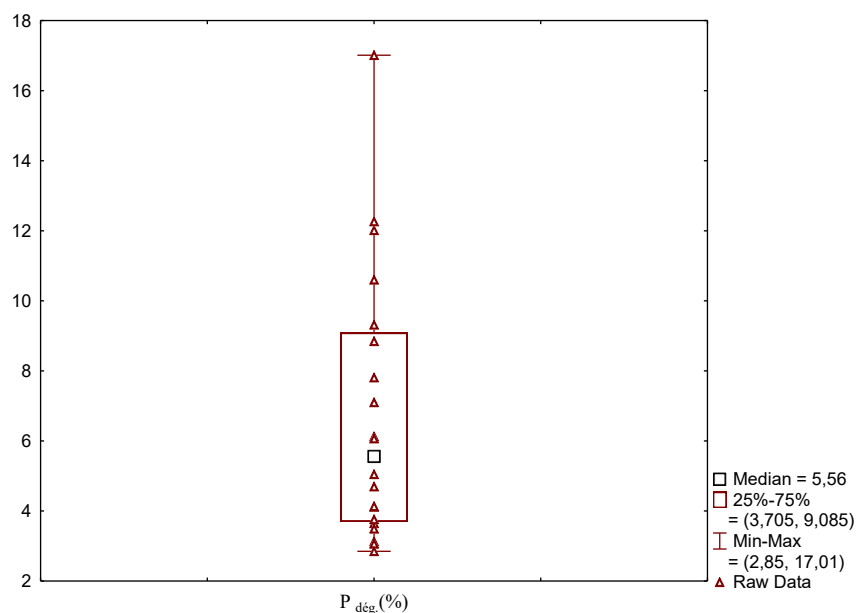


Figure 3.9. Représentation graphique des données de la boîte à moustaches par le logiciel Statistica
 (\square = Médiane, \square = Quartiles (25% et 75%), $\overline{-}$ = Valeurs min et max, Δ = Raw Data (données brutes))

3.2.7.2. Résultat donné par la boîte à moustaches

Afin d'interpréter la boîte à moustaches donné par le logiciel Statistica plusieurs calculs ont été effectués à savoir :

La médiane

La médiane sépare une série statistique en deux groupes de même effectif, l'un contient les valeurs les plus petites et l'autre les valeurs les plus grandes. La médiane d'une série de N (effectif totale) valeurs est déterminée comme suit :

Si N est impair

($N=2n+1$) : la médiane est la donnée de rang (n+1)

Si N est pair (notre cas)

($N=2n$) : la médiane est la demi somme de rang n et de rang (n+1).

Pour cela :

- on vérifie que les valeurs observées sont rangées par ordre croissant
- on prend la moyenne des deux valeurs situées au milieu puis on calcul l'entier

$$n = \frac{N}{2}$$

- $N= 2n$, la médiane est la demi-somme des données de rang n et de rang (n+1) et donc, on calcul la moyenne entre la valeur $n^{\text{ième}}$ et la valeur $(n+1)^{\text{ème}}$.

Application numérique

N(effectif)= 20 valeurs, donc le nombre est pair. Le calcul de la médiane se fait par la loi précédente

$$\text{Médiane} = \frac{5,05 + 6,07}{2}$$

Médiane=5,56

La médiane partage la série en deux groupes égaux.

La demi somme $\frac{20}{2} = 10$,

Les deux valeurs du milieu sont la 10^{ème} et la 11^{ème} qui sont respectivement 5,05 et 6,07 ;

La médiane est la moyenne entre la 10^{ème} et la 11^{ème} valeur de la série rangée dans l'ordre croissant.

$$\text{Médiane} = \frac{5,05 + 6,07}{2}$$

Médiane = 5,56

Le premier quartile Q1 et le troisième quartile Q3

Les quartiles permettent de séparer une série statistique en quatre groupes de même effectif (à une unité près)

Un quart des valeurs sont inférieurs au premier quartile Q1

On vérifié d'abord que les valeurs sont rangées par ordre croissant puis on calcul Q1

Q1 est la n^{ème} valeurs où $n = \frac{N}{4}$, $n = \frac{20}{4}$ n = 5

donc Q1=la 5^{ème} valeurs de la série rangée dans l'ordre croissant donc, Q1=3,65

Q1=3,65

Un quart des valeurs sont supérieurs au troisième quartile Q3

Q3 est la n^{ème} valeurs ou l'entier

$$n' = \frac{3}{4} \text{ de } N = \frac{3}{4} \times N = \frac{3 \times N}{4}$$

$$n' = \frac{3 \times 20}{4}$$

$$n' = 15$$

donc Q3= la 15^{ème} valeurs de la série rangée dans l'ordre croissant, donc Q3= 8,85

Q3=8,85

L'étendue de la série

L'étendue (e) est la différence entre la plus grande et la plus petite des données de la série.

Où :

La plus grande donnée (la valeur maximale) = 17,01

La plus petite donnée (la valeur minimale) = 02,85

e = la valeur maximale – la valeur minimale

$$e = 17,01 - 02,85$$

$e = 14,16$

L'écart interquartile

L'écart interquartile est la différence entre les quartiles et qui est égal à $Q_3 - Q_1$

$$Q_3 - Q_1 = 8,85 - 3,65$$

$$Q_3 - Q_1 = 5,20$$

Écart interquartile = 5,20

L'écart type des deux écarts interquartiles (calculé et celui donné par le logiciel) est égal à 0,18. Cette valeur est inférieure à 1 donc l'erreur est minime ($e < 1$). On peut dire que ces erreurs peuvent être dues lors de la manipulation dans le laboratoire (facteurs humains).

Calcul des écarts interquartiles $\Delta Q1$ et $\Delta Q3$

Calcul de $\Delta Q1$

$\Delta Q1$ est l'erreur commise sur la valeur de $Q1$ donné par le logiciel Statistica $Q1_{\text{stat.}}$ et le calcul manuel $Q1_{\text{calcul}}$.

$$\Delta Q1 = Q1_{\text{stat.}} - Q1_{\text{calcul}}$$

$$\Delta Q_1 = 3,705 - 3,650$$

$$\Delta Q_1 = 0,055$$

$$\Delta Q_1 = 0,055$$

Calcul de $\Delta Q3$

$\Delta Q3$ est l'erreur commise sur la valeur de $Q3$ donné par le logiciel Statistica $Q3_{\text{stat.}}$ et le calcul manuel $Q3_{\text{calcul}}$.

$$\Delta Q3 = Q3_{\text{stat.}} - Q3_{\text{calcul}}$$

$$\Delta Q_3 = 9,085 - 8,850$$

$$\Delta Q_3 = 0,235$$

$$\Delta Q_3 = 0,235$$

Le **tableau 3.7** donne la comparaison entre les valeurs caractéristiques et les quartiles calculés manuellement et ceux donnés par le logiciel Statistica de la boîte à moustaches sur la variable $P_{\text{dég.}}$ (%)

Tableau 3.7. Comparaison entre les valeurs caractéristiques et les quartiles calculés manuellement et ceux donnés par le logiciel Statistica de la boîte à moustaches sur la variable $P_{\text{dég.}}$ (%)

	Calcul mathématique	Donné par le logiciel Statistica	Écart-type
Médiane (50%)	05,560	05,560	0
Q1 (25%)	03,650	03,705	$\Delta Q1 = 0,055$
Q3 (75%)	08,850	09,085	$\Delta Q3 = 0,235$
Étendu (e) $e = (\text{max} - \text{min})$	14,160	14,160	0
Écart interquartile (Q3- Q1)	05,200	05,380	$(Q3- Q1)= 0,180$
Valeur minimale (min.)	02,850	02,850	0
Valeur maximale (max.)	17,010	17,010	0

La représentation graphique (**Fig.3.10**) de la boîte à moustaches de la réponse $P_{\text{dég.}}$ (%) illustre un schéma récapitulatif détaillé des valeurs de quartiles (Q1, Q2 et Q3), l'écart interquartile, l'étendue, les 2 moustaches (inférieure et supérieure), la valeur minimale et maximale de $P_{\text{dég.}}$ (%).

