



République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abbès Laghrour-Khenchela-

Faculté des Sciences et Technologie

Département des Sciences de la Matière

Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de MASTER

Filière : Chimie

Option : Chimie Analytique et Environnement

Thème

Etude de validation statistique d'une méthode de dosage

spectrale du médicament paracétamol 500

Présenté par : M^{elle} AIMECHE Yasmina et

M^{elle} MEKERSI Mouna

Date de la soutenance: 29 juin 2019

Jury de soutenance

Président: Dr. Hezil NawelMCA Université Abbès Laghrour

Encadreur: Dr. Boufennara Souhil.....MCA Université Abbès Laghrour

Examineur: Mr. Kertiou NoureddineMCB Université Abbès Laghrour

Promotion : 2018/2019



*A cœur vaillant rien d'impossible
A conscience tranquille tout est accessible
Quand il y a la soif d'apprendre
Tout vient à point à qui sait attendre
Quand il y a le souci de réaliser un dessein
Tout devient facile pour arriver à nos fins
Malgré les obstacles qui s'opposent
En dépit des difficultés qui s'interposent
Les études sont avant tout
Notre unique et seul atout
Ils représentent la lumière de notre existence
L'étoile brillante de notre réjouissance
Comme un vol de gerfauts hors du charnier natal
Nous partons ivres d'un rêve héroïque et brutal
Espérant des lendemains épiques
Un avenir glorieux et magique
Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis
Jour et nuit, nous mènera vers le bonheur fleuri
Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys,
Je prie dieu que cette soutenance
Fera signe de persévérance
Et que je serai enchanté*

Par mon travail honoré



Remerciements

Je remercie Allah de nous avoir donnée la volonté pour accomplir ce travail que je dédie tout d'abord.

C'est avec un grand plaisir que je saisis l'occasion de la présentation de ce travail de Master pour adresser mes vifs remerciements au **Dr. Hezil Nawel** pour avoir accepté de présider le jury de cette mémoire.

Ma profonde gratitude est adressée à **Dr. Kertiou Noureddine** pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier mon encadreur **Dr. Boufennara Souhil** pour m'avoir fait confiance et accepté de diriger ce modeste travail de Master, pour m'avoir suivi et conseillé durant toute cette étude, et pour son aide dans la réalisation de mes recherches.

Je tiens à remercier chaleureusement mes chers parents, mes chères sœurs, mes amis (es), pour leur soutien et leurs patience.

Je tiens à remercier également toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à ce travail.

Enfin, je saisis cette occasion pour remercier les membres de jury tout en espérant qu'ils trouveront les qualités de clarté et de motivation qu'ils attendent.

DEDICACES

Pour chaque début il y a une fin, et ce que est beau dans toute fin c'est la Réussite et l'atteinte du but.

C'est avec toute l'ardeur de mes sentiments que je dédie le fruit de ce modeste travail comme un geste de gratitude :

À mes très chers parents

À Ma mère, la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore...

À Mon père, l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur

À mon cher frère :

Qui n'est cessé d'être pour moi un exemple de persévérance, de courage et de générosité

Houcine

A mes très chères sœurs :

Safia, Radhia, Hanifa, Hadil

A ma binôme Yasmina et toute sa famille.

A mes très chères amies :

Marwa, Malak, Amina, Samah, Khawla, Rima, Zineb, Nihal, Khadija, Yamina

Je n'oublierai pas les filles de la promotion 2019 de Master chimie analytique et environnement, Merci !! Pour tous ces souvenirs inoubliables.

Mouna.

DEDICACES

Je dédie ce mémoire :

A mon père (que Dieu ait son âme)

A ma grand sœur qui m'a éclairée mon chemin et qui m'a encouragé et soutenue

Toute au long de mes études

A mes frères

A ma famille, surtout les oncles

A tous mes ami(e)s.

Yasmina.

Résumé

Le dosage est considéré parmi les analyses physico chimiques les plus importantes effectuées dans les laboratoires pharmaceutiques et ce lors des contrôles de qualité. Il permet de s'assurer avec un maximum de garantie, pour la santé publique, de la qualité du produit. L'objectif de ce travail vise à valider une méthode analytique spectrale dans l'ultra-violet du médicament paracétamol dosé à 500 mg par comprimé.

Cette validation comporte un ensemble de processus de vérification qui consiste à vérifier certaines caractéristiques du protocole de dosage, afin de garantir la fiabilité et la traçabilité des résultats fournis. Les critères de validation choisis comprennent la **spécificité, l'exactitude, la linéarité, la reproductibilité, la répétabilité**. Ces paramètres garantissent l'aptitude de la méthode à donner des résultats probants et exacts. Chaque mesure pour chaque critère réalisé en laboratoire doit être suffisamment proche de la valeur théorique vraie ou dans les limites de tolérances acceptables.

Les résultats obtenus et les tests statistiques réalisés permettent de conclure que la méthode analytique du dosage du paracétamol est linéaire dans une gamme de concentration bien définie. Les coefficients de corrélation (R^2) des équations de régression sont supérieurs à 0,98. La précision de la méthode est démontrée par les valeurs des coefficients de variance inférieurs à 2%. Aucune interférence des excipients ou des produits de dégradation de la formulation pharmaceutique de ce médicament n'a été observée. Selon les résultats de cette validation, la méthode proposée est simple, spécifique, linéaire, précise, exacte, reproductible et peut être appliquée à l'analyse du médicament paracétamol avec un excellent taux de recouvrement et l'application au produit fini a donné un résultat de 104,55%, ce qui est conforme vue que l'intervalle de confiance est de 90% à 110%.

Mots clés.

Validation, dosage, paracétamol, linéarité, reproductibilité, répétabilité, exactitude, spécificité.

Abstract

The chemical assay is considered among the most important physical and chemical analyzes carried out in the pharmaceutical laboratories during quality control process. It makes to ensure a maximum security for the public health and guarantee the quality of the product. The objective of this work is to validate a spectral analytical method in the ultraviolet of the drug paracetamol dosed at 500 mg per tablet. This validation includes a set of verification processes that consists of verifying certain characteristics of the assay protocol, in order to guarantee the reliability and the traceability of the results provided. The validation criteria chosen include **specificity, accuracy, linearity, reproducibility and repeatability**. These parameters make secure the ability of the method to give convincing and accurate results. Each measurement for each criterion performed in the laboratory must be sufficiently close to the true theoretical value or within the acceptable tolerances.

The results obtained and the statistical tests performed conclude that the analytical method of the paracetamol assay is linear within a well defined concentration range. The correlations coefficients (R^2) of the regression equations are greater than 0.98. The precision of the method is demonstrated by the values of the variance coefficients less than 2%. No interference with the excipients or degradation products of the pharmaceutical formulation of this drug has been observed. According to the results of this validation, the proposed method is simple, specific, linear, precise, exact, reproducible and can be applied to the analysis of the drug paracetamol with an excellent recovery rate and its application to the final product give a good result of 104.55%, which is consistent with the confidence interval from 90% to 110%.

Key words

Validation, assay, paracetamol, linearity, reproducibility, repeatability, accuracy, specificity.

يعتبر التحليل الكيميائي و الكمي من بين أهم التحاليل الفيزيو-كيميائية التي يتم إجراؤها في المختبرات الصيدلانية . يسمح هاذ التحليل بضمان جودة المنتج للصحة العامة. الهدف من هذا البحث هو التأكد من صحة

المنهج التحليلي الطيفي في المجال المافوق بنفسجي المطبق على دواء الباراسيتامول 500 . يتضمن هذا

معايير للتحقق من بعض خصائص بروتوكول التحليل الكيميائي و ذلك من أ

موثوقية النتائج المتحصل عليها. وتشمل معايير التأكد من الصحة اختيار النوعية، الخطية، هاته المعايير تضمن قدرة الطريقة على إعطاء نتائج مقنعة ودقيقة. لا بد أن يكون كل قياس لكل معيار يتم إجراؤه في المختبر قريبا بما فيه الكفاية من القيمة النظرية الحقيقية أو ضمن التفاوتات المقبولة.

الإحصائية المتحصل عليها تمكننا من القول أن الطريقة التحليلية لفحص الباراسيتامول خطية ضمن

نطاق تركيز واضح المعالم 0,98 معاملات التباين اقل من 2%. يلاحظ أي تدخل

لتركيبية دوائية في فعالية هذا المنتج الطبي. يمكننا القول بكل ارتياح و طمأنينة أن الطريقة التحليلية المقترحة

بسيطة، نوعية، خطية، دقيقة و قابلة للتكرار ويمكن تطبيقها على تحليل عقار الباراسيتامول بمعدل استرداد ممتاز و

التطبيق على المنتج النهائي أعطى نتيجة 104,55% وهو ما يدخل ضمن مجال الثقة من 90 110% .

باراسيتامول الخطية، الاستنساخ، التكرارية، الدقة، النوعية.

Sommaire

Liste des figures.....	I
Liste des tableaux.....	II
Liste des abréviations.....	IV
<hr/>	
Introduction.....	2

Chapitre 01 : Synthèse bibliographique

1-Généralités sur les médicaments.....	5
1-1 Définition.....	5
1-2 Les compositions.....	5
1-3 Les catégories de médicaments	5
1-4 Origines des médicaments.....	6
1-5 Classification.....	6
1-6 Voies d'administration des médicaments.....	7
2- Notion sur spécialité étudiée.....	7
2-1 Paracétamol.....	7
2-2 Définition.....	7
2-3 Dénomination et formule chimique.....	7
2-4 Origine et synthèse de paracétamol.....	7
2-5 Caractéristiques physico-chimiques du paracétamol.....	8
2-5-1 Données pharmacocinétiques.....	8
2-5-2 Considérations thérapeutiques.....	9
2-5-3 La solubilité.....	9
2-5-4 La stabilité.....	9

3- Spectrophotomètre UV visible.....	10
3-1 Définition.....	10
3-2 Spectrophotométrie d'absorption dans l'UV- Visible.....	10
3-3 Objectif.....	10
3-4Appareillage.....	11
3-5 Principe.....	12
3-6 Limites de validité de la loi de Beer-Lambert.....	13
3-7 Préparation des échantillons (Echantillonnage).....	13
3-8 Solvant.....	13
3-9 Manipulation.....	14
3-10 Applications de la spectroscopie UV-Visible.....	14
4-Validation de la méthode de dosage d'un médicament.....	15
4-1 Qu'est-ce que la validation analytique d'un médicament ?.....	15
4-2 Objectif de validation statistique pour un médicament.....	15
4-3 Les pré-requis à la validation.....	16
4-4 Intérêt de la validation.....	16
4-5 Validation de la méthode de dosage d'un médicament.....	17
4-5-1Spécificité.....	17
4-5-2 Linéarité.....	18
4-5-3 Exactitude.....	19
4-5-4 Fidélité ou précision.....	20
1- Reproductibilité.....	20
2- Répétabilité.....	20

Chapitre 02 : Matériels et méthodes

5- Matériels et méthodes.....	23
5-1 Echantillonnage.....	23
5-2 Matériels utilisé.....	23
5-3 Produits et réactifs.....	24
5-4 Préparation des solutions.....	24
5-5 Protocole d'analyse à valider.....	24
5-5-1 Dosage du principe actif.....	24
5-5-2 Dosage de médicament.....	25
5-6 Méthodes.....	25
5-6-1 Linéarité.....	25
5-6-2 Reproductibilité.....	27
5-6-3 Répétabilité.....	29
5-6-4 Exactitude.....	29
5-6-5 Spécificité.....	31

Chapitre 03: Résultats et discussions

6- Résultats et discussion.....	35
6-1 Linéarité.....	35
6-2 Reproductibilité.....	40
6-3 Répétabilité.....	42
6-4 Exactitude.....	44
6-5 Spécificité.....	47
Conclusion.....	50

Références bibliographique.....	52
Annexes.....	56

Liste des figures

Figure 1 : Structure chimique de paracétamol.....	7
Figure 2 : Schéma de la réaction d'acylation du para-aminophénol en paracétamol.....	8
Figure 3 : Schéma de synthèse du paracétamol par hydroxylation de l'acétanilide.....	8
Figure 4 : Spectre photomètre UV-Visible.....	10
Figure 5 : Schéma de principe du spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau.....	12
Figure 6 : Image représente le médicament paracétamol 500 mg.....	23
Figures 7 : Préparation d'une solution mère.....	26
figures 8 : Préparation d'une série de dilution.....	26
Figures 9 : Préparation des 6 prises d'essai.....	28
Figures 10 : Les 6 prises d'essai.....	29
Figures 11 : Les 3 séries de mesures (90 p. cent et 100 p. cent et 110 p. cent).....	30
figures 12 : Un reconstitué avec Paracétamol seul.....	32
Figures 13 : Un reconstitué contenant Paracétamol et tous les excipients du produit fini	33
figures 14 : Droite de linéarité.....	36
Figures15 : Droite de reproductibilité.....	40
figures 16 : Droite d'exactitude.....	44


Liste des tableaux

Tableau 1. Résultats de mesure d'absorption d'une série de dilution.....	35
Tableau 2. Résultats de mesure de concentration d'une série de dilution.....	35
Tableau 3. Résultats de calcul de teneur en pourcentage et en masse.....	38
Tableau 4. Résultats de mesure d'absorption des 6 prises d'essai.....	40
Tableau 5. Résultats de calcul de la masse prise et la concentration théorique et la concentration réelle.....	40
Tableau 6. Résultats de calcul de teneur en pourcentage et en masse.....	41
Tableau 7. Résultats de mesure d'absorption des 9 répétitions.....	42
Tableau 8. Résultats de calcul de teneur en pourcentage et en masse.....	42
Tableau 9. Résultats de mesure d'absorption des 3 séries.....	44
Tableau 10. Résultats de calcul de la concentration théorique et réelle.....	44
Tableau 11. Résultats de calcul des tests statistiques de l'exactitude.....	45
Tableau 12. Résultats de calcul de teneur en pourcentage et en masse (série01).....	46
Tableau 13. Résultats de calcul de teneur en pourcentage et en masse (série 02).....	46
Tableau 14. Résultats de calcul de teneur en pourcentage et en masse (série 03).....	46
Tableau 15. Résultats de calcul de la masse prise et la concentration de solution mère et de solution fille (série 01).....	46
Tableau 16. Résultats de calcul de la masse prise et la concentration de solution mère et de solution fille (série 02).....	47
Tableau 17. Résultats de calcul de la masse prise et la concentration de solution mère et de solution fille (série 03).....	47
Tableau 18. Résultats de calcul de la concentration réelle et la concentration théorique et les titres en pourcentage et en masse (paracétamol principe actif seul).....	47

Tableau 19. Résultats de calcul de la masse prise et la concentration mère et fille 48
(Paracétamol+excipients).

Liste des abréviations

ANSM	Agence Nationale du Médicament et des produits de Santé National agency for the safety of medicinal and health products
C	Concentration
CLHP	La Chromatographie en phase liquide à haute performance
COP	Conférence of parties
CV	Coefficient de Variation
HCl	Acide chlohydrique
ICH	International Conference on Harmonisation
ISO	International Organization for Standardization
M	Molarité
P. CENT	Pourcentage
PA	Principe actif
PSL	Position latérale de sécurité
R²	Coefficient de corrélation
T%	Titre en pourcentage
UV	Ultraviolet
VAR	Variance
ddl	Degré de liberté
g	Gramme
ml	Millemètre litre



Introduction

Introduction

Toute analyse, chimique, biologique ou autre, nécessite la mise au point de méthodes de séparation, d'identification et de dosage des analytes avec des résultats qui doivent être les mêmes pour tout opérateur procédant à l'analyse en question (**Feinberg, 1996**).

Les analyses chimiques sont importantes à cause des décisions issues des résultats fournis. Par exemple dans l'industrie pharmaceutique; dans le diagnostic médical ; pour les industries chimiques, le contrôle de la qualité des produits est indispensable.

Une méthode analytique est un moyen visant à exprimer concrètement un besoin bien exposé, ou encore c'est la réponse matérialisée à un problème donné. Dans le domaine analytique, deux types de méthodes sont mentionnés, les méthodes qualitatives et les méthodes quantitatives. Par rapport à cette dernière, l'objectif d'une méthode analytique peut se résumer en sa capacité à quantifier chacune des quantités inconnues présentes dans un échantillon (**Choisnard, 2011**).

Une évaluation erronée entraîne une perte de confiance dans la fiabilité des résultats analytiques. Cette fiabilité est très importante dans la satisfaction des clients ou des partenaires. Pour assurer cette fiabilité, la validation des méthodes d'analyses est devenue une démarche très importante et une étape primordiale.

Selon la norme **ISO 9000 (version 2015)**, le concept validation est défini comme la confirmation par des preuves objectives que les exigences pour une utilisation spécifique ou une application prévues ont été satisfaites. Les preuves objectives requises pour la validation peuvent être le résultat d'un essai ou d'une autre forme de détermination, telle que la réalisation de calculs ou la revue de documents.

L'objectif spécifique de la méthode d'analyse doit être défini avant de commencer toute validation. En effet, comme indiqué précédemment, une méthode doit être adaptée à un but donné (**Feinberg, 2009**). La validation est donc fondée sur une analyse statistique des méthodes analytiques, basée sur un certain nombre de critères, aboutissant à une assurance de donner des résultats fiables. Elle a pour but de démontrer que les techniques correspondent à l'utilisation pour laquelle elles sont proposées sont des techniques très fiables et aboutissent à des résultats très satisfaisants. Ceci fait clairement apparaître le lien très étroit qui existe entre la qualité d'une analyse et la validation de la méthode qui permet de la faire.

La validation d'une méthode analytique recouvre des critères statistiques, à savoir : linéarité, reproductibilité, spécificité, l'exactitude et répétabilité. Ces paramètres garantissent l'aptitude de la méthode à donner des résultats exacts.

Afin d'étudier les critères de validation, on utilise des tests statistiques spécifiques qui sont des règles mathématiques, permettant à partir des résultats expérimentaux recueillis, organisés, résumés, présentés et analysés, d'en tirer des conclusions et de prendre des décisions judicieuse, avec des risques d'erreurs fixes .

Notre travail, a été entièrement réalisé au niveau du laboratoire pédagogique de chimie analytique et environnement (Université Abbès Laghrour de Khenchela). Nous avons choisi comme échantillon le médicament paracétamol 500. Ce travail se consacre à une étude de validation statistique d'une méthode de dosage spectrale du médicament paracétamol 500.

La méthode analytique choisie est une méthode spectrale qui absorbe dans l'ultra-violet. Cette exigence de validation est pratiquement courante dans le domaine industriel, où toute nouvelle méthode décrite dans un dossier d'autorisation de mise sur le marché et elle doit être accompagnée d'une validation complète.

Ce mémoire se compose de trois chapitres:

- Chapitre 1: dédié à une synthèse bibliographique.

Dans ce chapitre, nous avons entre autre abordé les thèmes suivants :

- ✓ Généralités sur les médicaments.
- ✓ Notion sur spécialité étudiée.
- ✓ Spectrophotométrie UV- Visible, validation de la méthode de dosage d'un médicament.

- Chapitre 2: dédié aux matériel et méthodes utilisés.

- Chapitre 3: concerne les résultats obtenus.



Chapitre 01 : Synthèse bibliographique

1-Généralités sur les médicaments

1-1 Définition

Un médicament est toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales. Il est administré en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, de corriger ou de modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique (ANSM, 2000).

1-2 Composition d'un médicament

Un médicament est constitué de principe actif et les excipients.

a. Principe actif

Le principe actif est la substance chimique ou naturelle responsable de l'action pharmacologique. Son dosage est établi en fonction de la puissance et l'âge du patient (Dutau et al., 1996).

b. Excipients

Les excipients désignent toute substances autre que le principe actif dans un médicament, destinée à faciliter la mise en forme du médicament, lui conférer un gout ou un odorat particulier et diminuer certains effets indésirables (conservateurs, aromatisants...).

c. Additifs

D'après le comité l'organisation mondiale de la santé (OMS), un additif est défini comme une substance dotée ou non d'une valeur nutritionnelle, ajouté à un aliment dans un but technologique, sanitaire, organoleptique ou nutritionnel. Son emploi doit améliorer les qualités du produit fini sans présenter de danger pour la santé, aux doses utilisées.

1-3 Les catégories de médicaments

Il existe plusieurs catégories de médicaments, parmi lesquelles figurent notamment :

-**Les spécialités pharmaceutiques** : qui sont les médicaments fabriquées industriellement et exploités par les entreprises pharmaceutiques, pour être délivrées aux patients.

-**Les préparations magistrales, hospitalières ou officinales** : qui sont le plus souvent réalisées par une pharmacie pour les besoins spécifiques d'un ou plusieurs patients. Ces préparations et spécialités pharmaceutiques peuvent se présenter sous différentes formes pharmaceutiques :

- ✓ **Comprimé.**
- ✓ **Solution buvable.**
- ✓ **Solution injectable.**

1-4 Origines des médicaments

Les médicaments peuvent être obtenus de sources très diverses :

- ✓ **Origine végétale.**
- ✓ **Origine animale.**
- ✓ **Origine synthétique.**
- ✓ **Origine biogénétique.**

1-5 Classification

Il existe plus d'une dizaine de milliers de médicaments. Chaque médicament est utilisé dans un but précis et par des spécialités médicales différentes.

Il y a de nombreuses façons de classer les médicaments.

Classement en fonction :



Du type de préparation



Des familles thérapeutiques



De leur principe actif



De leur nom chimique



Du mode d'absorption



Du mode thérapeutique

1-6 Voies d'administration des médicaments

Il existe plusieurs voies d'administration, mais, selon la voie utilisée, les principes actifs n'ont pas le même devenir dans l'organisme et subissent des modifications métaboliques plus ou moins importantes, ce qui peut altérer leur activité pharmacologique, surtout en ce qui concerne le début, l'intensité et la durée de leur action.

Les principales voies d'administration sont :

- ✓ **Voie orale.**
- ✓ **Voie parentérale.**
- ✓ **Voies transmuqueuses** : buccale, perlinguale, oculaire, nasale, pulmonaire...etc.
- ✓ **Voie cutanée (Aïache et al., 1995).**

2- Notion sur spécialité étudiée

2-1 Paracétamol

2-2 Définition

Le paracétamol étudié dans ce travail, aussi appelé acétaminophène, est le principe actif non seulement du PARALGAN mais aussi de nombreuses spécialités médicamenteuses de la classe des antalgiques, antipyrétiques. Substances qui combattent la fièvre et des douleurs d'intensité faible et modérée. Il peut être seul ou en association à d'autres analgésiques. Il est dépourvu de propriétés anti-inflammatoires (Driad, 2009 ; Marie, 2007).

2-3 Dénomination et formule chimique

- Le nom chimique est : N-acétyl-para-aminophénol.
- La formule chimique du paracétamol est : $\text{CH}_3\text{-CO-NHC}_6\text{H}_4\text{-OH}$

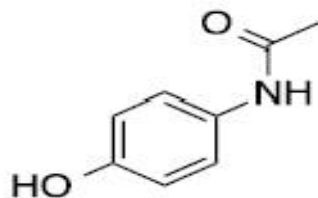


Figure 1 : Structure chimique de paracétamol.

2-4 Origine et synthèse de paracétamol

Le paracétamol est un dérivé de l'aniline. C'est le principe actif du médicament le plus vendu et le plus prescrit au monde. Il est d'origine synthétique. Il peut être obtenu par

l'acylation (Figure 2) du para-amino-phénol en solution dans l'acide éthanoïque (acide acétique), par l'action de l'anhydride acétique à 100°C (Stora, 2005 ; Mesplede et al., 2004).

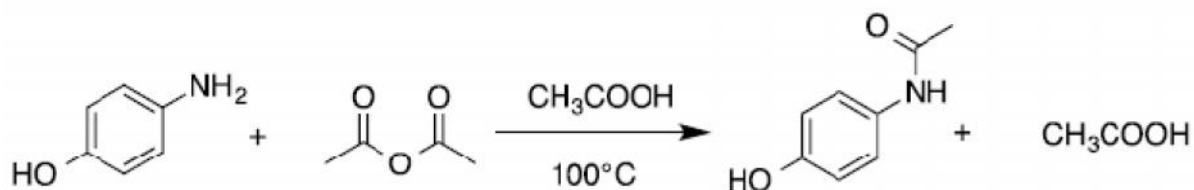


Figure 2 : Schéma de la réaction d'acylation du para-aminophénol en paracétamol.

Le paracétamol peut être aussi obtenu suivant une autre voie comprenant d'abord une acylation de l'aniline (appelée aussi phénylamine) au moyen de l'anhydride acétique (ou anhydride éthanoïque) (Figure 3). Suivie d'une hydroxylation de l'acétanilide obtenu sous l'action de l'acide ascorbique.

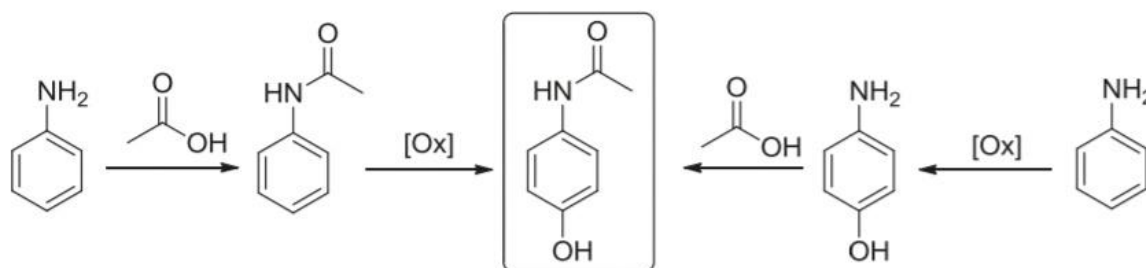


Figure 3 : Schéma de synthèse du paracétamol par hydroxylation de l'acétanilide (à gauche) ou par hydroxylation aromatique de l'aniline puis acétylation de l'amine (droite)

2-5 Caractéristiques physico-chimiques du paracétamol

Le paracétamol est un acide organique faible (pK_a = 9,5) très liposoluble, qui se présente sous forme de poudre cristalline, blanche, inodore et de saveur amère, sa température de fusion à une pression de 1 bar est comprise entre 168 et 172 C°. Il absorbe dans l'UV avec un maximum d'absorption à la longueur d'onde de 244 nm et sa masse molaire est de 151,17 g/mol.

2-5-1 Données pharmacocinétiques

Biodisponibilité : proche de 100%.

Métabolisme : hépatique à 95%.

Demi-vie d'élimination : 1 à 4 heures.

Excrétion : urinaire.

2-5-2 Considérations thérapeutiques

Classe thérapeutique : antalgique, antipyrétique.

Voie d'administration : orale, IV, intra-rectale.

Grossesse : autorisé.

Précautions : toxicité hépatique à fortes doses.

Antidote : N-acétylcystéine.

2-5-3 La solubilité

Le paracétamol est beaucoup plus soluble dans l'eau chaude, dans l'acétone, l'éthanol, le méthanol...etc. ; peu soluble dans le chloroforme, l'éther, et presque insoluble dans l'éther de pétrole, le pentane, et le benzène.

2-5-4 La stabilité

Le paracétamol est stable dans l'eau, mais sa stabilité diminue en milieu acide ou basique. Les mélanges de paracétamol sont stables dans des conditions humides.

3- Spectrophotomètre UV-visible

3-1 Définition

Un spectrophotomètre est un appareil qui permet de mesurer l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée ou dans une région donnée du spectre. Selon la loi de Beer-Lambert, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à la concentration des substances en solution, à condition de se placer à la longueur d'onde à laquelle la substance absorbe les rayons lumineux. La densité optique des échantillons est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de la substance à étudier (Gwenola, 2006).

3-2 Spectrophotométrie d'absorption dans l'UV- Visible

La spectrophotométrie d'absorption dans l'UV/Visible est l'une des méthodes d'analyse de la spectroscopie moléculaire. C'est une technique basée sur l'absorption des radiations lumineuses par la matière dans le domaine s'étendant du proche ultraviolet au très proche infrarouge, soit entre 200 et 800 nm. Cette partie du spectre est désignée par l'UV/ Visible, parce qu'elle englobe les radiations perceptibles par l'œil humain.

3-3 Objectif

On utilise cet appareil pour déterminer en partie la nature chimique de l'échantillon analysé, et ce en déterminant son absorption ou sa transmittance en fonction de sa concentration (Héloïse et al., 1979).



Figure 4 : Spectrophotomètre UV visible.

3-4 Appareillage

En pratique, on détermine l'absorption relative de la lumière par la solution à analyser par rapport à celle d'une solution appelé la solution blanc (**Suzanne et al., 2007**).

Un spectrophotomètre se compose de quatre parties essentielles :

❖ **Source lumineuse**

- ✓ Lampe deutérium, utilisée dans le domaine de 200 à 400 nm.
- ✓ Lampe à filament de tungstène, utilisée dans le domaine de 400 à 800 nm.

❖ **Monochromateur**

Composé principalement d'un système dispersif, d'une fente d'entrée et d'une fente de sortie, il a pour objet de sélectionner la longueur d'onde de travail. Pour rôle de disperser le rayonnement poly chromatique de la source et d'obtenir des radiations monochromatiques.

❖ **Cuve**

Contienne la solution de référence et la solution à analyser. La cuve doit être parallélépipédique et parfaitement transparents aux radiations. Dans le domaine de l'UV, la cuve est en quartz ou en verre. Dans le domaine du visible, on utilise des cuves en plastiques. L'épaisseur de la cuve caractérise la longueur du trajet optique (l).

❖ **Détecteur**

Se compose de deux éléments : les photodiodes (semi-conducteur) et le photomultiplicateur qui amplifie du faisceau émergent. Ces deux éléments sont reliés à un enregistreur qui permet de tracer un spectre d'absorption de l'échantillon analysé.

Le temps de lecture de l'absorbance d'un échantillon est immédiat, dès lors que celui-ci est prêt. La mise en solution et la mise en œuvre des réactions permettant le développement de la coloration peuvent en revanche être relativement longues.

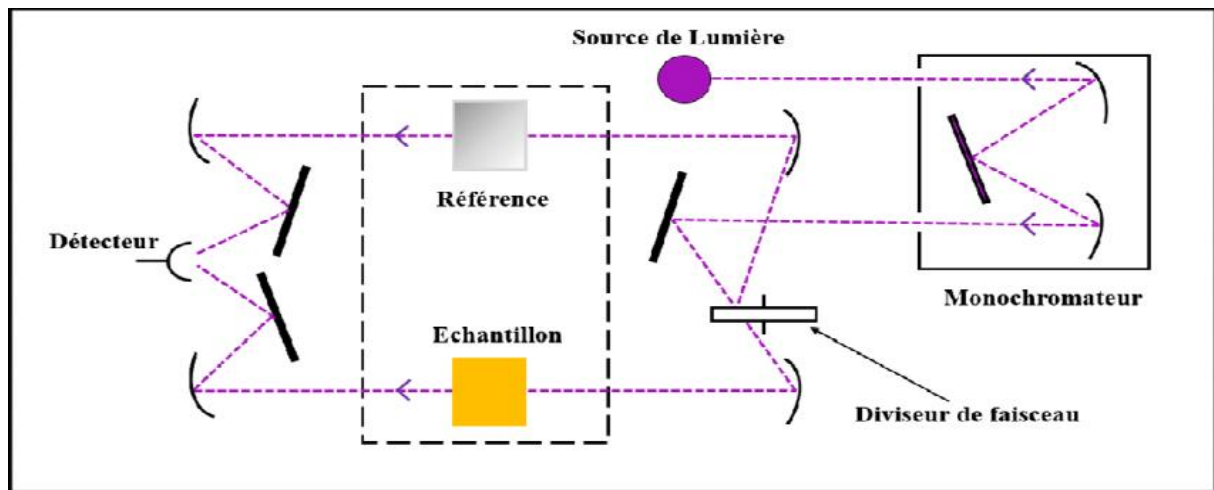


Figure 5 : Schéma de principe du spectrophotomètre UV-visible à double faisceau.