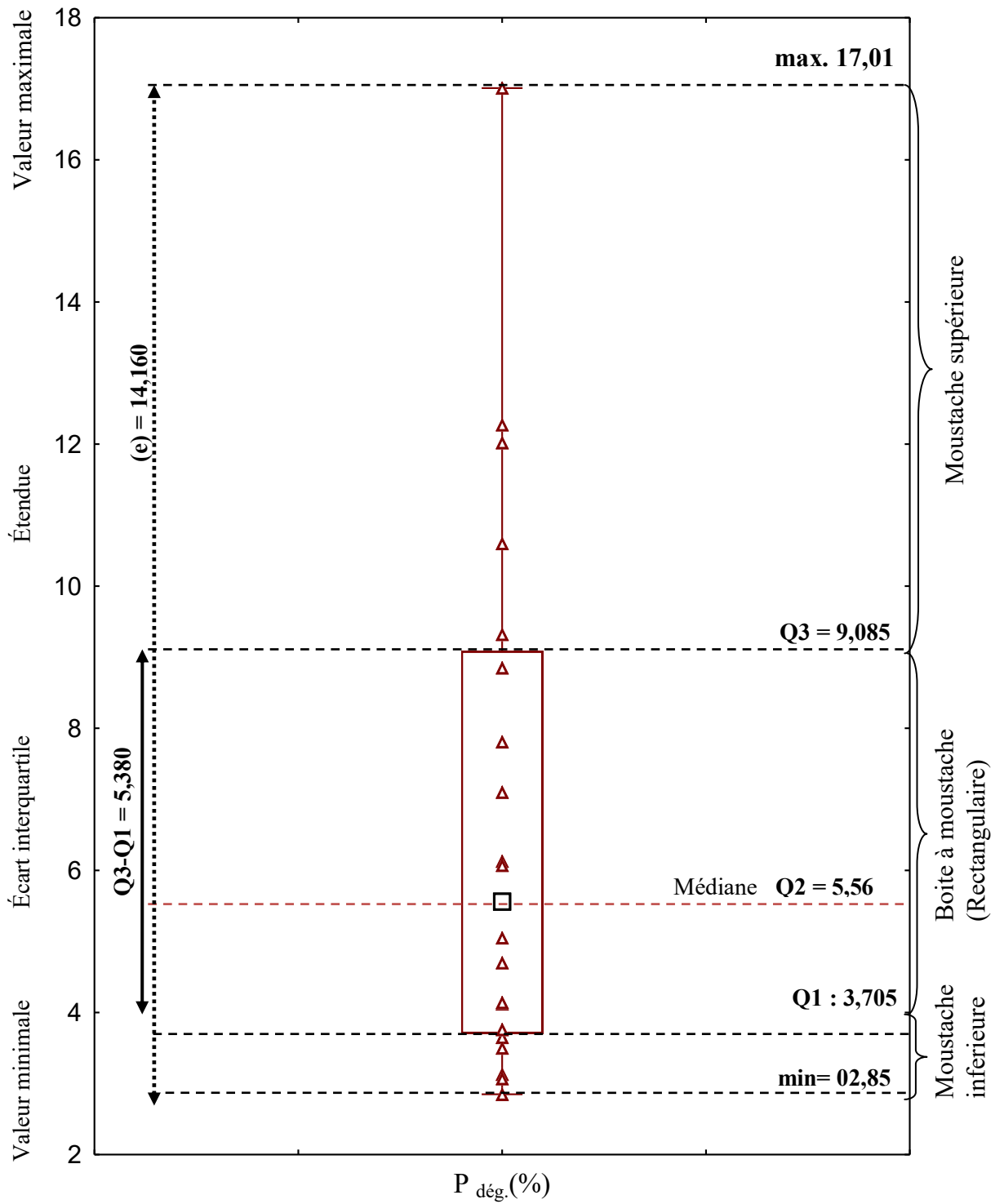


Figure 3.10. Représentation graphique de la boîte à moustache de la réponse $P_{\text{dég.}}(\%)$

3.2.9. Interprétation de la boîte à moustaches

La représentation graphique (**Fig.3.10**) illustre toutes les valeurs caractérisant la boîte à moustaches sur la variable $P_{\text{dég.}}(\%)$. La variable ou la réponse $P_{\text{dég.}}(\%)$ correspond au pourcentage de dégradation de 20 expériences ou essais (effectif $N=20$). Le type de répartition de la variable $P_{\text{dég.}}(\%)$, nous permet d'avoir un accès facile, lisible et compréhensible par une échelle verticale, de certains nombres d'informations de la série statistique de la boîte à moustaches étudiée et qui sont :

- l'extrémité basse de la boîte à moustaches donne la valeur minimale de la variable $P_{\text{dég.}}(\%)$ égale à 2,85 (min.). Par contre, l'extrémité haute indique la valeur maximale de la variable $P_{\text{dég.}}(\%)$ (max= 17,01). Par conséquent, l'étendu (e) est égal à 14,16% sachant que l'étendue (e) est la différence entre la plus grande et la petite valeur de la variable $P_{\text{dég.}}(\%)$.
- cette représentation est accompagnée d'une boîte rectangulaire et deux moustaches (inférieure et supérieure). Le bord bas de la boîte donne la valeur du premier quartile $Q1$ ($Q1= 3,705$) et le bord haut indique la valeur du troisième quartile $Q3$ ($Q3= 9,085$).
- la valeur de la médiane ($Q2$) partage l'effectif N en deux parties égales 05,560. Cette valeur est dite la médiane de pourcentage de dégradation des échantillons $P_{\text{dég.}}(\%)$, ce qui veut dire qu'il y a autant d'essais de part et d'autre de la médiane, donc, 50% d'échantillons sont situés dans la partie inférieure de la boîte à moustaches et 50% dans la partie supérieure. La partie inférieure nous révèle aussi une idée sur la dispersion des valeurs de la variable $P_{\text{dég.}}(\%)$ autour de la médiane $Q2$.

Notons que la médiane se situe obligatoirement à l'intérieur de la boîte rectangulaire mais n'est pas forcément au milieu. La largeur de la boîte à moustaches n'apporte aucune information, et donc aucune importance.

- la moustache supérieure de la boîte à moustaches se situe entre la valeur de $Q3$ et la valeur max [$Q3$ -max]. Par contre, le domaine [$Q2$ - $Q3$] correspond aux valeurs de $P_{\text{dég.}}(\%)$ situé entre la médiane ($Q2$) et le troisième quartile $Q3$. Ce qui traduit donc

que 50% d'échantillons sont situés dans la partie supérieure de la boîte à moustaches. Par conséquent, on peut déduire que dans le domaine [Q3-max] et [Q2-Q3] qui sont estimés à [09,085-17,01] et [05,560-09,085] respectivement y a autant de nombre d'essais (d'échantillons).

- Cette figure est aussi constituée de deux moustaches, la moustache inférieure correspond à l'intervalle de valeurs de pourcentage de dégradation $P_{\text{dég.}}(\%)$, très faible [min-Q1], qui correspond au domaine [02,85-3,705]. Ces faibles valeurs de $P_{\text{dég.}}(\%)$ sont considérées comme des valeurs adéquates et significatives pour la reconstitution de la suspension buvable du médicament avec des conditions opératoires favorables mais difficilement concevables pour une longue durée de conservation.
- la moustache supérieure se situe dans l'intervalle [Q3-max] et qui correspond à [9,085-17,01]. Ces grandes valeurs de $P_{\text{dég.}}(\%)$ sont considérées comme des valeurs non appropriées, moins significatives mais acceptables pour la reconstitution de la suspension buvable avec des conditions opératoires facilement réalisables. Ce qui signifie que les valeurs très élevés de $P_{\text{dég.}}(\%)$ sont moins significatives et peu intéressantes car les conditions opératoires favorisent la rapidité de la dégradations du médicament. Par conséquent, on peut dire que la vitesse de dégradation dépend de la concentration en principe actif, de la densité de la lumière et de la durée d'exposition à des grandes températures.
- le nombre d'échantillons (essais) entre la moustache inférieure (min.) et le Q1 est égal aux nombre échantillons qu'il y a entre le Q1 et la médiane Q2. De plus, les valeurs comprises entre la moustache inférieure et la médiane [Q1-Q2] correspondent aux échantillons les plus important et qui ont des valeurs moins que 05,560% de $P_{\text{dég.}}(\%)$, donc, on peut conclure qu'il y a 50% d'échantillons qui ont moins de 05,560% de pourcentage de dégradation $P_{\text{dég.}}(\%)$. Par contre, les valeurs situées entre la médiane et la moustache supérieure [Q2-Q3] correspondent aux échantillons qui ont un pourcentage de dégradation supérieur à 05,56%, donc on conclut qu'il y 50% d'échantillons qui ont plus de 5,56% de $P_{\text{dég.}}(\%)$.

- les valeurs comprises entre la moustache inférieure et la médiane [Q1-Q2] correspondent aux échantillons les plus importants et qui ont des valeurs moins que 05,560% de $P_{dég.}(\%)$, et sont dans les normes spécifiées de la pharmacopée américaine (USP 31,2008) et par conséquent, ces valeurs sont les plus appropriées sans être très favorables.
- les valeurs adjacentes ne sont pas enregistrées dans notre cas, ces dernières, délimitent les longueurs des moustaches, ce qui prouve que notre résultat adopte un modèle parfait, notamment, une bonne représentation de la boîte à moustaches. Par contre, dans le cas de l'existence de ces valeurs, il sera donc nécessaire de visualiser cette variable dans un autre plan où sera mieux représentée.