3-5 Principe

Le principe de la spectrophotométrie consiste à mesurer l'intensité lumineuse absorbée par un échantillon donné et qui est proportionnelle au nombre de molécules à l'origine de l'absorption. Cette proportionnalité est exprimée par la loi de **Beer-Lambert**.

On mesure l'intensité incidente (I_0) et l'intensité du rayonnement qui a traversé l'échantillon (I) ; le rapport (I_0/I) est appelé la transmittance (T). L'absorbance (A) ou densité optique est définie comme le logarithme de (I_0/I), et est égale à :

$$A = \log(I_0/I) = -\log T = \log(I/I_0) = \epsilon LC.$$

Avec:

A : Est l'absorbance ou la densité optique (sans unité) de la solution pour une longueur d'onde (nm).

ϵ : Est le coefficient d'extinction molaire de la substance absorbante en solution (en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$).

C : Concentration de la substance absorbante (mol/L).

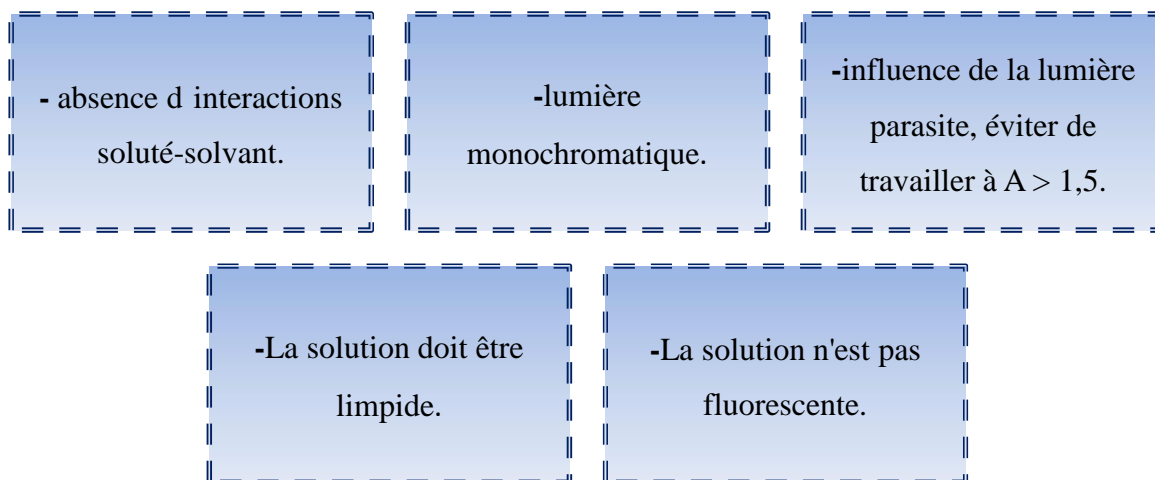
L : Epaisseur de la cuve (cm) ou trajet optique.

La loi de Beer-Lambert est une loi additive, à une longueur d'onde donnée, qui s'applique aux différentes molécules présentes en solution ou pour une même molécule aux différentes formes qu'elle peut prendre.

La loi de Beer-Lambert sert à établir une relation entre l'absorbance, l'épaisseur de l'échantillon et la concentration des espèces absorbantes.

3-6 Limites de validité de la loi de Beer-Lambert

La loi de Beer-Lambert est valide pour les faibles concentrations et les solutions diluées ($c < 0,01 \text{ M}$). Cette loi doit satisfaire les critères suivants :



3-7 Préparation des échantillons (Echantillonnage)

Composés étudiés en divers états physiques :

- Gazeux.
- Liquide.
- Solide.

La plupart du temps, l'étude se fait en solution. Dans ce cas, le composé doit être dissous dans un solvant convenablement choisi. Il doit dissoudre le produit et être transparent (n'absorbe pas) dans la région examinée (**Antoine, 2019**).

3-8 Solvant

Les solvants utilisés en spectrophotométrie doivent répondre à certaines exigences pour garantir des résultats efficaces et précis. Le solvant choisi doit :

- ✓ Dissoudre l'échantillon (tout en étant compatible avec les matériaux de la cuvette).
- ✓ Egalement être relativement transparent dans la région spectrale d'intérêt (Pour éviter une mauvaise résolution et des difficultés d'interprétation du spectre).

- ✓ Un solvant ne doit pas être utilisé pour des mesures proches ou inférieures à son seuil UV (longueur d'onde à laquelle l'absorbance pour le solvant seul approche une unité d'absorbance).

3-9 Manipulation

- ✓ Brancher l'appareil.
- ✓ Sélectionner la longueur d'onde et laisser chauffer la lampe.
- ✓ Introduire le blanc et faire calibrer l'absorbance à zéro.
- ✓ Rincez l'intérieur de la cuve à l'aide de la solution de nettoyage, généralement avec votre solvant (blanc) ou avec la solution d'échantillon pour éviter la formation des bulles d'air, ou la déposition des particules en suspension.
- ✓ La solution d'échantillon doit être soigneusement placée dans la cuve à l'aide d'une micro pipette ou pipette pasteur.
- ✓ Les parois de la cuve doivent être soigneusement nettoyés avec un chiffon doux ou papier optique de grande qualité pour éliminer les traces de doigts et de contaminants avant d'utiliser la cuve à échantillon.
- ✓ Introduire soigneusement la cuve contenant l'échantillon puis fermer la porte du compartiment de la cuve et lire en mode absorbance.

3-10 Applications de la spectroscopie UV-Visible

- ✓ Large domaine d'applications (Chimie minérale, organique, biochimie), 90% des analyses médicales.
- ✓ Analyses qualitative : Les spectres UV fournissent généralement peu de renseignements sur la structure moléculaire des composés comparés aux spectres IR. Néanmoins, on les utilise soit pour une confirmation, soit pour une identification grâce aux règles empiriques.
- ✓ Analyse quantitative par la spectrométrie UV-visible est très employée grâce à l'utilisation de la loi de Beer-Lambert.

4-Validation de la méthode de dosage d'un médicament

4-1 Qu'est-ce que la validation analytique?

Le contrôle analytique d'un médicament ou de certains de ses constituants est indispensable pour garantir que le médicament en question restera sûr et efficace pendant toute sa durée de validité proposée, c'est-à-dire pendant les phases de stockage, de distribution et d'utilisation. Ce contrôle doit autant que possible être effectué selon des spécifications élaborées et validées lors de la mise au point du produit. Ainsi, on aura l'assurance que les spécifications de qualité sont applicables non seulement à la préparation pharmaceutique qui a servi à établir les caractéristiques biologiques des principes actifs, mais aussi aux formes galéniques mises sur le marché (**Perrin et al., 2003**).

La notion de validation implique qu'une technique d'usage généralisé doit être "prouvée", confirmée avant d'être reconnue.

La norme ISO/IEC 17025, définit la validation comme étant « **la confirmation par examen et fourniture de preuves réelles que les exigences particulières d'un usage projeté donné sont remplies** ». Elle la définit aussi, comme étant l'ensemble des opérations effectuées en vue de prouver qu'une procédure est suffisamment exacte et fiable, pour avoir confiance dans les résultats fournis pour l'usage prévu et comme une composante essentielle des mesures qu'un laboratoire devrait mettre en œuvre pour lui permettre de produire des données analytiques fiables.

Le principe de la validation des procédures analytiques quantitatives est aujourd'hui largement répandu dans tous les domaines d'activité où des mesures sont réalisées. La validation de procédé de production pharmaceutique doit fournir la preuve écrite que le procédé est capable, avec répétabilité, d'assurer la production d'un médicament de qualité requise. La validation de procédé est considérée comme un moyen de gestion stratégique de la qualité et d'amélioration des performances.

4-2 Objectif de validation statistique pour un médicament : Cette validation vise à :

- ✓ Apporter la preuve documentée que le procédé mis en œuvre dans des conditions opératoires définis, est capable de conduire de manière efficace et reproductible à un produit conforme aux spécifications préétablies.
- ✓ Etablir une procédure nécessaire pour prouver que le protocole est suffisamment exact et fiable pour avoir confiance dans les résultats fournis et ceci pour un usage déterminé.

- ✓ Normaliser la méthode pour en faire une méthode alternative, ou de référence, en s'assurant que les résultats seront acceptés (**Eurachem, 1998**).
- ✓ La reproductibilité de ces caractéristiques et de cette qualité est réalisable et assurée. Chaque étape de validation sera documentée et soumise pour approbation.
- ✓ Chaque mesure réalisée ultérieurement en routine sera suffisamment proche de la valeur vraie ou dans les limites acceptables selon le besoin de l'analyse.

4-3 Les pré-requis à la validation

Avant qu'un procédé ne puisse être validé, le matériel de fabrication et le matériel de contrôle doivent être qualifiés. D'autres aspects de la fabrication doivent être validés, notamment la fourniture des services critiques (eau, air, alimentation électrique, etc.) et les opérations auxiliaires, comme le nettoyage du matériel et la désinfection des locaux.

Le succès de la validation repose également sur le personnel conduisant la validation qui doit être convenablement formé, motivé, qualifié et compétent pour exécuter leur tâche.

Une documentation complète devrait être disponible pour définir un support et enregistrer la validation complète du procédé (**Chantal et al., 2005**).

4-4 Intérêt de la validation

L'industrie pharmaceutique est un secteur spécifique. Sa spécificité est due à son rôle très délicat qui est de produire et de mettre sur le marché des produits sensibles qui ont un impact direct sur la santé de la population. C'est pour cela, que ce secteur est très réglementé et contrôlé.

Les autorités réglementaires exigent que le médicament soit testé afin de prouver qu'il répond aux critères de qualité, sécurité et efficacité avant sa mise sur le marché, c'est pour cela que les fabricants de médicaments sont dans l'obligation de démontrer qu'ils contrôlent les aspects critiques de leurs opérations de fabrication. Les industries pharmaceutiques sont donc concernées par la validation, qui, lorsqu'elle est bien conduite, présente de nombreux avantages pour le fabricant, notamment :

- ✓ Une meilleure compréhension du procédé.
- ✓ Réduction des risques de pertes financières dues aux défauts.
- ✓ Réduire le risque de non conformité à la réglementation.
- ✓ Fournit l'assurance que le produit fabriqué présente les spécifications prédéfinies.
- ✓ Augmentation de la productivité.

4-5 Validation de la méthode de dosage d'un médicament

La validation de méthode utilise un ensemble de tests qui vérifie les hypothèses de base de la méthode d'analyse et établit et documente les caractéristiques de performance de cette méthode. Ce faisant, elle démontre si une méthode est adaptée à son emploi analytique (**Willetts et al., 2005**).

La méthode de dosage d'un médicament a été validée en étudiant successivement les paramètres suivants :

- ✓ Spécificité.
- ✓ Linéarité.
- ✓ Exactitude.
- ✓ Reproductibilité.
- ✓ Répétabilité.

4-5-1 Spécificité

La première partie de la validation est donc d'analyser ces différents composés de l'échantillon individuellement et de vérifier que l'on n'observe aucune interférence avec le signal du traceur (**Reginald et al., 2000**).

Une méthode est dite spécifique lorsqu'on a la garantie que le signal mesuré provient uniquement de la substance à analyser. On démontre que la méthode est spécifique si elle est capable de déterminer quantitativement un analyte sans interférences avec d'autres composants, impuretés ou composants de dégradation.

La spécificité d'une procédure analytique est sa capacité à permettre l'évaluation qualitative univoque de la substance à analyser, en présence de composés susceptibles de l'accompagner tels que d'autres principes actifs, excipients, substances apparentées, produits de dégradation.

Concrètement, la méthode est testée sur les autres produits présents dans le médicament afin de vérifier leur non interférence. Il y a également la possibilité d'effectuer une étude de dégradation forcée où plusieurs conditions sont testées pour faire apparaître des produits de dégradation :

- stress thermique.
- stress à la lumière.
- stress oxydant.
- stress acide.

- stress basique.

L'étude de la spécificité consiste à démontrer l'absence d'interférences entre les excipients et le principe actif lors de l'absorption. Elle est réalisée sur le standard.

Elle est dite sélective lorsqu'elle permet de détecter qualitativement la substance à analyser en présence de composants pouvant être présents dans l'échantillon (insensibilité à tout bruit de fond ou signal parasite).

4-5-2 Linéarité

Aptitude de la méthode, pour une matrice donnée, à fournir des résultats proportionnels à la quantité d'analyte présente dans l'échantillon, c'est-à-dire qu'à une augmentation de l'analyte correspond une augmentation linéaire ou proportionnelle des résultats.

C'est la capacité d'une méthode d'analyse, à l'intérieur d'un certain intervalle (dit domaine d'utilisation), à obtenir des résultats directement proportionnels à la quantité ou à la concentration de substance à doser. Le domaine d'utilisation est l'intervalle entre la concentration la plus faible et la concentration la plus élevée dont on a démontré qu'elles pouvaient être déterminées avec une précision, une exactitude et une linéarité. Ces caractéristiques sont déterminées en appliquant la méthode à une série d'échantillons dont les concentrations en analyte couvrent tout le domaine d'utilisation proposé (**Feinberg, 2008**).

L'intervalle de concentrations à valider est couvert par une série de 5 concentrations au minimum régulièrement espacées contenant le 100% en terme de concentration massique du principe actif ou d'un témoin et ce à partir d'une solution mère d'analytes. Des solutions filles de concentrations différentes seront préparées. Ces solutions filles permettront de vérifier la linéarité.

L'étude de la linéarité est répétée trois fois de suite sur le principe actif seul. Afin de vérifier la validité de la linéarité, il est nécessaire d'effectuer un contrôle statistique sur les résultats obtenus.

La linéarité de la méthode a été calculée à partir d'une gamme de concentration dont l'étendue est de 80% à 160% de la teneur théorique en médicament.

La gamme est constituée du principe actif traité de la même manière que les essais à examiner.

La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité, à l'intérieur d'un certain intervalle, à obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration en substance(s) à étudier dans l'échantillon à analyser.

Le signalé mesuré Y (densité optique) s'exprime en fonction de la grandeur à mesurer X (concentration) par la relation :

$$Y = aX + b$$

- ✓ L'étude de la linéarité comporte.
- ✓ La réalisation d'une gamme d'étalonnage.
- ✓ La détermination de l'équation de la droite.
- ✓ La vérification de la linéarité par la détermination du coefficient de régression.

4-5-3 Exactitude

L'exactitude d'une procédure analytique exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur de concentration acceptée comme référence, valeur vraie, et la valeur déterminée par la procédure analytique. Ce test vérifie si la variance des recouvrements obtenue à un niveau de concentration (variance intra-groupe) est similaire à la variance des recouvrements moyens des différents niveaux de concentration (variance intergroupes).

Ceci est le pré requis pour que les données soient représentatives et permettent de réaliser le test de la valeur de recouvrement dans l'intervalle de confiance considéré (**Perrin, 2003**). L'erreur totale d'une procédure analytique évalue son aptitude à produire des résultats exacts. Elle est estimée pour chaque niveau de concentration.

L'exactitude est déterminée par :

- la comparaison des recouvrements individuels de la substance analysée dosée par la technique et celle introduite ;
- l'estimation du taux de recouvrement moyen et de son intervalle de confiance (**Eurachem, 1998**).

L'exactitude de la méthode a été étudiée sur 3 séries de mesures (90 %, 100 % et 110 % de la quantité théorique) par le calcul du recouvrement moyen obtenu par rapport entre une quantité connue et la quantité retrouvée, calculé à l'aide de la droite de régression du principe actif seul. L'étude statistique des résultats va permettre de vérifier l'exactitude de la méthode. Pour cela, on calcule le taux de recouvrement r qui représente le rapport entre la concentration

estimée par le modèle mathématique et la teneur théorique réelle. Il permet d'apprécier la justesse de la méthode pour chaque principe actif (**John et al., 2004**).

Le taux de recouvrement $r = 100 * C_e / C_i$

Avec : C_e : Concentration du principe actif estimée par l'appareil

C_i : Concentration du principe actif introduite exactement

➤ **Critère d'acceptation.**

La méthode est exacte, si r ne varie pas de $\pm 1,5\%$ par rapport à la concentration théorique.

4-5-4 Fidélité ou précision

La fidélité de la méthode exprime l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures provenant de prises d'essai multiples d'un même échantillon dans des conditions données. Elle s'exprime par la mesure de la répétabilité et de la reproductibilité (**Tahiri, 2002**).

1- Reproductibilité

Étroitesse de l'accord entre les mesurages successifs de différentes quantités proches de la quantité théorique, effectuées dans les conditions de reproductibilité. La **reproductibilité** est faite sur des essais réalisés dans des conditions variables, ou par différents opérateurs et équipements, ou à des jours différents.

Le protocole de détermination de ces critères peut être exprimé sous la forme d'un plan expérimental.

C'est la précision de la méthode lorsqu'elle est appliquée dans des conditions différentes - généralement dans des laboratoires différents - à des échantillons distincts, théoriquement identiques, prélevés sur le même lot homogène de produit à analyser. La comparaison des résultats obtenus par différents analystes, avec un matériel différent, ou à des dates différentes, peut aussi fournir des informations précieuses à cet égard.

2- Répétabilité

Étroitesse de l'accord entre les mesurages successifs de la même quantité, effectués dans les mêmes conditions de mesurage.

La répétabilité se rapporte à des essais de la même grandeur, réalisés dans des conditions aussi stables que possible, dans de courts intervalles de temps, dans un même laboratoire, par le même opérateur employant le même équipement.

Cette mesure de la variation des résultats au sein d'un même laboratoire caractérise la précision obtenue lorsque la méthode est répétée par le même analyste dans les mêmes conditions (réactifs, matériel, réglage, laboratoire) dans un court intervalle de temps.

La répétabilité d'une méthode est évaluée en procédant à des déterminations complètes et distinctes sur des échantillons identiques provenant du même lot homogène de produit. Cela permet d'évaluer la précision de la méthode dans les conditions opératoires normales. L'essai de répétabilité consiste à effectuer l'analyse d'un même échantillon pour le même analyste dans des conditions identiques: même opérateur, même lots de réactifs, même instrument, même calibrateur.

Les normes **ICH(2005)** recommandent d'évaluer la répétabilité sur un minimum de neuf déterminations couvrant la zone de dosage spécifiée, c'est-à-dire trois concentrations répétées trois fois chacune.

L'exploitation des résultats consiste à calculer la moyenne (m), l'écart-type (s) et le coefficient de variation (**CV**) des valeurs expérimentales de chaque série. Le CV représentera la répétabilité de la méthode en %. Il sera comparé au CV limite d'acceptabilité.

Le coefficient de variation donne l'homogénéité des données, si le coefficient de variation est inférieur à 2%, on considère que les données sont homogènes et inversement, si le coefficient de variation est supérieur à 2%, on dit que les données sont hétérogènes (**Shabir, 2003**).



Chapitre 02 : Matériels et méthodes

5-Matériels et méthodes

5-1 Echantillonnage

Les analyses sont effectuées pour le principe actif qui est le PARACETAMOL. On lit sur la notice, la composition suivante:

-PARACETAMOL (PA)500 mg.

-Q.S.P.....1 comprimé.

Les analyses sont effectuées au niveau de laboratoire de recherche de chimie analytique et environnement (Universite Abbes Laghrour–Khenchela).



Figure 6 : Image représente le médicament Paracétamol 500 mg.

Remarque :

Le protocole d'analyse est extrait du dossier technique du laboratoire pharmaceutique SAIDAL de Constantine. Les échantillons choisis pour cette étude sont achetés d'une pharmacie de la ville de Khenchela. Tous les échantillons sont fabriqués par Laboratoire de PHYSIOPHARM de Constantine et portent le même numéro de lot, à savoir : (N° de lot : **021, date de fabrication : 06/2018; date d'expiration: 06/2020**),

5-2 Matériels utilisé

✓ **Verreries usuelles :**

- Fioles jaugées.
- Béchers.
- Entonnoir.
- pipettes graduées.

✓ Appareillages :

- Spectre photomètre UV-Vis.
- Agitateur magnétique.
- Balance électronique de précision.

5-3 Produits et Réactifs

- Solution HCl 0.1N.
- Eau distillée.
- Produit (médicament Paracétamol).
- Témoin paracétamol (poudre fourni par le fabricant).

5-4 Préparation des solutions**a- Solution d'acide chlorhydrique 0.1M****a-1 Solution d'acide chlorhydrique 1M (solution mère)**

Dans un fiole jaugée de 1000 ml contenant 200 d'eau distillée, ajouter environ 84 ml d'une solution concentrée d'acide chlorhydrique R, agiter puis compléter au volume avec de l'eau distillée, refroidir et homogénéiser.

a-2 Solution d'acide chlorhydrique 0.1M

Dans une fiole jaugée de 1000 ml prendre 100 de la solution mère puis compléter au volume avec de l'eau distillée et agiter pour bien homogénéiser.

5-5 Protocole d'analyse à valider**5-5-1 Dosage du principe actif****-Solution standard:**

Peser une quantité exacte de 100 mg de paracétamol standard dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter au volume avec une solution d'acide chlorhydrique 0,1M. Agiter jusqu'à complète dissolution. Diluer ensuite 1 ml dans une fiole de 100 ml et compléter au trait de jauge toujours avec la solution d'acide chlorhydrique 0,1M.

On détermine l'absorbance de solution à 243 ± 1 nm contre un blanc (solution d'acide chlorhydrique 0,1M).

5-5-2 Dosage de médicament

-Solution test

Après avoir pulvériser (cinq) 05 comprimés, prendre une quantité équivalente à 100 mg de paracétamol (1/5ème du poids moyen) dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter au volume avec une solution d'acide chlorhydrique 0,1M. Agiter pendant 2 Heure, filtrer (si nécessaire) et prendre 1ml du filtrat dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter au volume avec la solution d'acide chlorhydrique 0,1 M. Il faut agiter pour homogénéiser.

On détermine l'absorbance de solution à 243 ± 1 nm contre un blanc qui est la solution d'acide chlorhydrique 0,1M.

Calculer la teneur du Paracétamol selon la formule suivante :

$$\text{Teneur du paracétamol} = \frac{A_{\text{essai}}}{A_{\text{témoin}}} * \frac{P_{\text{témoin}}}{P_{\text{essai}}} * P_m$$

Avec :

$A_{\text{témoin}}$: Absorbance de la solution témoin.

A_{essai} : Absorbance de la solution essai.

$P_{\text{témoin}}$: Prise de témoin.

P_{essai} : Prise d'essai du Test.

P_m : Poids des 20 comprimés.

-Normes tolérées sont : $500 \text{ mg} \pm 10 \%$ (450-----à -----550 mg par comprimés)

5-6 Méthodes

5-6-1 Linéarité (Mode opératoire)

- Transférer 100 mg de l'étalon (témoin) Paracétamol dans une fiole de 1000 ml avec environ 700 ml de la solution HCl 0,1M.

- Agiter très bien jusqu'à dissolution.

- Amener au volume de un litre avec la solution HCl 0,1M (**solution mère**).



Figure 7 : Préparation d'une solution mère.

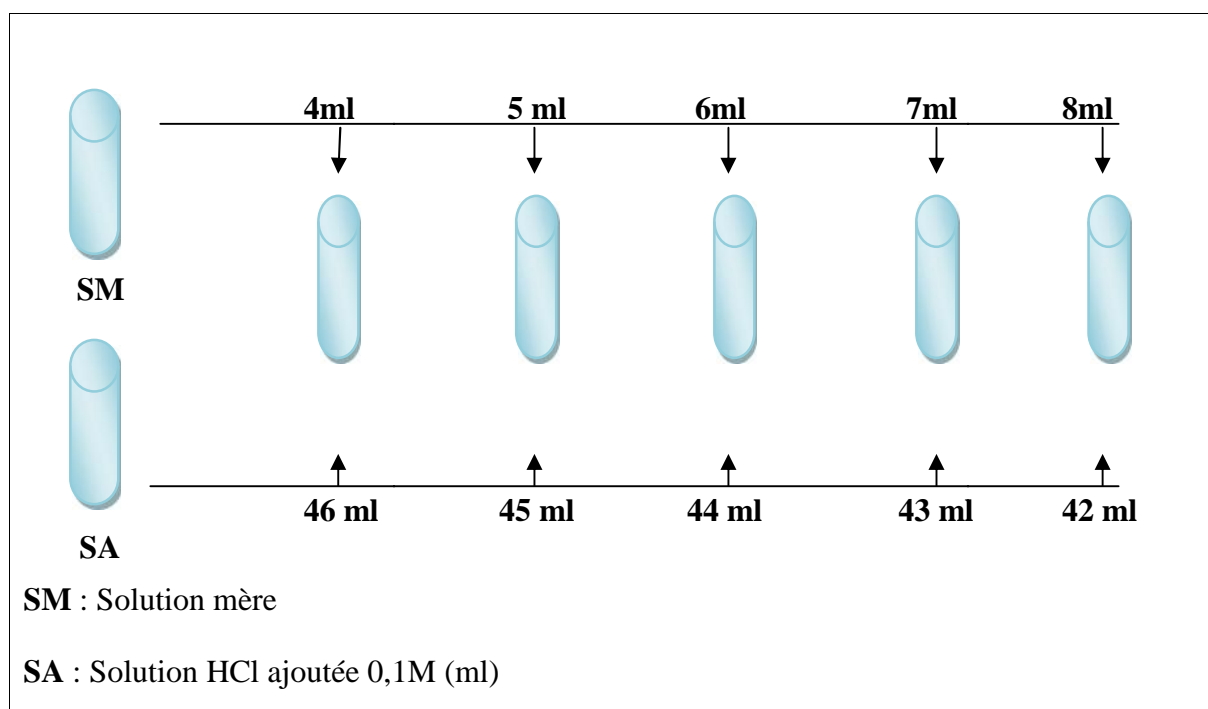


Figure 8 : Préparation d'une série de dilution.

- Réaliser une série de dilution selon le tableau suivant :

Solution mère (ml)	4	5	6	7	8
Solution HCl ajoutée 0,1N (ml)	46	45	44	43	42

- On détermine les lectures des solutions au spectre photomètre à 243 ± 1 nm. Noter pour chaque solution trois absorbances.

5-6-2 Reproductibilité (Mode opératoire)

L'étude a été réalisée sur 6 prises d'essai différentes, voisines de 110,752 mg (Quantité théorique) de médicament :

1- Peser 110.4 mg de médicament et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée de 100 ml avec une solution HCl 0,1M.

2- Peser 110.52 mg de médicament et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée de 100 ml avec une solution HCl 0,1M.

3- Peser 110.6 mg de médicament et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée de 100 ml avec une solution HCl 0,1M.

4- Peser 110.72 mg de médicament et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée de 100 ml avec une solution HCl 0,1M.

5- Peser 110.9 mg de médicament et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée de 100 ml avec une solution HCl 0,1M.

6- Peser 111.00 mg de médicament et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée de 100 ml avec une solution HCl 0,1M.

- Introduire 1 ml de chaque solution dans une deuxième fiole de 100 ml et compléter à 100 ml avec la solution HCl 0,1M.

- Effectuer la lecture des solutions au spectre photomètre à 243 ± 1 nm. Noter bien les absorbances.

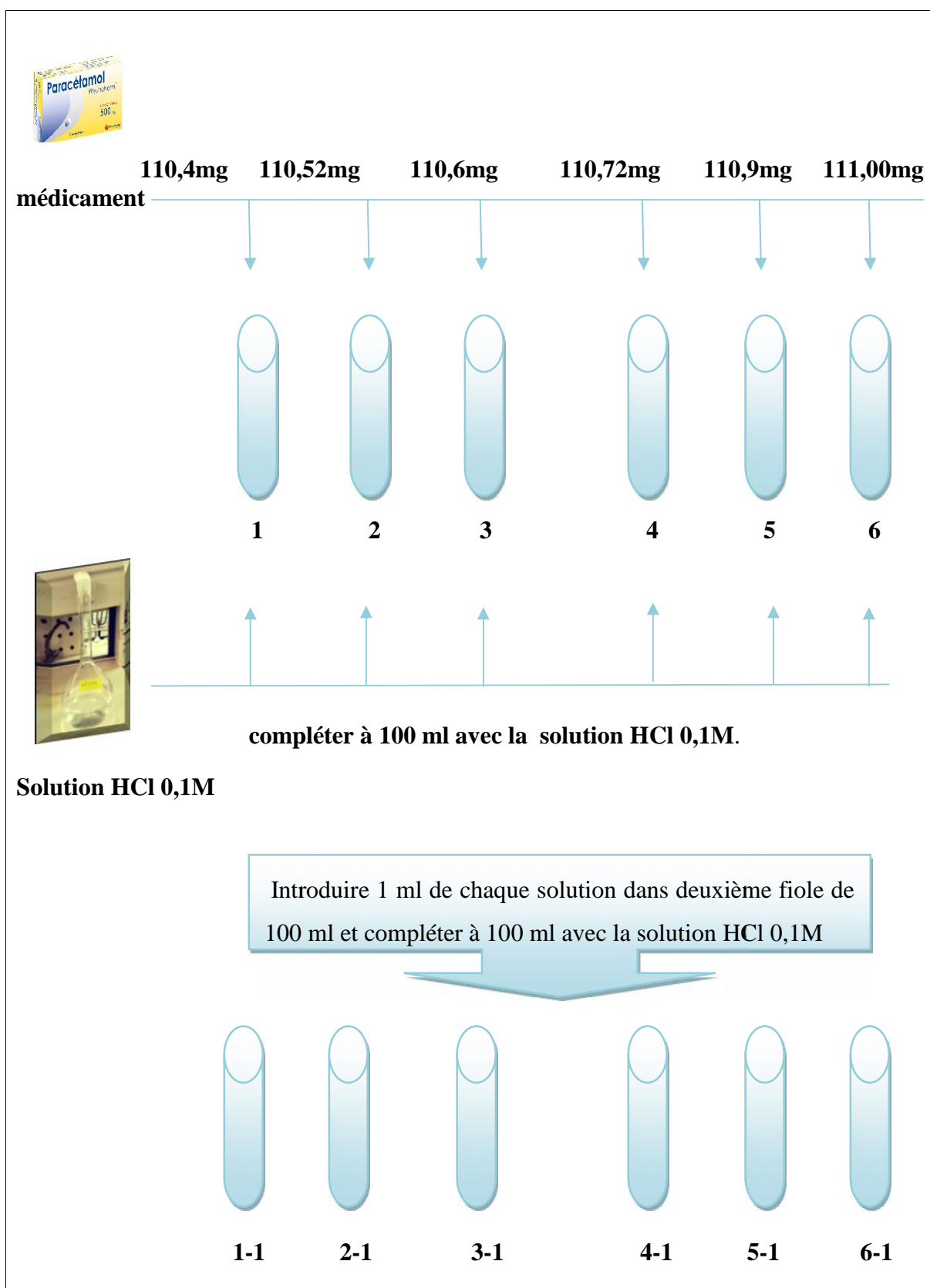


Figure 9 : Préparation des 6 prises d'essai.