Conclusion Générale

Dans ce travail, les résultats expérimentaux de l'étude de la stabilité physico-chimique d'une suspension buvable d'amoxicilline commercialisé (antibiotique) en Algérie c.-à-d. son utilisation en cours de traitement sous forme de poudre, ont été réalisés dans des conditions opératoires bien définis. De plus, les résultats antérieurs et expérimentaux réalisés par YAO J.S.N.T et al. ont été bien présentés et interprétés par un outil statistique à savoir : l'analyse en composantes principales ACP et la boîte à moustaches.

L'analyse expérimentale a été effectuée sur des suspensions reconstituées en utilisant une eau minérale à deux températures de conservation (température ambiante et température réfrigérée) sur 7 jours et ce afin d'apprécier la durée d'utilisation dans des conditions de conservation ou d'entreposage. Parmi les cinq marques commerciales analysées, une non-conformité a été notée.

Par ailleurs, la teneur en amoxicilline a été évaluée sur sept jours d'utilisation après reconstitution et qui a montré que, quelle que soit la température de conservation, cette teneur reste maintenue dans les normes. Les formes reconstituées conservées au réfrigérateur ont montré une meilleure stabilité de la teneur que celles conservées à température ambiante quelle que soit l'eau utilisée. L'eau de robinet-refroidi et l'eau minérale naturelle peuvent donc être conseillées pour la reconstitution des poudres de la suspension buvable à base d'amoxicilline.

De plus, les résultats expérimentaux au sein du laboratoire effectués sur les lots commerciaux d'amoxicilline poudre pour la suspension buvable 250mg/5ml, ont démontré qu'ils sont conforme aux exigences établies. Ce qui signifie que 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».

La sédimentation forcée de ces suspensions préparées nous a permis d'observer en haut des tubes à essais une croûte qui restera collée et ne se remettra jamais en suspension, ce qui implique qu'une partie de la dose du médicament est perdue.

Les résultats statistiques de l'analyse en composantes principales ACP ont montré que :

- Les variables telle que : la température de conservation $T^{\circ}\text{C}$, la concentration finale $[C]_{J6}$, et le pourcentage de dégradation $P_{\text{dég.}(\%)}$ sont des variables significatives sur la stabilité de la suspension buvable. La forte corrélation positive entre la température de conservation $T^{\circ}\text{C}$ et le taux de dégradation $P_{\text{dég.}(\%)}$ est très clair et lisible avec une corrélation négative de la concentration finale. Ce qui nous confirme que plus la température de conservation du médicament, est élevée la valeur de $P_{\text{dég.}(\%)}$ est grande ; cela va engendrer une dégradation de l'antibiotique par une diminution de sa concentration finale au cours du temps de conservation. Donc, on peut dire que la température de conservation joue un rôle très important sur la stabilité de la suspension buvable.
- Par ailleurs, l'eau de robinet est négativement corrélée avec l'eau minérale ce qui signifie que les poudres pharmaceutiques sont reconstituées soit par une eau minérale ou bien l'eau de robinet bouillie et refroidit mais pas le mélange des deux. À noter que, l'eau de robinet bouillie et refroidie est conseillée sans être favorisé.
- les conditions opératoires de l'essai 7 sont les conditions optimales très favorables pour la reconstitution de la suspension et qui reste stable pendant une durée moyenne du traitement allant de 6 jours. Donc, la meilleure stabilité et les conditions opératoires optimales de la préparation de la suspension buvable d'amoxicilline sont :
Eau de reconstitution = eau de robinet bouillie et refroidi ;
Température de conservation = $T=5^{\circ}\text{C}$;
Taux de dégradation ($P_{\text{dég.}}$) = 2,85%.

Les résultats de la représentation graphique de la boîte à moustaches ont montré que :

- l'extrémité haute et l'extrémité basse nous informent sur la valeur maximale et minimale de la valeur de la variable $P_{\text{dég.}(\%)}$ étudiée. Ce résultat est en accord avec le résultat donné par l'analyse en composantes principales ACP en 3 dimensions à savoir l'essai 7 ($P_{\text{dég.}}=2,85\%$) et l'essai 14 ($P_{\text{dég.}}=17,01\%$).

- la moustache inférieure se situe dans l'intervalle [min-Q1] et qui correspond à la valeur de $P_{\text{dég.}}(\%)$ [0,85-3,705]. Ces faibles valeurs sont adéquates et significatives pour la reconstitution de la suspension buvable du médicament avec des conditions opératoires favorables mais difficilement concevables pour une longue durée de conservation.
- Par contre, la moustache supérieure se situe dans l'intervalle [Q3-max] avec des valeurs de $P_{\text{dég.}}(\%)$ allant de 9,085 à 17,01%. Ces grandes valeurs de $P_{\text{dég.}}(\%)$ sont considérées comme des valeurs moins significatives donc peu intéressantes. Par conséquent, on peut dire que la vitesse de dégradation dépend de la concentration en principe actif, de la densité de la lumière et de la durée d'exposition à des grandes températures.
- la valeur centrale de la boîte est la médiane (Q2), les valeurs comprises entre la moustache inférieure et la médiane [Q1-Q2] correspondent aux échantillons les plus importants et qui ont des valeurs moins que 05,560% de $P_{\text{dég.}}(\%)$, et sont dans les normes spécifiées de la pharmacopée américaine (USP 31,2008) et par conséquent, les valeurs du taux de dégradation le plus approprié sans être très favorables.
- les valeurs adjacentes ne sont pas enregistrées dans notre cas, ces dernières, délimitent les longueurs des moustaches, ce qui prouve que notre résultat adopte un modèle parfait notamment, une bonne représentation de la boîte à moustaches. Par contre, dans le cas de l'existence de ces valeurs, il sera donc nécessaire de visualiser la variable dans un autre plan où elle sera mieux représentée.

En perspectives

- Réaliser des tests de stabilité chimique par HPLC ;
- Préparation des poudres d'amoxicilline trihydraté 250mg/5ml ;
- Proposer un plan d'expériences de la matrice Hadamard afin d'interpréter de mieux les facteurs significatifs.

Références Bibliographiques

A

- ABBOU S. 2016. Etude de Stabilité et Contrôle Qualité sur Augmentin PPSB 60 ml. Mémoire de Master : Pharmacologie Moléculaire : Université Abderrahmane Mira de Bejaïa.
- ADDOTEY J.N.A., AWUDZI L.Y., ADOSRAKU R.K. 2014. Stability Studies on Reconstituted Amoxicillin-Clavulanic Acid Oral Powder by HPLC Method Development and Quantification, International Journal of Pharmaceutical Science and Practice. 3, 1, 1-12.
- AIACHE J-M., BEYSSAC E., CARDOT J-M., HOFFART V., RENOUX R. 2001. Initiation à la connaissance du médicament. Paris : Masson. 337.
- ALPHONSE M., JOSE D., ALAIN B. 2008. Cours de microbiologie générale. 2^{ème} éd. Paris : Doin 248.
- ALZOMOR AK., NOMAN NM., ALFARZAI SA. 2016. Stability study for three brands co-amoxiclav oral suspension (312,5/5ml) after reconstitution at refrigerator (2-8°C). European J. Biomed. Pharm. Sci.,3. 6, 203-209.

B

- BAAZIZ B. 2017. Traitement de la pollution organique sur des absorbants magnétiques. Thèse de Doctorat : génie de l'environnement : Département de Génie de l'Environnement, ENP.
- BACCINI A. 2010. Statistique Descriptive Multidimensionnelle. Publication de l'Institut de Mathématiques de Toulouse : UMR CNRS 5219.
- BRYSKIER A. 1999. Antibiotiques agents anti bactériens et Antifongiques. Paris : Ellipses.

C

- CABANE B. 2003. Formulation des dispersions, technique de l'ingénieur, Génie de la formulation, J2 185-1.
- CASIN P. 1999. Analyse des données et des panels de données. Ed. DeBoeck: Université. perspectives marketing.
- CAVALLO D.J., FABRE R., JEHL F., Rapp C., GARRABE E. 2004. EMC Maladies infectieuses, 1, 3, 129-202.
- CHAVASS D., KOLWICZ C., SMITH B. 2001. Liens d'accès. Médicaments Essentiels : le Point, 27, 30, 1-27.

D

- Dictionnaire des médicaments SAIDAL. 2005.
- DINARY A. 2010. Études cinétique et mécanistique d'oxydation/minéralisation des antibiotiques sulfaméthoxazole (SMX), amoxicilline (AMX) et sulfachloropyridazine (SPC) en milieux aqueux par procédés électrochimiques d'oxydation avancée : mesure et suivi évolution de la toxicité lors du traitement. Thèse de Doctorat: Science et Techniques de l'Environnement : UNIVERSITE PARIS-EST.

E

- ETIENNE R.N, FAURE S. 2015. Du mécanisme d'action des médicaments à la thérapeutique. Paris: Masson. 334.

F

- FENELON J.P. 1981. Qu'est-ce que l'analyse des données?. Paris: Ed. Lefonen.