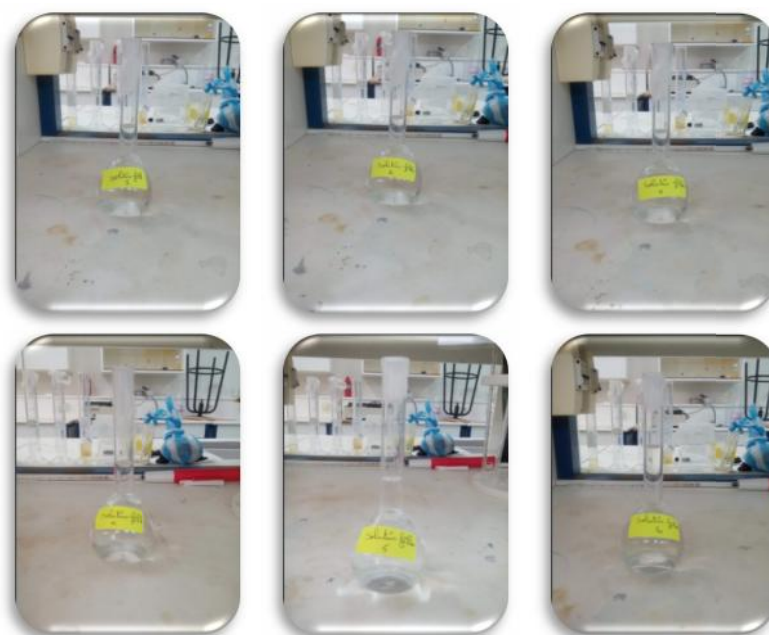


Figure 10 : Les 6 prises d'essai.

5-6-3 Répétabilité

L'étude a été réalisée sur une même prise d'essai de 100 mg de poudre de noyaux non pelliculés issus d'un même lot d'essai de paracétamol comprimé 500 mg répondant à la formule décrite. Cet échantillon a fait l'objet, après traitement dans les conditions opératoire de la méthode.

-Effectuer la lecture de solution au spectre photomètre à 243 ± 1 nm (9 fois). Noter bien les absorbances.

5-6-4 Exactitude (mode opératoire)

L'exactitude de la méthode a été étudiée sur 3 séries de mesures (90 p. cent et 100 p. cent et 110 p. cent) de la quantité théorique.

-1ère série (90 p. cent)

-Prélever 90 mg de médicament et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée de 100 ml avec une solution HCl 0,1M.

- Agiter très bien jusqu'à dissolution.

-Introduire 1 ml de cette solution dans une deuxième fiole de 100 ml et compléter à 100 ml avec la solution HCl 0,1M. (Effectuer 3 répétitions).

-2ème série (100 p. cent)

- Prélever 100 mg de médicament et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée de 100 ml avec une solution HCl 0,1M.
- Agiter très bien jusqu'à dissolution.
- Introduire 1 ml de cette solution dans une deuxième fiole de 100 ml et compléter à 100 ml avec la solution HCl 0,1M. (Effectuer 3 répétitions).

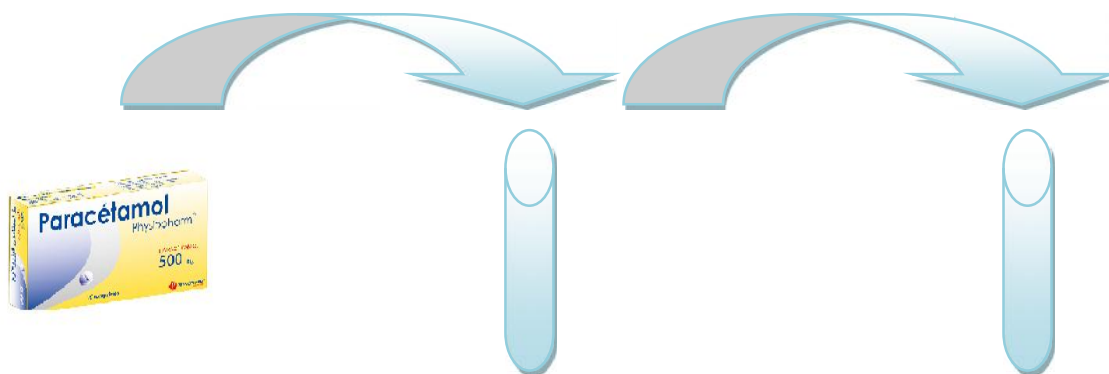
-3ème série (110 p. cent)

- Prélever 110 mg de médicament et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée de 100 ml avec une solution HCl 0,1M.
- Agiter très bien jusqu'à dissolution.
- Introduire 1 ml de cette solution dans une deuxième fiole de 100 ml et compléter à 100 ml avec la solution HCl 0,1M. (Effectuer 3 répétitions).
- Effectuer la lecture des solutions au spectre photomètre à 243 ± 1 nm. Noter bien les absorbances.

-1ère série (90 p. cent)

Prélever 90 mg de médicament et compléter à 100 ml avec une solution HCl 0,1M.

Introduire 1 ml de cette solution et compléter à 100 ml avec une solution HCl 0,1M.



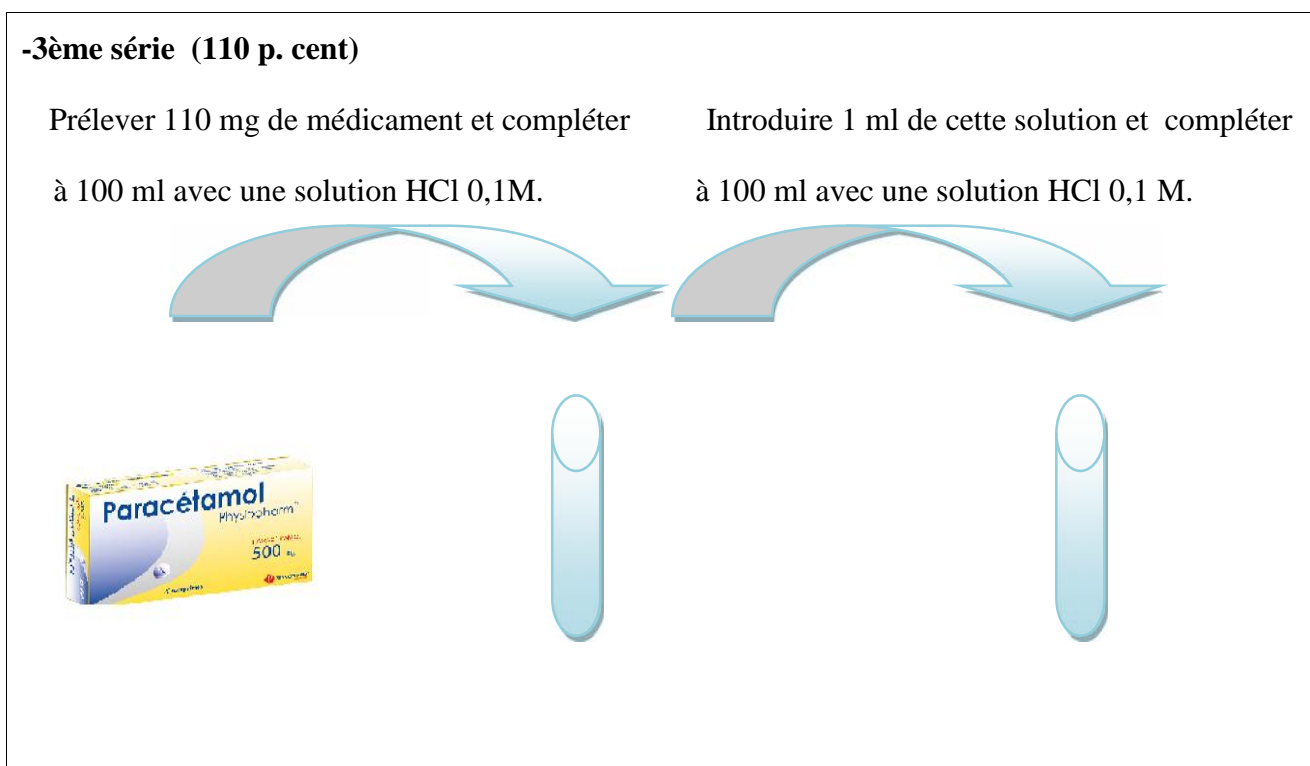
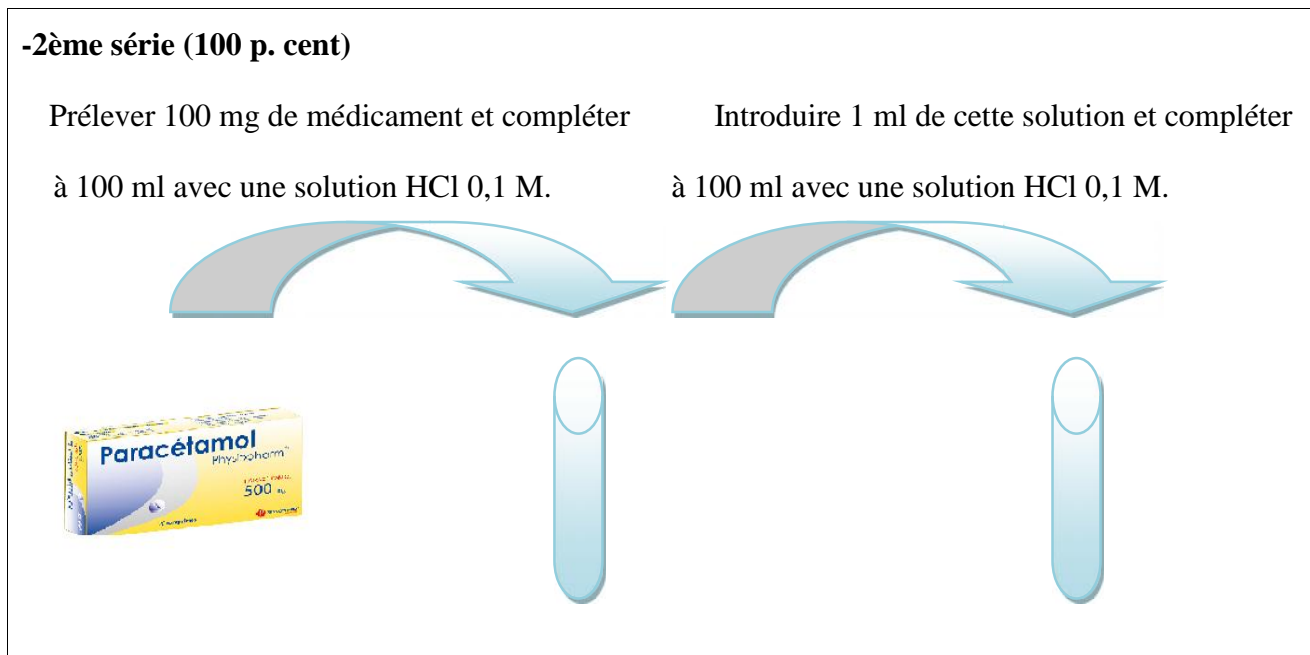


Figure 11 : Les 3 séries de mesures (90 p. cent et 100 p. cent et 110 p. cent).

5-6-5 Spécificité (mode opératoire)

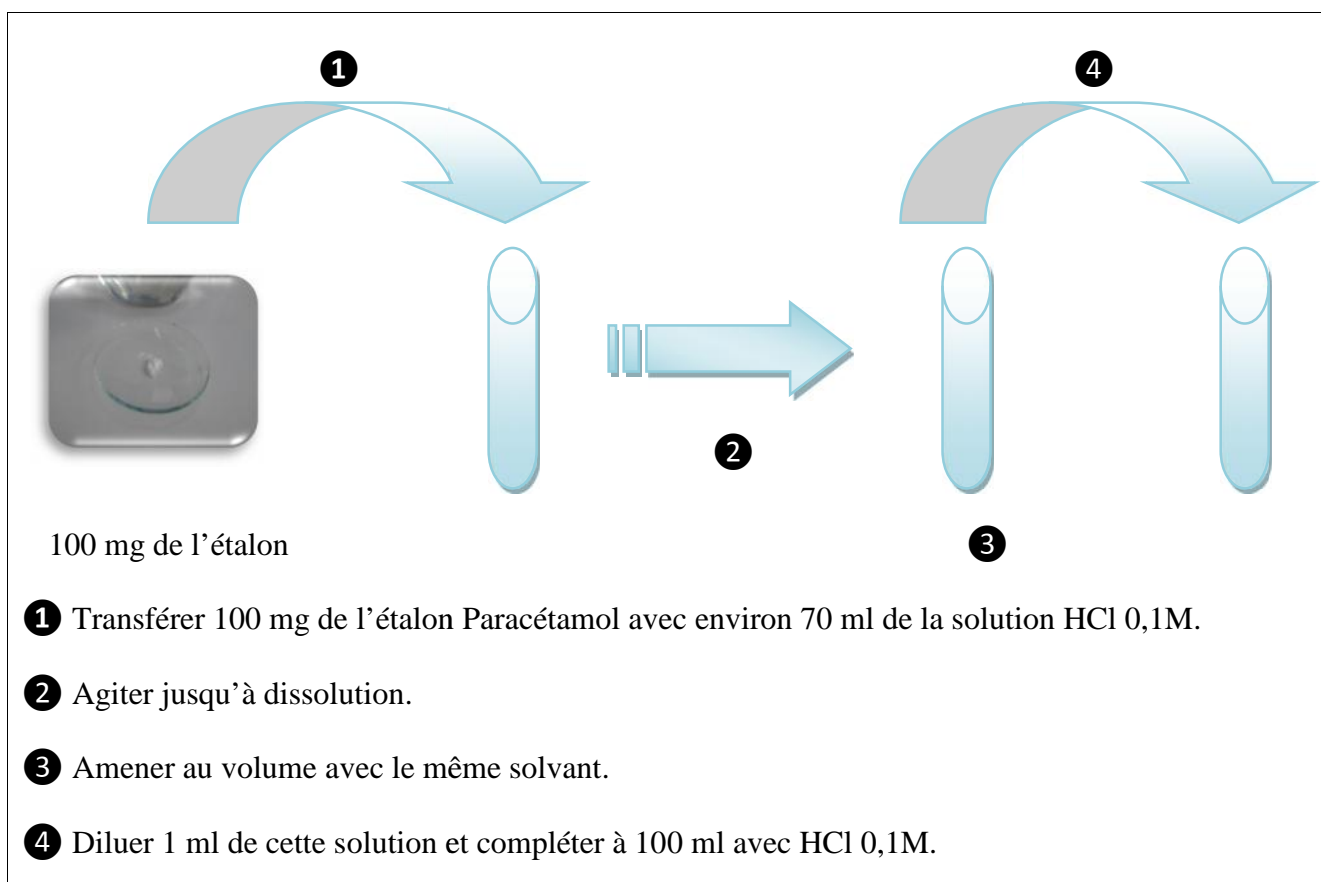
La spécificité de la méthode a été évaluée par l'étude d'un reconstitué avec Paracétamol seul, par rapport à un reconstitué contenant Paracétamol et tous les excipients, traités de la même manière.

- Paracétamol seul :

- Transférer 100 mg de l'étalon Paracétamol dans une fiole de 100 ml avec environ 70 ml de la solution HCl 0,1M.
- Agiter jusqu'à dissolution et amener au volume avec le même solvant.
- Diluer 1 ml de cette solution et compléter à 100 ml avec HCl 0,1M. (Effectuer 3 répétitions).
- Effectuer la lecture des solutions au spectre photomètre à 243 ± 1 nm. Noter bien les absorbances.

- Paracétamol et tous les excipients du produit fini :

- Prélever 100 mg de médicament et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée de 100 ml avec une solution HCl 0,1M.
- Introduire 1 ml de cette solution dans une deuxième fiole de 100 ml et compléter à 100 ml avec la solution HCl 0,1M. (Effectuer 3 répétitions).
- Effectuer la lecture des solutions au spectre photomètre à 243 ± 1 nm. Noter bien les absorbances.

**Figure 12 : Un reconstitué avec Paracétamol seul.**

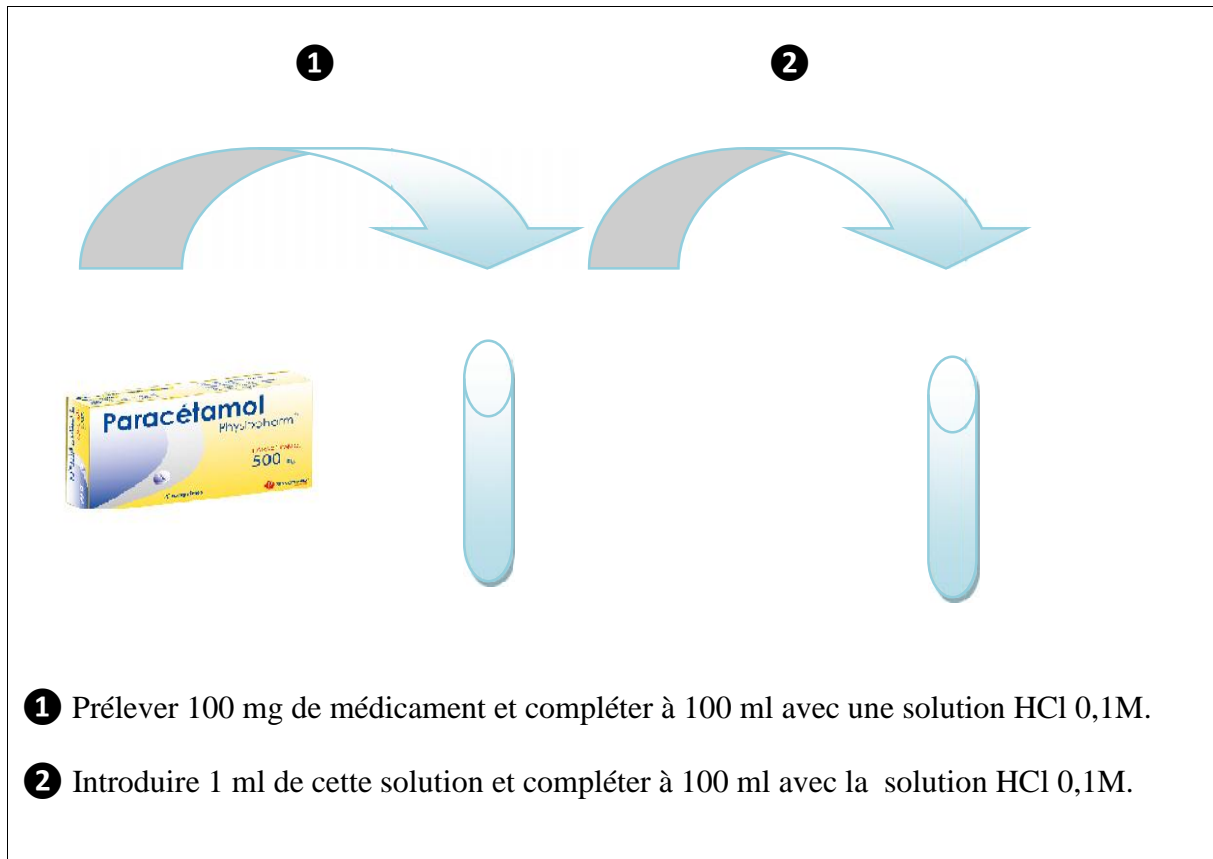


Figure 13 : Un reconstitué contenant Paracétamol et tous les excipients du produit fini.



Chapitre 03 : Résultats et discussions

6- Résultats et discussions

6-1 Linéarité

La linéarité est estimée par les paramètres statistiques suivants :

a. Détermination de la droite de régression linéaire

A partir des valeurs expérimentales, on trace la droite de régression et on cherche à déterminer le coefficient de corrélation (R^2) et l'équation de la droite (**Tenenhaus, 1998**).

b. Comparaison de l'ordonnée à l'origine

-Test de Student (t)

Ce test permet de vérifier si l'ordonnée à l'origine n'est pas significativement différent de zéro (**Gael, 2011**).

-Condition de validation est : si $t_{\text{exp}} < t_{\text{tab}}$

t_{exp} : représente la valeur calculée par la formule (1).

t_{tab} : représente la valeur de référence tirée de la table statistique au risque = 5%.

Tableau 1. Résultats de mesure d'absorption d'une série de dilution.

Solution mère (ml)	4	5	6	7	8
Solution HCl ajoutée 0,1N (ml)	46	45	44	43	42
Absorbance Moyenne A_m	0,516	0,663	0,788	0,901	1,042

Tableau 2. Résultats de mesure de concentration d'une série de dilution.

Absorbance	0,516	0,663	0,788	0,901	1,042
Concentration Solution fille (mg/ml)	0,008	0,01	0,012	0,014	0,016

- **La droite d'étalonnage :**

Une régression linéaire effectuée sur les absorbances obtenues en fonction des concentrations abouties à une droite passant sensiblement par l'origine et d'équation : **$Y = 64,48x + 0,008$** .

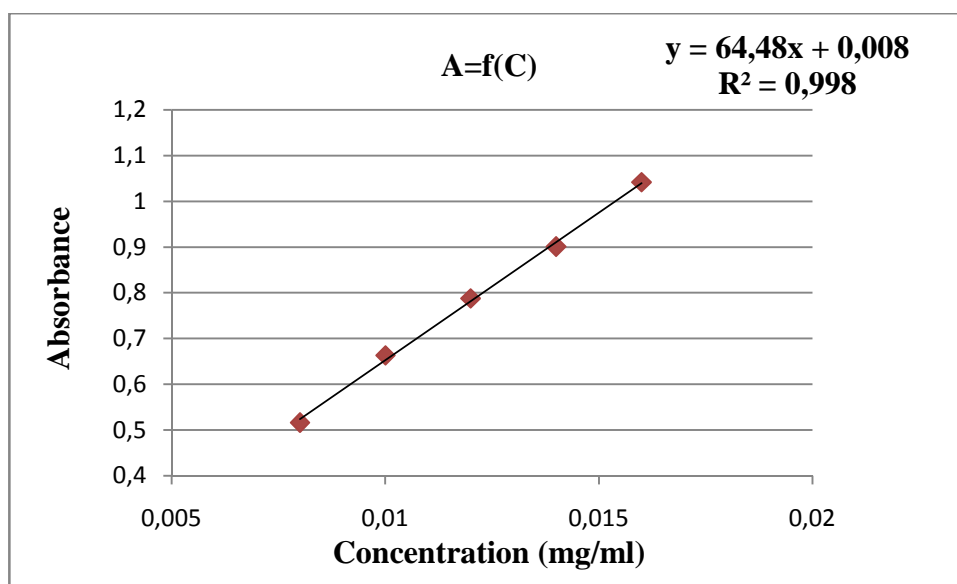


Figure 14 : Droite de linéarité.

- **Analyse statistique**

X	Y	XY	X ²	Y ²
0,516	0,008	0,0041	0,266	0,000064
0,663	0,01	0,0066	0,440	0,0001
0,788	0,012	0,0095	0,621	0,000144
0,901	0,014	0,0126	0,812	0,000196
1,042	0,016	0,0167	1,086	0,000256
0,782	0,012	0,0099	0,645	0,000152

1-Le coefficient de corrélation (R²)

$$R^2 = \frac{\overline{XY} - \bar{X} \bar{Y}}{\sqrt{(\bar{X}^2 - (\bar{X})^2)(\bar{Y}^2 - (\bar{Y})^2)}}$$

X : Valeur d'absorbance.

Y : Valeur de concentration.

\bar{X} : Moyenne d'absorbance.

\bar{Y} : Moyenne de concentration.

On trouve :

R² = 0,998

2-Test de linéarité

$$a = 64,48 \quad b = 0,008 \quad R^2 = 0,998$$

$b = 0,008$: l'ordonnée à l'origine n'est pas significativement différent de zéro.

3-La variance

$$\text{Var} = \frac{1}{n-1} \sum (X - \bar{X})^2$$

$$\text{Var} = \frac{1}{4} (0,166714) = 0,042.$$

4- L'écart type

$$\Delta = \sqrt{\text{var}(\bar{x})} = 0,204.$$

5-Moyenne de teneur

Les moyennes ont été calculées pour chaque lecture des dosages. Les dosages sont exprimés en % et ils ont été déterminés à partir de l'expression :

$$100\% \quad \text{-----} \quad \rightarrow \text{C théorique}$$

$$T\% \quad \text{-----} \quad \rightarrow \text{C réelle}$$

D'après la loi de Beer-Lambert :

$$A_{\text{réelle}} = \varepsilon \cdot L \cdot C_{\text{réelle}} \dots \dots \dots (1)$$

$$A_{\text{témoin}} = \varepsilon \cdot L \cdot C_{\text{témoin}} \dots \dots \dots (2)$$

$$\frac{A_{\text{réelle}}}{A_{\text{témoin}}} = \frac{C_{\text{réelle}}}{C_{\text{témoin}}} \dots \dots \dots (1)$$

$$\dots \dots \dots (2)$$

Donc :
$$C_{\text{réelle}} = C_{\text{témoin}} * \frac{A_{\text{réelle}}}{A_{\text{témoin}}}$$

En faisant les remplacements nécessaires, on calcule

$$T\% = \frac{C_{\text{témoin}} * \frac{A_{\text{essai}}}{A_{\text{témoin}}}}{C_{\text{théorique}}} * 100$$

Avec
$$C_{\text{théorique}} = \frac{100}{100} * \frac{1}{100} \text{ et } C_{\text{témoin}} = \frac{100}{100} * \frac{1}{100}$$

$$T\% = \frac{\frac{100}{100} * \frac{1}{100} * \frac{A_{\text{essai}}}{A_{\text{témoin}}}}{\frac{100}{100} * \frac{1}{100}} * 100$$

On a $500\text{mg(PA)} \longrightarrow \text{P}_m$ (poudre)
 $100\text{mg} \longrightarrow \text{P}_{\text{essai}}$ (poudre)

$$T\% = \frac{\frac{P_{\text{témoin}}}{100} * \frac{1}{100} * \frac{A_{\text{essai}}}{A_{\text{témoin}}}}{\frac{P_{\text{essai}}}{500} * \frac{1}{100} * \frac{1}{100}} * 100$$

$$T\% = \frac{A_{\text{essai}}}{A_{\text{témoin}}} * \frac{P_{\text{témoin}}}{P_{\text{essai}}} * \frac{P_m}{500} * 100.$$

A_{essai} : Absorbance obtenue pour la solution fille «100 % » lors de l'étude de linéarité.

$A_{\text{témoin}}$: Absorbance de la solution standard (témoin).

$p_{\text{témoin}}$: Prise de standard.

P_{essai} : Prise d'essai du l'échantillon.

P_m : Poids moyen des 20 comprimés.

Tels que :

$A_{\text{Témoin}}$	$P_{\text{témoin}} \text{ (mg)}$	$P_{\text{essai}} \text{ (mg)}$	P_m
0,663	100	110,752	553,76

La gamme des concentrations est comprise entre 80% jusqu'à 160%.

Tableau 3. Résultats de calcul de teneur en pourcentage et en masse.

Teneurs en (%)	Teneurs en masse (mg)
77,83	389,15
100,00	500,01
118,86	594,28
135,90	679,50
157,17	785,84

Moyenne de teneur T(%) = 117,95 %.

6 –Test de Student

On calcule le test de Student si la valeur moyenne trouvée et la valeur considérée ne diffèrent pas significativement pour un degré de probabilité déterminé ($n=5$), ($\alpha = 0,05$), ($n-1= 4$), ($t_{\text{tab}} = 2.132$).

$$t_{\text{exp}} = \frac{|m - \bar{X}|}{\Delta} \dots\dots\dots(1)$$

\bar{X} : Est la valeur moyenne obtenue.

m : Est le 1^{er} valeur d'absorbance.

Δ : Est l'écart type.

Donc : $t_{\text{exp}} = \frac{|0,516 - 0,782|}{0,204} = 1,303$

$t_{\text{exp}} = 1,303.$

D'où $t_{\text{exp}} < t_{\text{tab}}$.

7- Intervalle de confiance (IC)

L'intervalle de confiance est donné par la formule :

$$\text{IC} = \left(M - t_{\text{tab}} * \frac{\Delta}{\sqrt{n}}; M + t_{\text{tab}} * \frac{\Delta}{\sqrt{n}} \right)$$

Avec

M : Moyenne de teneurs.

t_{tab} : Valeur dans le tableau de student.

Δ : L'écart type.

Après avoir remplacé ces paramètres par leurs valeurs, on trouve : $\text{IC} = 117,95 \pm 0,19.$

Conclusion :

- Ces résultats indiquent que la méthode est linéaire et que la droite passe statistiquement par zéro et elle affectée d'un coefficient de corrélation très satisfaisant ($R^2 = 0,998$).
- On considère que la méthode est linéaire car on trouve une valeur de t_{exp} inférieure à t_{tab} pour un risque choisi de 0,19%.

6-2 Reproductibilité

Tableau 4. Résultats de mesure d'absorption des 6 prises d'essai.

Masse Prise (mg)	110,4	110,52	110,6	110,72	110,9	111,00
Absorbance	0,698	0,701	0,706	0,707	0,708	0,712

- **La droite d'étalonnage :**

Une régression linéaire effectuée sur les absorbances obtenues en fonction des concentrations abouties à une droite passant sensiblement par l'origine et d'équation: $Y = 63,69x + 0,016$

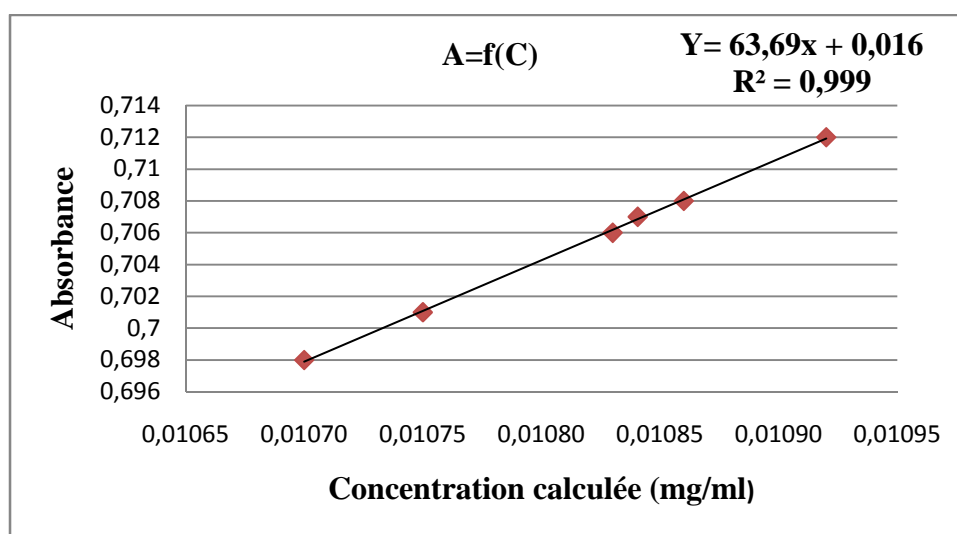


Figure 15 : Droite de Reproductibilité.

- **Analyse statistique**

Tableau 5. Résultats de calcul de la masse prise et la concentration théorique et la concentration réelle.