G

- GAUDY C., BUXERAUD J. 2005. Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Paris : Gregg Colin. p 269.
- GOUPY J., CREIGHTON L. 2006. Introduction aux plans d'expériences. 2^{ème} ed. Paris: DUNOD.
- GOUPY J. 2005. Pratiquer les plans d'expériences. Paris: DUNOD.
- 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 Bamako. Travail de diplôme en vue de l'obtention du diplôme doctorat, Médecine de pharmacie, Université de Bamako, p 45.

H

- HARRACHE Z., ATMANE G. 2017. Suivi de fabrication et étude comparative en contrôle qualité des comprimés d'un générique et d'un princeps de Sulfaméthoxazole/Triméthoprime 400mg /80mg. Mémoire de master. sciences et génie pharmaceutique : Université A. M. OULHADJ – Bouira.

K

- KARAM S. 2004. Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt. Thèse de Doctorat. Électronique des hautes fréquences et optoélectroniques : Université de Limoges.
- KAYE C.M., ALLEN A., PERRY S., MCDONAGH M., DAVY M., Storm K., BIRD N., DEWIT O. 2001. The clinical pharmacokinetics of a new pharmacokinetically enhanced formulation of Amoxicillin/clavulanate. *Clinical Therapeutics*, 23, 4, 578-584.
- KIASOS E., MYLONAKI S., MAKRIS P. D., KEFALAS P. 2009. Implementation of response surface methodology to optimise extraction of onion (*Allium cepa*) solid waste phenolics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10, 246-252.
- KATZUNG G., BERTRAM G. 2006. Pharmacologie fondamentale et clinique. Italie : Piccin. 1169.

L

- LAMOUDI Lydia. 2009. Optimisation d'un procédé de fabrication d'un médicament et contribution à la modélisation de sa diffusion. Mémoire de master, USTHB Alger
- LE GUEN M. 1999, Enseignement de la Statistique, Voir, Apprendre, Comprendre Autrement, *Courrier des Statistiques*, n°90, juin 1999, INSEE, 37-38.
- LE HIR A., CHAUMEIL J-C., BROSSARD D. 2009. Pharmacie galénique-Bonne pratique de fabrication de médicaments. 9^{ème} édition. ELSEVIER / MASSON. 160-163.
- LIEBERMAN H.A., RIEGER M.N., BANKER G.S. 1996. Tropical suspension in pharmaceutical dosage forms, dispersion systems. 2^{éd.} vol 1. New York : Dekker.
- LIU R. S., TANG Y. J. 2010. Tuber melanosporum fermentation medium optimization by PlackettBurman design coupled with Draper-Lin small composite design and desirability function. *Bioresource Technology*, 101, 3139-46.

M

- MADIGAN M., MARTINKO J. 2007. Biologie des microorganismes. 11^{ème} éd. Pearson. Paris. 702.
- MARKMAN BEO, KOSCHTSCHAK MRW, MEIHUEY EW, ROSA PCP. 2014. Evaluation of the quality and stability of amoxicillin oral suspension. *J. App. Pharm. Sci.*, 4 (07): 38-40.
- MEYER A., DEIANAL I., BERNARD A. 2008. Cours de microbiologie générale. 2^{ème} édition. Paris Doin. 248.

N

- NAIDOO KK., NOMPUKU P., MKALALI SN., SHABANGU K., NKABINDE L, SINGH V. 2006. Post-marketing stability surveillance : Amoxicillin. SA Fam Pract J, 48(6) : 14-14 .
- NWOKOYE P, OYETUNDE O, AKINLEYE M. 2012. Stability of reconstituted amoxicillin clavulanate potassium under simulated in-home storage conditions. J. App. Pharm. Sci., 02(01): 28-31.

O

- Organisation mondiale de la santé. 1998. Assurance de la qualité des produits pharmaceutiques : Recueil de directives et autres documents, Genève, 1. 278.

P

- PAOLOZI L., LIÉBART C-J., SANSONETTI P. 2015. Biologie des procaryotes et de leurs virus. Edition Dunod. Paris. p 450.
- PEREZ-LOZANO P, GARCIA-M, ORRIOLS A, MIÑARR M, TICÓ JR. 2006. Stability evaluation of amoxicillin in a solid premix veterinary formulation by monitoring the degradation products through a new HPLC analytical method. J. Pharm. Biomed. Anal., 42: 192-199.
- Pharmacopée européenne 8.0. 2008.
- Pharmacopée européenne 8.0. 2013. Monographies générales : Production des médicaments 2619. 811-813
- PIERI F., REZEPTRE A. 1991. Code des médicaments européens. Edition marketing. Paris. 236.
- Première S - Boîte à moustaches ou diagramme en boîte. [Consulté le13/11/2020]. file:///G:/1re_S_Diagramme_en_boite.pdf
- PRESCOTT M., WILLEY J., SHERWOOD L., WOOLVERTAN C. 2013. Microbiologie. 4ème édition. Bruxelles. 832.

R

- RAHAL K., KEZZAL K., ZERROUKI A. 1984. Les nouvelles molécules antibiotiques. Alger. 14-15-16.
- RUOTOLO L. A. M., GUBULIN J. C. 2005. A factorial-design study of the variables affecting the electrochemical reduction of Cr (VI) at polyaniline-modified electrodes. Chemical engineering journal, 110, 113-121.

S

- SADO G., SADO M. C. 2000. Les plans d'expériences : de l'expérimentation à l'assurance qualité, AFNOR.
- 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. p 165.
- SHEN Y., SMITH R-D. 2008. Electrophoresis, Hight Performance Liquid Chromatography. Canada : WILEY-INTERSCIENCE. 1104.
- SMAOUI S. 2010. Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat de génie des procédés et environnement. Université Toulouse. Institut national polytechnique.

T

- TINSSON W. 2010. Plans d'expérience : construction et analyses statistique. Mathématiques et Applications : springer.
- TRIBOULET P. 2008. notions de bases sur les plans d'expériences.

U

- United State Pharmacopeial Convention. 2008. The United States pharmacopeia: USP 31; The National formulary: NF 26, Rockville, Maryland.

W

- WALSH C. 2000. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. Nature. 775-781

Y

- YAHIAOUI I., AISSANI-BENISSAD F. 2010. Experimental design for copper cementation process in fixed bed reactor using two level factorial design. Arabian journal of chemistry. 10, 1016.
- YAO J-S-N-T., KPAIBE S-A-P., BONY N-F., SOKO Y-N., AKE M. 2019. Etude de stabilité chimique de suspensions buvables à base d'amoxicilline. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 13(3) :1837-1845.

Annexe

Les valeurs de la variable $P_{\text{dég.}}(\%)$ observées (expérimentales) et estimées (prévus) et les valeurs résiduel sont données dans ce tableau.

	Valeurs observées	Valeurs prévus	Valeurs résiduel
	$P_{\text{dég.}}(\%)$	$P_{\text{dég.}}(\%)$	$P_{\text{dég.}}(\%)$
1	4,70000	4,74211	-0,042113
2	3,13000	3,33421	-0,204212
3	4,12000	3,83917	0,280829
4	3,07000	3,05396	0,016044
5	5,05000	5,23575	-0,185753
6	4,14000	4,28672	-0,146725
7	2,85000	2,51027	0,339731
8	3,65000	3,86587	-0,215866
9	3,76000	3,74616	0,013835
10	3,50000	3,35577	0,144230
11	12,02000	11,76754	0,252458
12	9,32000	9,60248	-0,282477
13	10,60000	10,81972	-0,219723
14	17,01000	16,89167	0,118327
15	6,13000	5,86338	0,266621
16	12,27000	12,10836	0,161637
17	7,81000	7,79973	0,010273
18	7,10000	7,46700	-0,366999
19	8,85000	8,94667	-0,096667
20	6,07000	5,91345	0,156551

Le tableau donne le model générale de régression (Régression Polynomiale)

	Multiple R	Multiple R ²	Adjusted R ²	SS Model	df Model	MS Model	SS Residual	df Residual	MS Residual	F	p
P _{dég.} (%)	0,998528	0,997058	0,995700	282,3977	6	47,06628	0,833308	13	0,064101	734,2567	0,000000

Le tableau donne la valeur propre des vecteurs de la matrice de corrélation par rapport aux variables T°C, Eau Min., Eau Rob., [C]_{J1}, [C]_{J6}, P_{dég.}(%) de chaque facteur.

Tableau. Valeurs propres des vecteurs de la matrice de corrélation

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5
T°C	0,460023	-0,356660	0,312771	0,487887	0,570362
Eau Min.	0,403010	0,516344	-0,246488	0,065825	0,076697
Eau Rob.	-0,403010	-0,516344	0,246488	-0,065825	-0,076697
[C]_{J1}	0,177429	0,291381	0,779226	-0,522470	0,058715
[C]_{J6}	-0,357868	0,421565	0,401856	0,684419	-0,253567
1P_{dég.}(%)	0,551357	-0,277400	0,109450	0,109072	-0,771478



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Etude de stabilité chimique de suspensions buvables à base d'amoxicilline

Jean Simon N'Ghorand Thodhekes YAO^{1,2*}, Sawa André Philippe KPAIBE²,
Nicaise François BONY², Yves Niabith SOKO¹ et Michèle AKE^{1,2}

¹ Institut National de Santé Publique (INSP), BP V 47 Abidjan, Côte d'Ivoire.

² UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Felix Houphouët Boigny, BP V 34
Abidjan, Côte d'Ivoire.

*Auteur correspondant, E-mail: js_thodhekes@yahoo.fr; Tel: (+225) 07239272

RESUME

Les conditionnements multidoses tels les formes reconstituées posent, après ouverture un problème de conservation et de délai d'utilisation. La stabilité chimique portant sur la teneur en principe actif de la forme orale reconstituée d'amoxicilline dosée à 250mg/5ml a été étudiée sur une durée minimale de traitement de 6 jours consécutifs. Cinq spécialités ont servi à l'étude. Les échantillons ont été reconstitués avec deux qualités différentes d'eaux (eau minérale naturelle et eau de robinet bouillie et refroidie) et conservés à deux températures différentes (5 ± 3 °C et 30 ± 2 °C). La stabilité a été étudiée par chromatographie liquide suivie d'une détection UV à 230 nm. La teneur en amoxicilline dans tous les échantillons était conforme à la norme (225 mg à 300 mg/5 ml). La nature de l'eau utilisée n'a pas eu d'influence sur la stabilité. Les échantillons conservés à 30 ± 2 °C ont présenté un taux de dégradation en principe actif plus élevé (> 6%). Pour deux marques commerciales, une non-conformité portant sur le volume de reconstitution a été notée. La stabilité chimique des médicaments est donc maintenue sur les 6 jours d'utilisation. Ce type d'étude devrait être étendu aux médicaments sous forme de poudres à reconstituer vendus en Côte d'Ivoire.

© 2019 International Formulae Group. All rights reserved

Mots clés: Formes reconstituées, Délai d'utilisation, Chromatographie liquide.

Study of chemical stability of oral suspensions based on amoxicillin.

ABSTRACT

Multi-dose packaging such as reconstituted forms pose, after opening a conservation problem and time of use. The chemical stability of the active ingredient content of the reconstituted oral form of amoxicillin at 250 mg/5 ml was studied over a minimum treatment period of 6 consecutive days. Five specialties were used for the study. The samples were reconstituted with two different qualities of water (natural mineral water and tap water boiled and cooled) and stored at two different temperatures (5 ± 3 °C and 30 ± 2 °C). Stability was studied by liquid chromatography followed by UV detection at 230 nm. The amoxicillin content in all samples was consistent with the

standard (225 mg to 300 mg/5 ml). The nature of the water used did not affect the stability. Samples stored at 30 ± 2 °C showed a higher active ingredient degradation rate (> 6%). For two commercial brands, a nonconformity regarding the reconstitution volume was noted. The chemical stability of the drugs is maintained for 6 days of use. This type of study should be extended to drugs presented as powders to be reconstituted sold in Côte d'Ivoire.

© 2019 International Formulae Group. All rights reserved

Keywords: Reconstituted forms, Time of use, Liquid chromatography.

INTRODUCTION

Les antibiotiques à noyau bêta-lactame appartenant à la famille des pénicillines jouent depuis des décennies un rôle important en médecine humaine en raison de leur large spectre d'activité antimicrobienne, de leur bonne absorption et de leur grande pénétration dans les tissus (Kumar et al., 2014 ; Cha et al., 2004). Ils sont dès lors indiqués dans le traitement de nombreuses infections bactériennes sous diverses manifestations notamment bronchorespiratoires, ORL (oto-rhino-laryngologie), urogénitales, hépatobiliaires, rénales, gynécologiques, et également lors des septicémies, des méningites ou des endocardites (Vidal, 2010 ; Pilon, 2016). Dans l'arsenal thérapeutique de cette classe, l'amoxicilline est l'un des antibiotiques fréquemment utilisés en pédiatrie, dont les présentations sous forme de poudres reconstituées multidoses sont les plus adaptées aux enfants (Vidal, 2010 ; Jerzsele et Nagy, 2008).

Cependant, ce type de conditionnement peut poser après ouverture, un problème de conservation lié aux conditions favorables de dégradation rapide du principe actif (chaleur, humidité variable, intensité lumineuse) et au délai d'utilisation (Sabot et al., 2001). Dans cette classe des bêta-lactamines, l'amoxicilline, fréquemment prescrite chez les enfants, se dégrade facilement entraînant des risques de sous dosage, de formation de produits de dégradation etc. (Lahlou et al., 2009).

De nombreuses suspensions d'antibiotiques reconstituées doivent être conservées au réfrigérateur afin d'obtenir des avantages optimaux (Alzomor et al., 2016). Cependant, ces conditions de conservation ne sont souvent pas clairement spécifiées.

Il nous est donc paru opportun, dans la présente étude, d'évaluer la stabilité chimique de l'amoxicilline dans certaines formes reconstituées avec deux qualités d'eau (eau minérale, eau de robinet) puis conservées à deux températures (ambiante et réfrigéré). Un contrôle préalable du volume nécessaire à la reconstitution a été réalisé. Cette étude s'est déroulée sur une période de six (6) jours correspondant à la durée moyenne d'un traitement.

MATERIEL ET METHODES

Appareillage

Le dosage de l'amoxicilline s'est effectué sur un chromatographe liquide (Shimadzu, France) équipé d'une pompe (DGU-20A5), d'un système d'injection automatique (LC-20AT), d'un détecteur UV-Visible réglé à 230 nm (SPD 20 AT) et d'un enregistreur intégrateur (CTO-20A).

L'étude a nécessité également un agitateur magnétique (Vortex Génie II, USA) ; un pH mètre (Thermo-Orion, USA) ; une étuve (Jouan, USA) ; une balance de précision (Sartorius, Allemagne) et un dispositif de filtration sur Buchner pour le dégazage.

Réactifs et solutions de travail

- Les réactifs utilisés étaient de qualité analytique :

Acétonitrile pour chromatographie liquide (Scharlau, Espagne) ; Dihydrogénophosphate de potassium (Merck, Allemagne) ; Hydroxyde de potassium (Merck, Allemagne) et Eau. Le produit de référence était l'amoxicilline trihydratée (Sigma-Aldrich, Allemagne) de titre : 100,2% (858,7 µg/mg).

- Les solutions de travail préparées étaient:

- Solution tampon phosphate 0,02 M, pH 5 ;
- Solution d'hydroxyde de potassium (1%) ;
- Solution de référence d'amoxicilline à 0,2 mg/ml ;

Echantillonnage

L'échantillonnage a été constitué de cinq (5) marques commerciales de poudres pour suspensions buvables à base d'amoxicilline sélectionnées après une pré-enquête réalisée sur une période de 30 jours dans deux officines de pharmacie de la place. Les cinq marques commerciales les plus vendues ont été retenues.

Ces marques codifiées par les lettres A, B, C, D et E étaient dosées chacune à 250 mg d'amoxicilline pour 5 ml. Quatre (4) boîtes de chacune des cinq marques retenues ont été nécessaires pour l'analyse, soit un total de 20 échantillons.

Méthodologie

Chacun des échantillons a été reconstitué avec 2 différentes qualités d'eaux puis conservé à 2 températures différentes (5 ± 3 °C et 30 ± 2 °C). La stabilité a été étudiée en déterminant la teneur en amoxicilline pendant 6 jours consécutifs par chromatographie liquide en phase inverse après validation de la méthode d'analyse.

Le volume d'eau nécessaire pour la reconstitution a été évalué pour chaque marque commerciale.

Les pourcentages de dégradation ont été calculés après les 6 jours de reconstitution selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de dégradation} = \frac{\text{Teneur à J6 (mg / 5 ml)} - \text{Teneur à J1 (mg / 5 ml)}}{\text{Teneur à J6 (mg / 5 ml)}} \times 100 \quad (1)$$

Mode de reconstitution des suspensions

Deux qualités d'eaux ont été utilisées :

- Eau minérale naturelle (EMN) ;
- Eau de robinet bouillie et refroidie (ER).

Le volume d'eau utilisé était de 60 ml comme indiqué sur le conditionnement, correspondant ainsi à 12 doses de 5 ml de suspension selon le fabricant. Après

reconstitution, les flacons ont été vigoureusement agités.

Températures de conservation

Chaque suspension préparée à l'aide de l'une ou l'autre qualité d'eaux a été conservée à deux températures différentes:

- 5 ± 3 °C
- 30 ± 2 °C

Ces conditions représentent les conditions de stockage à domicile (Nwokoye, 2012).

Préparation de l'extrait à analyser

Un millilitre de la suspension reconstituée a été prélevé dans une fiole jaugée de 100 ml. La prise d'essai a été diluée dans 15 ml de tampon phosphate pH 5,0. La solution obtenue a été soumise à agitation mécanique vigoureuse pendant 10 min, puis complétée jusqu'au trait de jauge avec le tampon pH 5,0. La solution a été homogénéisée par agitation durant cinq minutes et filtrée. La solution obtenue a constitué l'extrait à analyser par chromatographie liquide (USP 31, 2008).