Masse Prise (mg)	Absorbance	C.S mère essai (mg/ml)	C théorique (mg/ml)	C* réelle (mg/ml)
110,4	0,698	1,104	0,01104	0,0107
110,52	0,701	1,1052	0,011052	0,01075
110,6	0,706	1,106	0,01106	0,01083
110,72	0,707	1,1072	0,011072	0,01084
110,9	0,708	1,109	0,01109	0,01086

* Calculée à partir de la droite d'étalonnage (équation de droite).

Tableau 6. Résultats de calcul de teneur en pourcentage et en masse.

Teneurs en (%)	Teneurs en masse (mg)
105,56	527,81
105,90	529,50
106,58	532,89
106,61	533,07
106,59	532,96
107,10	535,48

1-Le coefficient de corrélation (R²)

$$R^2 = \frac{\overline{XY} - \bar{X} \bar{Y}}{\sqrt{(\bar{X}^2 - (\bar{X})^2)(\bar{Y}^2 - (\bar{Y})^2)}} = 0,999$$

X : Valeur d'absorbance.

Y : Valeur de concentration.

\bar{X} : Moyenne d'absorbance.

\bar{Y} : Moyenne de concentration.

2-La variance

$$\text{Var} = \frac{1}{n-1} \sum (X - \bar{X})^2$$

$$\text{Var} = \frac{1}{5} (0,00012) = 2,55 \cdot 10^{-5}$$

3- L'écart type

$$\Delta = \sqrt{\text{var}(x)} = 0,00505.$$

4-Moyenne de teneur

Pour chaque densité optique, les dosages ont été calculés. Les dosages sont exprimés en %, on été déterminées à partir de l'expression :

$$T\% = \frac{A_{\text{essai}}}{A_{\text{témoin}}} * \frac{P_{\text{témoin}}}{P_{\text{essai}}} * \frac{Pm}{500} * 100$$

Moyenne de teneur T (%) = 106,39 %.

5- Le coefficient de variation

$$CV = \frac{\text{écart type}}{\text{moyenne de série } \bar{X}} * 100 = \frac{0,00504}{0,705} * 100 = 0,715 \%$$

6- Intervalle de confiance

(n=6), ($\alpha = 0,05$), (ddl = n-1= 5), ($t_{\text{tab}} = 2,015$).

$$IC = (M - t_{\text{tab}} * \frac{\Delta}{\sqrt{n}}; M + t_{\text{tab}} * \frac{\Delta}{\sqrt{n}})$$

$$IC = 106,39 \pm 0,005$$

Conclusion :

- Ces résultats indiquent que la méthode est reproductible.
- La valeur du coefficient de variation et la variance et la moyenne des teneurs rendent parfaitement compte de la bonne reproductibilité de la méthode.

6-3 Répétabilité

Tableau 7. Résultats de mesure de l'absorbance des 9 prises d'essai.

Essai n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Masse (mg)	110,752								
Absorbance	0,629	0,628	0,624	0,634	0,632	0,631	0,638	0,633	0,638

Tableau 8. Résultats de calcul de teneur en pourcentage et en masse.

Teneur (%)	Teneur en masse (mg)
94,83	474,13
94,68	473,38
94,07	470,36
95,58	477,90
95,28	476,39
95,13	475,64
96,18	480,91
95,43	477,14
96,18	480,91

1-La variance

$$Var = \frac{1}{n-1} \sum (X^2 - \bar{X}^2)$$

$$Var = \frac{1}{8} (0,00016689) = 2,086 * 10^{-5}$$

2- L'écart type

$$\Delta = \sqrt{\text{var}(x)}$$

$$= \sqrt{2,086 \cdot 10^{-5}} = 0,00457.$$

3- Moyenne de la teneur T(%)

Les moyennes de la teneur exprimés en %, on été calculées pour chaque densité optique les différents dosages. Les dosages sont exprimés en % et ils ont été déterminés à partir de l'expression :

$$T\% = \frac{A_{\text{test}}}{A_{\text{std}}} * \frac{P_{\text{std}}}{P_{\text{test}}} \frac{P_m}{500} \cdot 100$$

Moyenne de la teneur T(%) = 95,26 %.

4- Le coefficient de variation

$$Cv = \frac{\text{écart type}}{\bar{X}} \cdot 100$$

$$Cv = \frac{0,00457}{0,632} * 100 = 0,723\%$$

5- Intervalle de confiance

Avec : (n=9), ($\alpha = 0,05$), (n-1= 8), ($t_{\text{tab}} = 1,86$).

$$IC = (M - t_{\text{tab}} * \frac{\Delta}{\sqrt{n}}; M + t_{\text{tab}} * \frac{\Delta}{\sqrt{n}})$$

IC = 95,26 ± 0,003.

Conclusion :

- Ces résultats indiquent que la méthode est répétable.
- La valeur du coefficient de variation et de la variance indiquent que la moyenne des teneurs rendent parfaitement compte de la bonne répétabilité de la méthode.

6-4 Exactitude

Tableau 9. Résultats de mesure d'absorption des 3 séries.

	Série 01 (90%)	Série02 (100%)	Série03 (110%)
	m= 90 mg	m= 100 mg	m= 110 mg
Absorbance	0,561	0,625	0,692
	0,565	0,632	0,690
	0,572	0,636	0,701

Tableau 10. Résultats de calcul de la concentration théorique et réelle.

C théorique (mg/ml)	C réelle (mg/ml)
0,009	0,0087
0,01	0,0097
0,011	0,0106

- **La droite d'étalonnage :**

Une régression linéaire effectuée sur les absorbances obtenues en fonction des concentrations abouties à une droite d'équation : $Y = 65,75x - 0,003$.

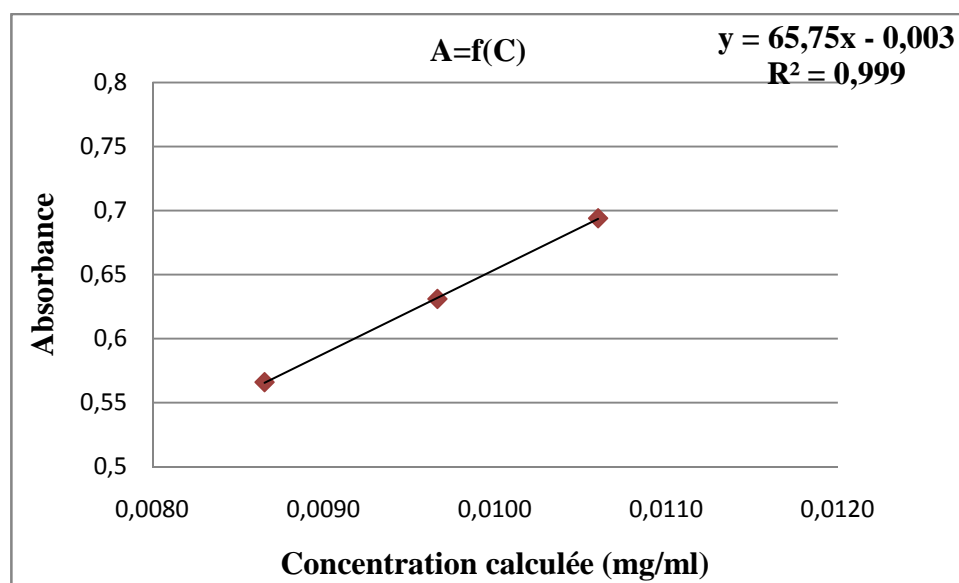


Figure 16 : Droite d'exactitude.

- **Analyse statistique**

1-Le coefficient de corrélation (R^2)

$$R^2 = \frac{\overline{XY} - \bar{X} \bar{Y}}{\sqrt{(\bar{X}^2 - (\bar{X})^2)(\bar{Y}^2 - (\bar{Y})^2)}}$$

X : Valeur d'absorbance.

Y : Valeur de concentration.

\bar{X} : Moyenne d'absorbance.

\bar{Y} : Moyenne de concentration.

Alors :

$$R^2 = 0,999.$$

- **Tous les calculs sont regroupés dans ce tableau.**

Tableau 11. Résultats de calcul des tests statistiques de l'exactitude.

Série	écart type de \bar{X}	Var		IC	CV(%)	Moyenne de la teneur(%)
Série 1	0,566	$3,1 \cdot 10^{-5}$	0,0056	$94,81 \pm 0,01$	0,984	94,81
Série 2	0,631	$3,1 \cdot 10^{-5}$	0,0056	$95,13 \pm 0,01$	0,882	95,13
Série 3	0,694	$3,43 \cdot 10^{-5}$	0,0059	$95,16 \pm 0,01$	0,844	95,16

: écart type, *IC*: intervalle de confiance, *CV*: coefficient de variation

2- Moyenne de la teneur T(%)

Les moyennes de la teneur exprimés en %, on été calculées pour chaque densité optique les différents dosages. Les dosages sont exprimés en % et ils ont été déterminés à partir de l'expression :

$$T\% = \frac{A_{\text{test}}}{A_{\text{std}}} * \frac{P_{\text{std}}}{P_{\text{test}}} * \frac{P_m}{500} * 100$$

Tableau 12. Résultats de calcul de teneur en pourcentage et en masse (série01).

Teneur (%)	Teneur en masse (mg)
94,00	469,86
94,64	473,21
95.81	479,07

Moyenne de teneur trouvée : T (%) = 94.81 %.

Tableau 13. Résultats de calcul de teneur en pourcentage et en masse (série 02).

Teneur (%)	Teneur en masse (mg)
94,22	471,11
95,28	476,39
95,88	479,41

Moyenne de teneur T (%) = 95.13%.

Tableau 14. Résultats de calcul de teneur en pourcentage et en masse (série 03).

Teneur (%)	Teneur en masse (mg)
94,84	474,20
94,57	472,83
96,07	480,37

Moyenne de teneur T (%) = 95,16%.

Tableau 15. Résultats de calcul de la masse prise et la concentration de solution mère et de solution fille (série 01).

Masse principe actif (mg)	Masse Prise (mg)	C.S. mère (mg/ml)	C.S. fille (mg/ml)
90	99,676	0,9	0,009
90	99,676	0,9	0,009
90	99,676	0,9	0,009

C.S.mère : Concentration de la solution mère, C.S. fille: Concentration de la solution fille.

Tableau 16. Résultats de calcul de la masse prise et la concentration de solution mère et de solution fille (série 02).

Masse principe actif (mg)	Masse Prise (mg)	C.S. mère (mg/ml)	C.S. fille (mg/ml)
100	110,752	0,1	0,001
100	110,752	0,1	0,001
100	110,752	0,1	0,001

C.S.mère : Concentration de la solution mère, C.S. fille: Concentration de la solution fille.

Tableau 17. Résultats de calcul de la masse prise et la concentration de solution mère et de solution fille (série 03).

Masse principe actif (mg)	Masse Prise (mg)	C.S. mère (mg/ml)	C.S. fille (mg/ml)
110	121,827	1,1	0,011
110	121,827	1,1	0,011
110	121,827	1,1	0,011

C.S.mère : Concentration de la solution mère, C.S. fille: Concentration de la solution fille.

Conclusion :

- Ces résultats indiquent que la méthode est exacte et affectée d'un coefficient de corrélation très satisfaisant ($R^2 = 0,999$).
- La valeur du coefficient de variation et la variance et l'écart type et la moyenne des teneurs sont excellents et très proches dont la méthode de dosage proposée considérée comme exacte.

6-5 Spécificité

Tableau 18. Résultats de calcul de la concentration réelle et la concentration théorique et les titres en pourcentage et en masse (paracétamol principe actif seul).

C réelle (mg/ml)	C théorique (mg/ml)	Absorbance (PA seule)	Absorbance (PA+excipients)	Titre %	Titre en masse (mg)
0,00980	0,01	0,682	0,667	98,00	489,01
0,00984	0,01	0,684	0,673	98,39	491,97
0,00984	0,01	0,685	0,674	98,40	491,98

- **Analyse statistique**

Les dosages sont exprimées en %, on été déterminées à partir de l'expression :

$$T\% = \frac{A_{\text{essai}}}{A_{\text{témoin}}} * \frac{P_{\text{témoin}}}{P_{\text{essai}}} * \frac{P_m}{500} * 100.$$

Moyenne de teneur trouvée : (T%) = 98,20%.

1-La moyenne

$$m = \frac{\sum x_i}{n} = \frac{2,051}{3} = 0,684$$

2-La variance

$$\text{Var} = \frac{1}{n-1} \sum (X^2 - \bar{X}^2) = 2,33 * 10^{-6}$$

3- L'écart type

$$= \sqrt{\text{var}(x)} = 0,00153.$$

4-Le coefficient de variation

$$Cv = \frac{\text{écart type}}{\text{moyenne de série } m} * 100 = \frac{0,00153}{0,684} * 100 = 0,223\%$$

5- Intervalle de confiance

Avec : (n=3), ($\alpha = 0.05$), (n-1= 2), ($t_{\text{tab}} = 2,92$). On trouve : **IC** = 98,20 ± 0,007

Tableau 19. Résultats de calcul de la masse prise et la concentration mère et fille (Paracétamol+excipients).

Masse principe actif (mg)	Masse Prise (mg)	C.S. mère (mg/ml)	C.S. fille (mg/ml)
100	110,75	1,00	0,01

C.S.mère : Concentration de la solution mère, C.S. fille: Concentration de la solution fille.

Conclusion :

- Ces résultats indiquent que la méthode est spécifique.
- Il apparaît qu'aucun excipient du comprimé ou impureté n'interfère sur le dosage du principe actif.

En définitif, la méthode proposée est spécifique, linéaire, exacte, reproductible et répétable. Ses performances sont compatibles avec des limites d'acceptation de ± 10% de la teneur théorique en paracétamol 500 mg dans le produit fini. La méthode peut, par conséquent, être considérée comme validée.



Conclusion

Conclusion

Une étude de validation comporte un ensemble de processus de vérification qui consiste à vérifier certaines caractéristiques du protocole de dosage, afin de garantir la fiabilité et la traçabilité des résultats fournis. Les critères de validation choisis dans cette étude comporte la **spécificité, l'exactitude, la linéarité, la reproductibilité, la répétabilité**. Ces paramètres garantissent l'aptitude d'une méthode à donner des résultats probants et exacts. Chaque mesure pour chaque critère réalisé en laboratoire doit être suffisamment proche de la valeur théorique vraie ou dans les limites de tolérances acceptables.

Après vérification de ces paramètres, l'acceptation d'une méthode de dosage analytique, quant à sa fiabilité, est donc décidée sur la base de ces procédures analytiques normalisées suivies par des tests statistiques d'intervalles de confiance, de mesure d'exactitude et d'estimation de fidélité au moyen de calcul des coefficients de corrélation et de variation.

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que la méthode est spécifique pour le principe actif paracétamol. Il présente un profil linéaire valide et la méthode est exacte. Les résultats de répétabilité et de la reproductibilité des essais sont valides et très acceptables. Les coefficients de corrélation (R^2) des équations de régression sont supérieurs à 0,98. La précision de la méthode est démontrée par les valeurs des coefficients de variance inférieurs à 2%. Le suivi de principe actif seul puis en association avec les excipients a permis d'établir que son dosage n'interfère pas avec la matrice chimique. En outre, les résultats trouvés de la méthode de dosage dans le produit fini sont adéquats avec les spécifications.

Selon les résultats de cette validation, la méthode proposée est simple, spécifique, linéaire, précise, exacte, reproductible et peut être appliquée à l'analyse du médicament paracétamol avec un excellent taux de recouvrement et l'application au produit fini a donné un résultat de 104,55%, ce qui est conforme vue que l'intervalle de confiance est de 90% à 110%. En conséquence, cette méthode analytique de dosage est fiable et elle peut être appliquée dans les analyses de routine du produit fini, pour la libération des lots fabriqués.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

Aiache et al. 1995. Préparation et administration des médicaments à risques pour le personnel et l'environnement 2011. Vol. 11. P. 101 – 38.

ANSM 2000. Agence nationale du médicament et des produits de santé.

Antoine E. 2019. Introduction à la spectroscopie UV-Visible. Nicolas Lévy (Eds.). Paris. P. 20.

Art L5111-1. Article- Code de la santé publique.

Chantal B., Raymond S. 2005. Pratiquer les contrôles analytiques en œnologie. Educagri. Publication gouvernementale. Dijon. Paris. P. 29.

Choisnard L. 2011. Une démarche qualité au service de la Chimie. Journées qualité et Chimie. Action Nationale organisée par le CERMA Y.

Driad Y. 2009. Stabilité du paracétamol: Application à un sachet produit en industrie pharmaceutique. UHP - Université Henri Poincaré - Nancy 1. 24-30 rue Lionnois. BP 60120, 54 003 Nancy cedex. France. P. 12 – 23.

Dutau G., Rance F., Fejji S., Juchet A., Bremont F., Nouilhan P. 1996. Intolérance aux additifs alimentaires chez l'enfant : mythe ou réalité?. Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique. Vol. 36. P. 129 – 42.

Eurachem G. 1998. The fitness for purpose of analytic method. A laboratory guide to method validation and related topics.

Eurachem W. 2016. Validation in analytical science—current practices future challenges Gent. Belgium.

Feinberg M. 2001. L'assurance qualité dans les laboratoires agroalimentaire et pharmaceutiques. Technique & Documentation. 2^{ème} édition. Paris. P. 355.

Feinberg M. 2008. Validation Interne des Méthode d'Analyses Techniques de l'Ingénieur. P. 123- 224.

Feinberg M. 2009. Labo-stat : guide de validation des méthodes d'analyse. Lavoisier TEC & DOC. Paris. Vol. 44. P. 361.

Feinberg M., Boulanger B., Dewe W., Huber Ph. 2004. New advances in method validation and measurement uncertainty aimed at improving the quality of chemical data. Analytical and Bioanalytical chemistry. Vol. 380. P. 502 – 514.

Gael M. 2011. Comprendre et réaliser les tests statistiques à l'aide de R Manuel biostatistique. 2^{ème} édition. Bruxelles. P. 414.

Gazengel J. M., Orecchioni A. M. 2007. Le préparateur en pharmacie-pharmacologie. TEC et DOC. 2^{ème} édition. France. P. 1856.

Gwenola B. 2006. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires 1993. Vol. 24. P. 56 – 80.

Heloïse G. & Gabriel M. 1979. Spectrométrie d'absorption, Problèmes généraux. Masson .Paris. Vol. 696. P. 2 – 225.

ICH Harmonised Tripartite Guideline. 2005. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1). IHC. European Union. Japan and USA. P. 13.

ISO /CEI. 2005. Guide 43-1 Essais d'aptitude des laboratoires par intercomparaison-partie 1 développement et mise en œuvre de systèmes d'essais d'aptitude.

ISO 9000. 2015. Quality management systems – fundamentals and vocabulary.

ISO/IEC 17025. 2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

John wiley et Sons. 2004. Application de la précision statistique (exactitude et précision) des résultats et méthodes de mesure - Parties 1 à 6. Organisation internationale de normalisation (ISO), ISO 5725, ISO. Genève. Suisse.

Mesplede J., Saluzzo C. 2004. Cent manipulations en chimie organique et inorganique. Rosny-sous-Bois. Bréal. 1^e édition. Paris. P. 287.

OMS. 1992. Comité OMS d'experts des spécifications relatives aux préparations pharmaceutiques : trente deuxième rapport/ organisation mondiale de la santé. OMS. Genève. P. 146.

OMS. 1998. Assurance de la qualité des produits pharmaceutiques. Recueil de directives et autres documents. 3^{ème} éditions. Genève. Vol. 1. P. 278.

Perrin M., Ferrari G., Garcia C., Chopineaux D. 2003. Validation d'une méthode de dosage de la cocaïne dans les produits de saisies par CLHP/ UV BD. Ann. De Toxicol. Anal. Vol. 15. P. 197 – 207.

Reginald H. G. Charles M. G. 2000. Biochimie. De Boeck supérieur. 2^{ème} édition Amérique. P. 1254.

Shabir. 2003. Comparaison de diverses directives internationales pour la validation de la méthode analytique Pharmacie. Vol. 24. P. 4 – 14.

Suzanne D., Bernhard I. 2007. Caractérisation expérimentale des matériaux i : Propriétés physique, thermique et mécanique. Presses polytechniques et universitaires romandes. 1^e édition. Lausanne. Italie. Vol. 1. P. 23 – 24.

Stora D. 2005. Pharmacologie B.P. classes pharmacologie. Wolters Kluwer. 4^{ème} édition. France. P. 425.

Tahiri F. 2002. Validation des méthodes de contrôle de l'efficacité des vaccins viraux vivants et inactivés contre la maladie de Gumboro. Thèse de DESS. Faculté des sciences Kénitra Maroc. Université IBN TOFAIL.

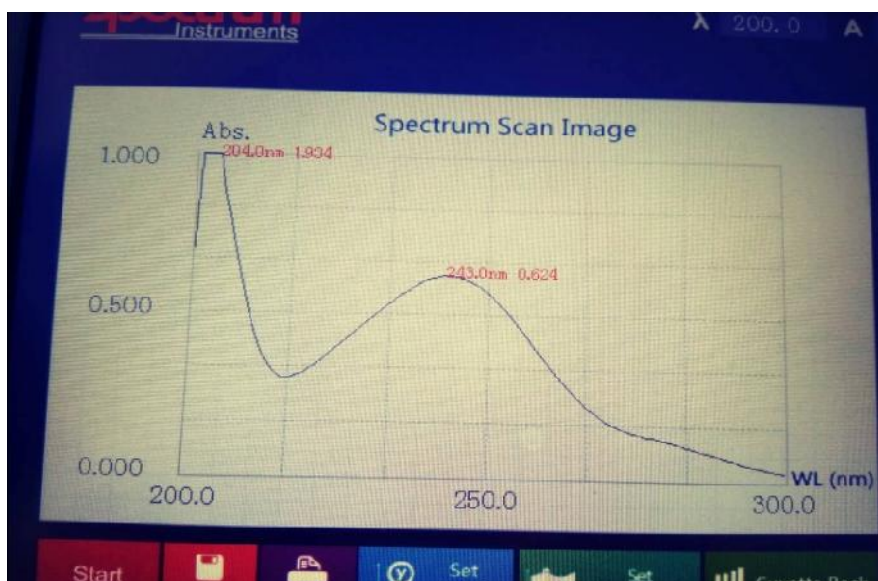
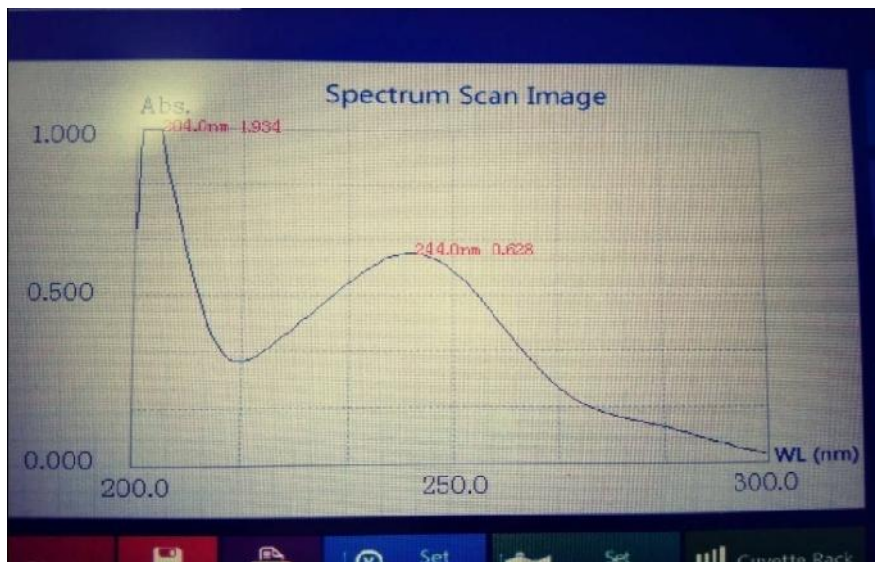
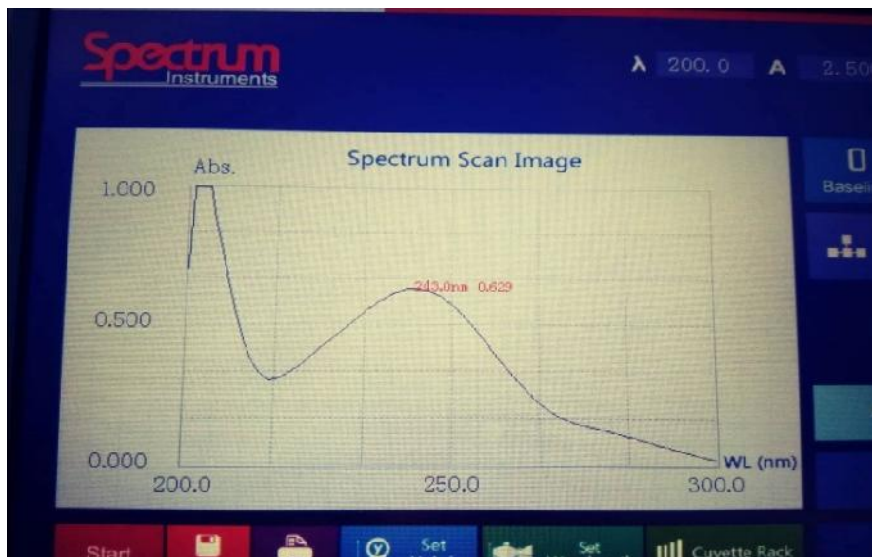
Tenenhaus M. 1998. La régression PLS : Théorie et Pratique. Editions technip. Cop. Paris. P. 254.

Willettts P., Thompson M., Ellison S. L. R., Fajgelj A., Wood R. 1999. Harmonised guidelines for the use of recovery information in analytical measurement. Pure & Appl. Chem. Printed in Great Britain. Vol. 71. P. 337 – 348.

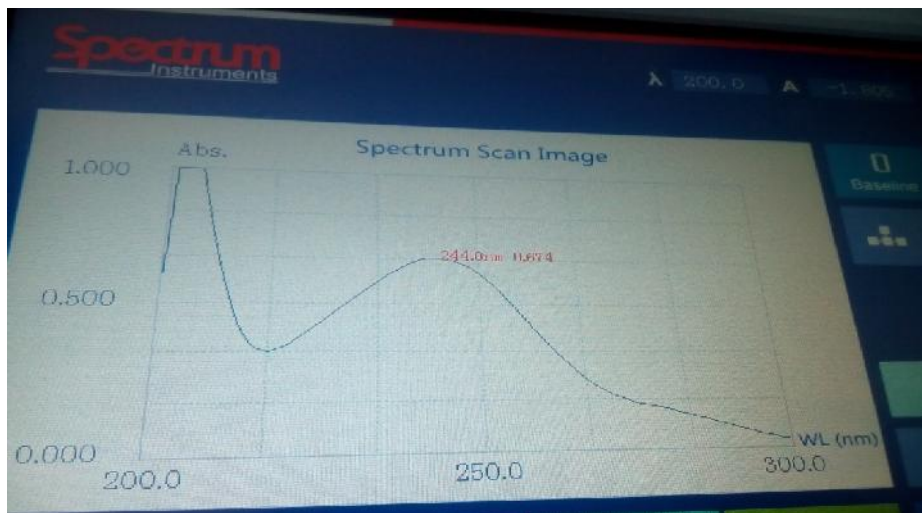
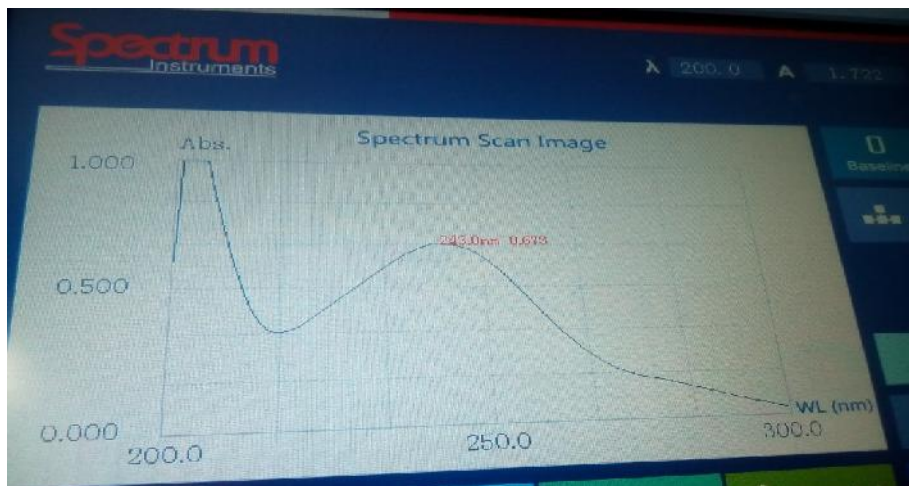
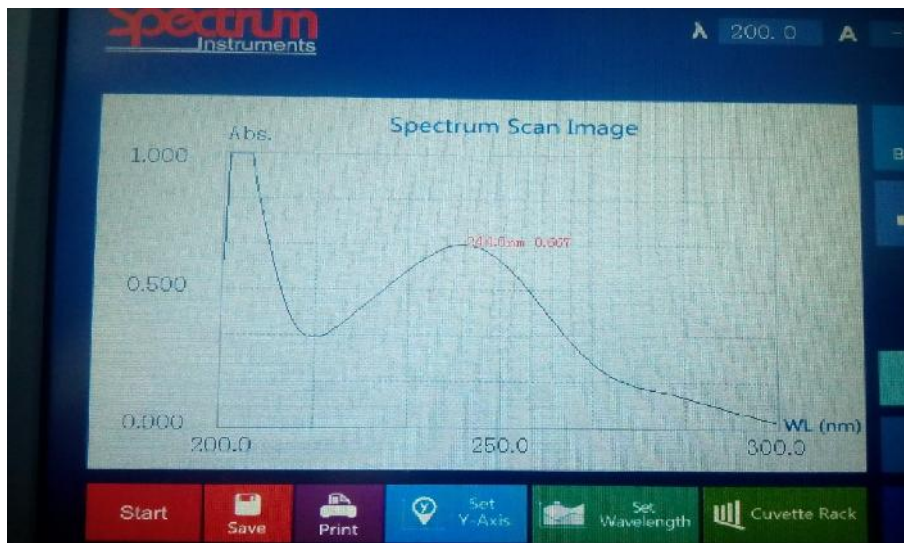


Annexes

Annexe 1. Spectre de la répétabilité



Annexe 2. Spectre de la spécificité



Annexe 3

Table de Student t

ν	α					
	0.100	0.050	0.025	0.010	0.005	0.001
1	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657	318.309
2	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	22.327
3	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	10.215
4	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	7.173
5	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	5.893
6	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.208
7	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	4.785
8	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	4.501
9	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.297
10	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.144
11	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.025
12	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	3.930
13	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	3.852
14	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	3.787
15	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	3.733
16	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	3.686
17	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.646
18	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.611
19	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.579
20	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.552
21	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.527
22	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.505
23	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.485
24	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.467
25	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.450
26	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.435
27	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.421
28	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.408
29	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.396
30	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.385
100	1.290	1.660	1.984	2.365	2.626	3.174
∞	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	3.090

La table de Student donne les valeurs $t_{(\alpha,\nu)}$ telles que

$$P\{T > t_{(\alpha,\nu)}\} = \alpha$$