Conditions d'analyse chromatographique

Les conditions d'analyse retenues sont tirées des travaux de Perez - Lozan et al. (2006):

- Phase mobile : tampon phosphate 0,02 M pH 5 / acétonitrile (95/5, v/v) ;
- Phase stationnaire C18, 250 x 4,6 mm x 5 µm ;
- Débit à 0,8 ml/min ;
- Détection UV à 230 nm.

Analyses statistiques

Le traitement des données a été réalisé avec Excel 2013.

Les teneurs moyennes en amoxicilline ont été comparées en utilisant le test de Student.

Le test T de Student a été utilisé au seuil de signification de 5% pour la comparaison des échantillons aux différentes températures de conservation avec les différentes qualités d'eaux de reconstitution.

RESULTATS

Trois des cinq marques commerciales sélectionnées ont nécessité 60 ml d'eau pour leur reconstitution contre 42 ml d'eau pour les

deux autres. Les teneurs en amoxicilline des échantillons d'une même marque varient peu au cours du temps selon la qualité d'eau utilisée.

La teneur en amoxicilline des échantillons conservés à température ambiante et à température réfrigérée est présentée dans le Tableau 1.

Durant cette période minimale de traitement de 6 jours, il est à noter une diminution progressive de la teneur en amoxicilline qui reste dans l'intervalle de conformité, se situant entre 225 et 300 mg. Ce taux reste donc conforme aux normes (90 à 120%) (USP 31, 2008).

L'évolution au cours du temps de la quantité en amoxicilline dans les 5 marques commerciales après reconstitution pendant 6 jours est illustrée par les Figures 1 à 4.

La teneur en amoxicilline des différents échantillons reconstitués diminuent au cours du temps quelles que soient les conditions de traitement.

L'analyse révèle une diminution marquée de la teneur en amoxicilline dans les échantillons conservés à température ambiante comparativement à ceux conservés à 5 ± 3 °C (Figure 1, 2, 3, 4).

Après 6 jours de reconstitution, le taux de dégradation en amoxicilline était inférieur à 18% dans tous les échantillons. Ces résultats sont présentés dans le Tableau 1.

La teneur maximale en amoxicilline retrouvée est de 299,90 mg. Au sixième jour, les teneurs les plus faibles (226,35 mg ; 227,95 mg ; 228,15 mg) sont retrouvées dans le cas des échantillons conservés à température ambiante. Les différentes suspensions orales ne contiennent pas moins de 90% et pas plus de 120% de quantité en amoxicilline.

Le Tableau 2 révèle le niveau de significativité statistique en croissant les paramètres de conservation et de reconstitution.

Il n'y a pas de différence significative au seuil $p < 5\%$, concernant la qualité de l'eau entre les échantillons reconstitués avec l'eau minérale et ceux reconstitués avec l'eau de robinet. Il y a par contre une différence significative concernant le mode de conservation entre les échantillons conservés à température ambiante et ceux conservés au réfrigérateur au seuil $p < 5\%$ ($p = 0,227$ à 5 ± 3 °C et $p = 0,443$ à 30 ± 2 °C) (Tableau 2).

Tableau 1 : Evaluation des teneurs des échantillons d'amoxicilline suspension.

Température de conservation	Eau de reconstitution n	Spécialité	Concentration		Pourcentage de dégradation (%)
			J ₁ (mg/5 ml)	J ₆ (mg/5 ml)	
(5±3 °C) (Réfrigéré)	Eau minérale naturelle (EMN)	A	262,30±0,41	249,95±0,19	4,70
		B	299,90±0,63	290,50±0,51	3,13
		C	267,60±0,28	256,55±0,45	4,12
		D	262,85±0,46	254,75±0,02	3,07
		E	260,30±0,38	247,15±0,83	5,05
	Eau de robinet (ER)	A	259,85±0,26	249,10±0,08	4,14
		B	293,40±0,50	285,05±0,30	2,85
		C	259,00±0,52	249,55±0,47	3,65
		D	259,05±0,05	249,30±0,01	3,76
		E	263,85±0,03	254,60±0,67	3,50
Température ambiante (30±2 °C)	Eau minérale naturelle (EMN)	A	262,80±0,37	231,20±0,19	12,02
		B	298,50±0,09	270,70±0,28	9,32
		C	255,00±0,22	227,95±0,41	10,60
		D	272,75±0,25	226,35±0,17	17,01

	E	260,15±0,39	244,20±0,38	6,13
Eau de robinet (ER)	A	260,05±0,09	228,15±0,11	12,27
	B	297,90±0,57	274,65±0,26	7,81
	C	251,30±0,19	233,45±0,37	7,10
	D	255,35±0,34	232,75±0,06	8,85
	E	257,75±0,03	242,15±0,49	6,07

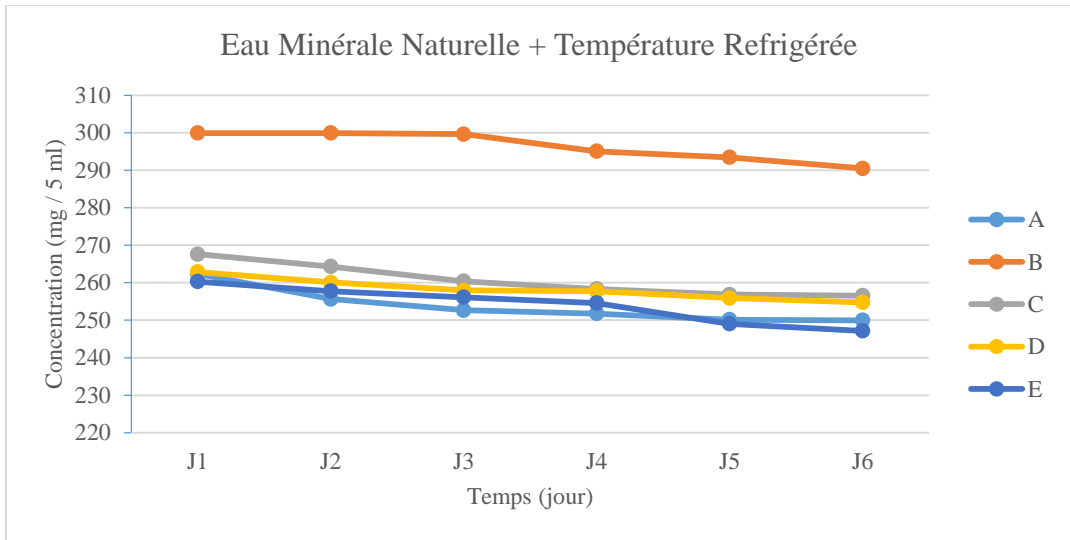


Figure 1: Courbes d'évolution des teneurs en amoxicilline des différents échantillons reconstitués avec de l'eau minérale naturelle et conservés à 5±3 °C.

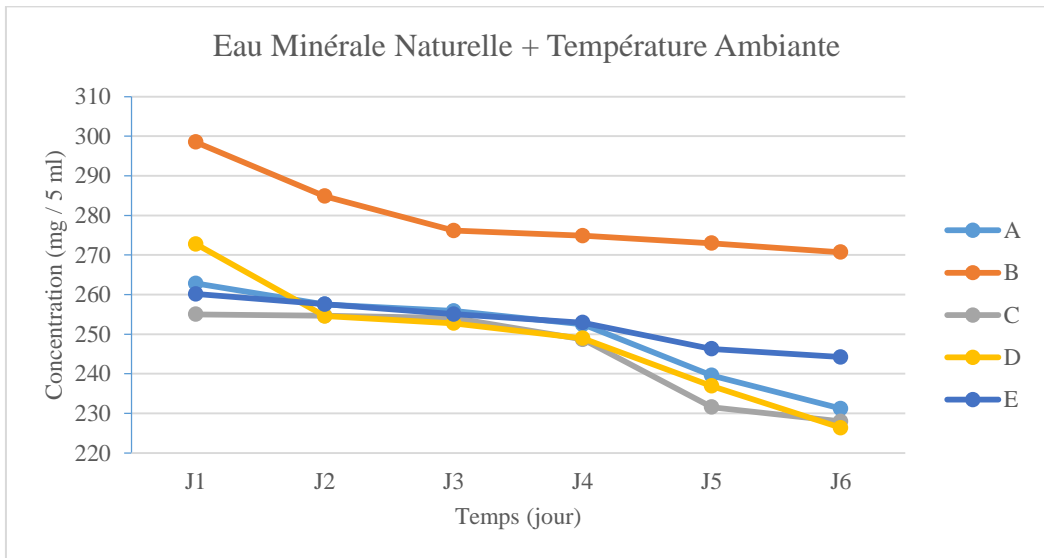


Figure 2: Courbes d'évolution des teneurs en amoxicilline des différents échantillons reconstitués avec de l'eau minérale naturelle et conservés à 30±2 °C.

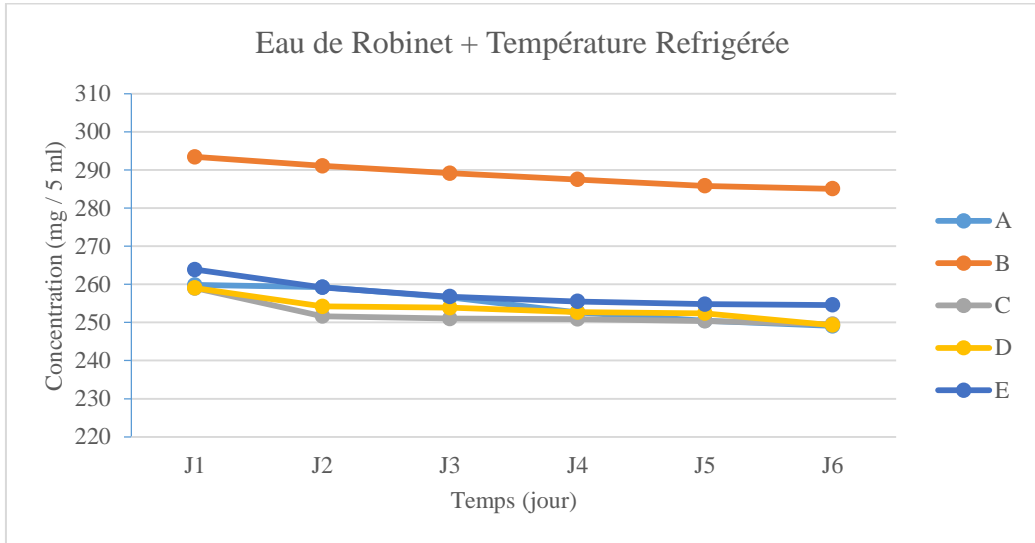


Figure 3 : Courbes d'évolution des teneurs en amoxicilline des différents échantillons reconstitués avec de l'eau de robinet et conservés à 5 ± 3 °C.

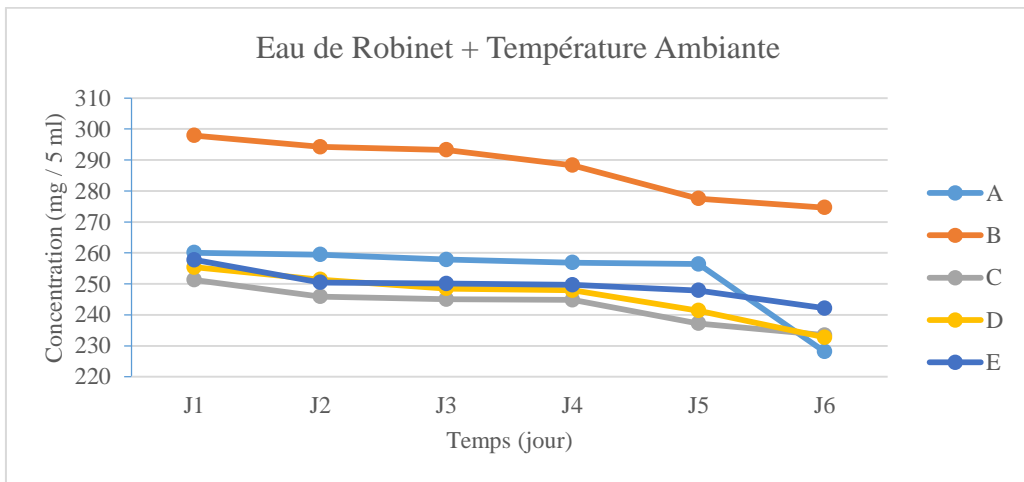


Figure 4 : Courbes d'évolution des teneurs en amoxicilline des différents échantillons reconstitués avec de l'eau de robinet et conservés à 30 ± 2 °C.

Tableau 2: Analyse statistique ; test échantillons appariés.

Paires (Température de conservation + Eau de reconstitution)	Test T (p)	Interprétation
$(5\pm 3$ °C + EMN [□]) - $(5\pm 3$ °C + ER ^{□□})	0,227	Non significatif
$(30\pm 2$ °C + EMN) - $(30\pm 2$ °C + ER)	0,443	Non significatif
$(5\pm 3$ °C + EMN) - $(30\pm 2$ °C + EMN)	0,044	Significatif
$(5\pm 3$ °C + ER) - $(30\pm 2$ °C + ER)	0,014	Significatif

□ : Eau minérale naturelle

□□ : Eau de robinet

DISCUSSION

Volume de reconstitution

La reconstitution des poudres pour suspension buvable d'amoxicilline nécessite un volume d'eau de 60 ml, confirmée par le trait de jauge indiqué sur le flacon.

Pour les échantillons A, D et E, les 60 ml d'eau utilisés pour la reconstitution correspondent effectivement au trait de jauge. Par contre, pour reconstituer les échantillons B et C, seulement 42 ml d'eau ont été nécessaires pour atteindre le niveau de jauge. Ces 42 ml d'eau correspondent à 8 doses de principe actif.

Dans ces deux derniers cas, il manque un volume de 18 ml de suspension pour assurer la totalité du traitement sur les six jours de traitement préconisés. Cette observation pourrait impliquer la nécessité d'achat de flacon(s) supplémentaire(s) pour couvrir la durée de la prescription entraînant ainsi une augmentation du coût de la prise en charge. Ces résultats sont en inadéquation avec les volumes indiqués dans les notices de forme orale reconstituée d'amoxicilline dosée à 250 mg/5ml (Vidal, 2010). Markman et al. (2014) dans ses travaux sur la qualité et la stabilité de suspension reconstituée d'amoxicilline dosé à 250 mg/5 ml n'a relevé aucune anomalie du volume de reconstitution sur les sept spécialités analysées.

Le trait de jauge n'indiquant pas le niveau correct de remplissage s'expliquerait par un défaut dans le processus de fabrication des flacons ou une fraude sur la quantité réelle de matière première. Cette fraude consisterait à réduire à la fois la quantité d'eau utilisée et la quantité de matière première afin d'obtenir après analyse de la forme à reconstituer, des concentrations en principe actif conformes à celle déclarée.

Selon Pinel (2014), les contrefaçons se retrouvent aussi bien dans le circuit formel qu'informel.

Stabilité du principe actif

La stabilité est définie comme la capacité d'une substance médicamenteuse ou médicament à rester dans les limites des spécifications établies pour maintenir son identité, sa qualité et pureté.

Elle détermine la teneur en substance médicamenteuse ou produit de dégradation

due à l'exposition à une variété de conditions telles que la température, l'humidité, la lumière et le matériau d'emballage sur une période définie (Alzomor et al., 2016).

La dégradation des suspensions peut résulter soit de la température ou de la qualité de l'eau utilisée pour la reconstitution, soit de conditions de stockage inappropriées (Nwokoye et al., 2012 ; Stanley et Igala, 2017).

Eaux utilisées pour la reconstitution

Il n'y a pas de différence significative entre les échantillons reconstitués avec l'eau minérale et ceux reconstitués avec l'eau de robinet au seuil de signification $p < 5\%$ (test T Student).

L'eau de robinet et l'eau minérale naturelle peuvent donc être conseillées pour la reconstitution des poudres pour suspension buvable à base d'amoxicilline.

Température de conservation

La teneur en amoxicilline des suspensions reconstituées conservées à température ambiante décroît plus vite que celle des échantillons conservés entre 5 ± 3 °C (Figure 1, 2) et (Figure 3, 4).

Le taux de dégradation d'amoxicilline en 6 jours pour les échantillons conservés au réfrigérateur reste inférieur ou égal à 5%, donc conforme aux normes spécifiées (norme $\leq 10\%$) (USP 31, 2008).

Les échantillons conservés à température ambiante ont au moins un taux de dégradation supérieur à 6% allant jusqu'à plus de 17% (Tableau 1). Alforjani et Kamour (2019) trouvent après 4 jours de reconstitution, un taux de dégradation en amoxicilline inférieure à 17%.

Ces variations de la teneur en amoxicilline observées restent dans l'intervalle exigé. Les échantillons stockés sous ces deux conditions de température restent stables tout au long de cette période.

Des facteurs humains et erreurs systémiques peuvent également influencer la stabilité du principe actif (Abbou, 2016).

Il existe une différence significative de teneur en amoxicilline lorsque l'on compare une même marque reconstituée avec la même qualité d'eau mais conservée à différentes températures ($p = 0,044$ quand l'eau utilisée est l'eau minérale et $p = 0,014$ avec l'eau de robinet) (Tableau 2). Les teneurs en

amoxicilline des différents échantillons restent malgré tout dans les normes spécifiées de la pharmacopée américaine (USP 31, 2008).

La conservation à température ambiante est un facteur de dégradation rapide de l'amoxicilline.

Traitement appliqué aux échantillons (eau de reconstitution et température de conservation)

L'amoxicilline conservé à une température comprise de 5 ± 3 °C reconstitués avec l'eau de robinet bouillie et refroidie présente une meilleure stabilité sur les 6 jours d'utilisation (Tableau 1). Ce constat se rapproche des travaux de Alzomor et al. (2016) qui trouvent l'amoxicilline stable durant 7 jours dans les échantillons contenant l'association amoxicilline et acide clavulanique, lorsqu'ils sont conservés à 5 ± 3 °C.

Naidoo et al. (2006) montrent qu'au 7^{ème} jour, plus de 11% de l'amoxicilline sont dégradés lorsque conservé à une température comprise entre 20°C et +25°C. Ce constat est en accord avec les variations de teneurs de certains échantillons de notre étude.

Selon Markman et al. (2014), 83% des formes orales d'amoxicilline étudiées ont un taux de dégradation inférieur à 10%. Ce constat se rapproche des observations de notre étude où 80% des échantillons analysés ont un taux de dégradation également inférieur à 10% (Markman et al., 2014).

Les suspensions conservées à température ambiante sont moins stables.

Conclusion

L'étude a permis d'évaluer la stabilité en cours d'utilisation des médicaments à base d'amoxicilline présentés sous forme de poudre pour suspension buvable commercialisés en Côte d'Ivoire. Cette étude a porté sur l'analyse des suspensions reconstituées avec deux qualités différentes d'eaux à deux températures de conservation (température ambiante et température réfrigérée) sur 6 jours. Elle a permis d'apprécier la durée d'utilisation dans des conditions de conservation ou d'entreposage. Parmi les cinq marques commerciales analysées, une non-conformité a été notée, portant sur le volume

de reconstitution pour deux marques commerciales. La teneur en amoxicilline a été évaluée sur six jours d'utilisation après reconstitution. Elle a montré que, quelle que soit la température de conservation, cette teneur reste maintenue dans les normes. Les formes reconstituées conservées au réfrigérateur ont montré une meilleure stabilité de la teneur que celles conservées à température ambiante quelle que soit l'eau utilisée. Ce type d'étude devrait être étendu à l'ensemble des formes à reconstituer commercialisées en zone tropicale.

CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'il n'y a aucun conflit d'intérêts pour ce travail.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

JSNTY est l'investigateur principal. SAPK a contribué à l'élaboration du protocole. NFB a donné des orientations sur les travaux et a participé à la révision du protocole utilisé. YNS a été responsable de l'expérimentation et en a assuré son authenticité. MA est responsable du laboratoire où se sont tenus les travaux. Elle a validé le protocole expérimental, supervisé le travail, participé à la rédaction du manuscrit. Elle a été le responsable scientifique de cette étude.

REMERCIEMENTS

Le Laboratoire de Nutrition de l'Institut National de Santé Publique.

REFERENCES

- Abbou S. 2016. Etude de Stabilité et Contrôle Qualité sur « Augmentin PPSB 60 ml ». Mémoire de Master, Université Abderrahmane Mira de Béjaia, Algérie, p.50
- Alforjany EA, Kamour RM. 2019. Effect of temperature of water used for reconstitution on stability of antibiotic dry suspension. *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, **8**(2): 116-126. DOI : 10.20959/wjpps20192-13123
- Alzomor AK, Noman NM and Alfarzai SA. 2016. Stability study for three brands co-amoxiclav oral suspension (312.5/5 ml) after reconstitution at refrigerator (2-8

- °C). *European J. Biomed. Pharm. Sci.*, **3**(6): 203-209.
- Bouchara C, Delandre E, Dory M, Philippe S, Dieu B, Varin R. 2012. Outil d'aide à l'administration : conservation après ouverture des formes multidoses. *Le Pharmacien Hospitalier et Clinicien*, **47**(1): S1-S102. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.phclin.2011.12.179>
- Cha R, Rybak MJ. 2004. Pulsatile delivery of amoxicillin against *Streptococcus pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.*, **54** : 1067-1071. DOI : <https://doi.org/10.1093/jac/dkh452>
- Jerzsele A, Nagy G. 2009. The stability of amoxicillin trihydrate and potassium clavulanate combination in aqueous solutions. *Acta Vet. Hung.*, **57** (4): 485-493. DOI : 10.1556/AVet.57.2009.4.3
- Kumar R, Anvesh MS, Khan MS, Moin A, Gowda DV. 2014. Formulation and Evaluation of Two-Pulse Drug Delivery System of Amoxicillin Trihydrate. *Trop J Pharm Res.*, **13** (10) : 1593. DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v13i10.4>
- Lahlou AI, Chegri M, L'Kassmi H. 2009. Epidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknès. *Antibiotiques ed. Elsevier Masson*, **11** (2): 90-96. DOI: 10.1016/j.antib.2008.10.004
- Markman BEO, Koschtschak MRW, Meihuay EW, Rosa PCP. 2014. Evaluation of the quality and stability of amoxicillin oral suspension. *J. App. Pharm. Sci.*, **4** (07): 38-40. DOI: 10.7324/JAPS.2014.40706
- Naidoo KK, Nompuku P, Mkalali SN, Shabangu K, Nkabinde L, Singh V. 2006. Post-marketing stability surveillance : Amoxicillin. *SA Fam Pract J*, **48**(6) : 14-14b. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/20786204.2006.10873401>
- Nwokoye P, Oyetunde O, Akinleye M. 2012. Stability of reconstituted amoxicillin clavulanate potassium under simulated in-home storage conditions. *J. App. Pharm. Sci.*, **02**(01): 28-31.
- Perez-Lozano P, Garcia-M, Orriols A, Miñarr M, Ticó JR. 2006. Stability evaluation of amoxicillin in a solid premix veterinary formulation by monitoring the degradation products through a new HPLC analytical method. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **42**: 192-199. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.024>
- Pilon S. 2016. Médicaments essentiels – guide pratique d'utilisation. (Ed. 2016) MSF : Paris.
- Pinel J. 2014. Les médicaments de contrefaçons et sous-standards : un danger de mort, exceptionnel dans les pays industrialisés, commun dans les pays en développement. <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s23072fr/s23072fr.pdf>
- Stanley CN, Igala SE. 2017. Effect of different storage conditions on the stability and efficacy of Some reconstituted oral antibiotic suspensions sold in port harcourt. *Nigeria J. Pharm. Res. Int.*, **20**(3): 1-10. DOI : 10.9734/JPRI/2017/38553
- United States Pharmacopeial Convention. 2008. The United States pharmacopeia: USP 31; The National formulary: NF 26, Rockville, Maryland.
- Vidal. 2010. *Dictionnaire Médical*. Edition Vidal : France.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier la stabilité chimique sur la teneur en principe actif de la forme orale reconstituée d'amoxicilline dosée à 250mg/5ml pendant une durée de conservation bien déterminée. Les résultats expérimentaux ont montré que la teneur en amoxicilline dans différents échantillons utilisés était conforme à la norme Européenne (225mg/5ml). Les tests de contrôle physico-chimique ont montré une bonne stabilité pour les échantillons conservés à 8°C par rapport à ceux conservés à 25°C. De plus, la meilleure stabilité due aux conditions opératoires optimales de la préparation de la suspension buvable d'amoxicilline sont respectivement (l'eau de robinet bouillie et refroidi ; la température de conservation 5°C et le taux de dégradation $P_{\text{deg.}}(\%) = 2,85\%$). L'approche statistique de l'étude antérieure expérimentale a été envisagée par application de l'analyse en composantes principales (ACP) et la boîte à moustaches. Les résultats de l'ACP ont montré qu'il y a une forte corrélation positive entre la température de conservation $T^{\circ}\text{C}$ et le taux de dégradation $P_{\text{deg.}}(\%)$ et une corrélation négative de la concentration finale. En revanche, la boîte à moustaches a très bien représenté notre modèle, notamment le calcul des différents quartiles de la série statistique.

Mots clés : amoxicilline, suspension, forme orale, stabilité physico-chimique, ACP, boîte à moustaches.

Abstract

The aim of this work is to study the chemical stability on the active ingredient content of the reconstituted oral form of amoxicillin (250mg/5ml) during a certain period. The experimental results showed that the amoxicillin content in different samples used was complies to European standard. The physico-chemical control tests showed a good stability for the stored samples at 8°C compared to those stored at 25°C. In addition, the best stability due to the optimal operating conditions of the preparation of the amoxicillin oral suspension are respectively (cooled boiled tap water; storage temperature 5°C and degradation rate $P_{\text{deg.}}(\%) = 2.85\%$). The statistical approach of the anterior experimental study was carried out through the application of principal component analysis (PCA) and boxplot. The results of the PCA showed that there is a strong positive correlation between the storage temperature $T^{\circ}\text{C}$ and the degradation rate $P_{\text{deg.}}(\%)$ and a negative correlation of the final concentration. On the other hand, the boxplot represented the model study very well especially, the calculation of the different quartiles of the statistical series.

Keywords: amoxicillin, suspension, oral form, physico-chemical stability, PCA, boxplot